

図 3：肥満細胞数

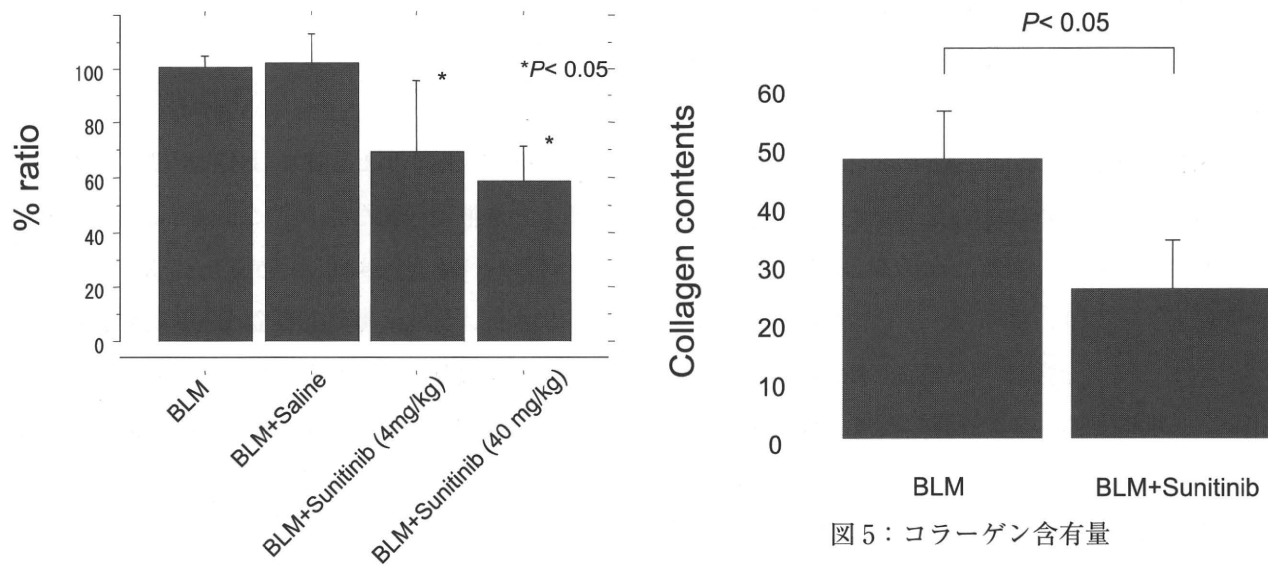


図 4：真皮厚

図 5：コラーゲン含有量

全身性強皮症患者の指尖部潰瘍に対するボセンタン治療

分担研究者	川口鎮司	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	准教授
協力者	大田ゆう子	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	医員
協力者	高木香恵	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	助教
協力者	栃本明子	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	助教
協力者	原まさ子	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	教授

研究要旨

全身性強皮症は、皮膚の線維化と手指、足趾の末梢循環不全を主症状とする原因不明の疾患である。末梢循環不全には末梢に存在する細小動脈の異常収縮が病態形成に関与している。この異常収縮を引き起こす因子として、エンドセリン-1がよく知られている。肺高血圧症の治療薬として開発されたエンドセリン受容体拮抗薬（ボセンタン）が末梢循環不全に関しても有用であることが報告されている¹⁻⁷⁾。今回の研究では、12例の手指、足趾に皮膚潰瘍が認められた全身性強皮症の症例にボセンタンを用い、新規の皮膚潰瘍の発症抑制に効果があることが示唆された。全身性強皮症の末梢循環不全に対して新規の治療方法としてボセンタンは有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

全身性強皮症の難治性病変のひとつに手指、足趾の皮膚潰瘍がある。末梢循環障害の結果生じることが推測されており、従来の治療としては、プロスタグランジン製剤を含む、血管拡張薬が用いられてきた。しかしながら、冬期には、皮膚潰瘍の発症を抑えることが困難な症例がしばしば存在する。エンドセリン受容体拮抗薬であるボセンタンは、当初、肺動脈性肺高血圧症の治療薬として開発された。全身性強皮症のレイノー現象や皮膚潰瘍の症例にて血漿のエンドセリン-1が増加していることが報告されていた。エンドセリン-1は、強力な血管収縮因子として知られており、レイノー現象や皮膚潰瘍の病態に重要な働きをする因子と考えられてきた。そこで、このエンドセリン-1の作用を抑制するエンドセリ

ン受容体拮抗薬、ボセンタンは、皮膚潰瘍に有効であることが推測された。すでに、欧米では、ボセンタンの有効性を示唆する報告が見られる。そこで、今回、我々は、皮膚潰瘍のある全身性強皮症患者にボセンタンを投与し、皮膚潰瘍の新規発症の頻度を検討した。同時に、レイノー現象の程度を Raynaud Condition Score にて測定した。

B. 研究方法

東京女子医大膠原病リウマチ痛風センターに通院中の全身性強皮症患者のうち、手指または足趾に皮膚潰瘍が生じた11症例を対象とした。全例に併用薬として、ベラプロストを60-120 μg /日の投与が行われた。新規の皮膚潰瘍の数を検討するため、診察時から2ヶ月前までさかのぼって、その2ヶ月間で発症

した皮膚潰瘍の数を記録した。レイノー現象の評価には、Raynaud Condition Score (RCS) を用いて評価した。

C. 研究結果

表1には、患者の背景を示す。最終の評価は、2008年12月または2009年1月に行った。ボセンタン投与後、3年間の経過を観察できた症例は2症例、2年間観察症例は6例、1年間観察症例は3例であった。それぞれの観察期間に分けて、新規の皮膚潰瘍の数とRCSの点数を評価した(図1から図6)。全症例に関して、新規に生じる皮膚潰瘍の数は減少した。RCSに関しては、ボセンタン投与前に比較して全例で減少していた。全例1年間の観察が終了しているため、治療前と1年間経過後の新規潰瘍とRCSの検討を行ったところ、新規潰瘍の発現数は、 3.7 ± 1.6 から 0.9 ± 1.0 まで有意 ($P < 0.001$) に低下し、RCSは、 8.0 ± 1.3 から 4.5 ± 1.0 まで有意 ($P < 0.001$) に減少した。

D. 考案

全身性強皮症に伴うレイノー現象や皮膚の潰瘍に関しては、環境因子が強く関連していることは明らかであり、日本では気温の低下する冬期に悪化する。そこで、冬期の3ヶ月間での臨床症状で比較しなければ、薬剤の評価は難しい。そこで、今回の検討では、ボセンタン治療を開始する前の冬期の臨床症状とボセンタン投与後の冬期の臨床症状を比較した。今回の検討では、1年以上の経過がおえた11例にて評価した。ボセンタン投与により、11例とも新規の皮膚潰瘍とレイノー現象の臨床症状に関して著明に改善した。しかしながら、2年、3年の経過では、治療開始前と比較して、明らかな改善を認めない症例

が認められた。ボセンタンの長期での治療効果の検討が必要であることが示唆された。今後、さらに長期の観察を行い、長期での治療成績を検討する予定である。

E. 結論

全身性強皮症の難治性皮膚潰瘍に対して、エンドセリン受容体拮抗薬であるボセンタンの効果を検討した。1年後の評価では、新規の皮膚潰瘍およびレイノー現象ともに改善が認められた。

F. 文献

1. Ferreira ME, Scheinberg MA. Successful treatment with bosentan of non-digital skin ulcers in severe scleroderma. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1784-5.
2. Matucci-Cerinic M, Seibold JR. Digital ulcers and outcomes assessment in scleroderma. *Rheumatology-Oxford* 2008; 47: v46-7.
3. Garcia de la Pena-Lefebvre P, Rondriguez Rubio S, Valero Exposito M, et al. Long-term experience of bosentan for treating ulcers and healed ulcers in systemic sclerosis patients. *Rheumatology-Oxford* 2008; 47: 464-6.
4. Chamaillard M, Heliot-Hosten I, Constans J, Taïeb A. Bosentan as a rescue therapy in scleroderma refractory digital ulcers. *Arch Dermatol* 2007; 143: 125-6.
5. Snyder MJ, Jacobs MR, Grau RG, Wilkes DS, Knox KS. Resolution of severe digital ulceration during a course of Bosentan therapy. *Ann Intern Med* 2005; 142: 802-3.
6. Varga J. New hope for systemic sclerosis patients

with digital ulcers. Curr Rheumatol Rep 2005; 7: 127-8

7. Korn JH, Mayes M, Matucci Cerinic M, Rainisio M, Pope J, Hachulla E, Rich E, Carpentier P, Molitor J, Seibold JR, Hsu V, Guillevin L, Chatterjee S, Peter HH, Coppock J, Herrick A, Merkel

PA, Simms R, Denton CP, Furst D, Nguyen N, Gaitonde M, Black C. Digital ulcers in systemic sclerosis: prevention by treatment with bosentan, an oral endothelin receptor antagonist. Arthritis Rheum 2004 ; 50: 3985-93

表 1. 患者背景

	投与開始	最大投与量 (mg/日)	臨床症状	自己抗体	皮膚硬化
1	2006年1月	125	DU, PH, ILD	topo	diffuse
2	2006年4月	125	DU, ILD	topo	diffuse
3	2007年1月	250	DU, PAH	CENP	diffuse
4	2007年3月	125	DU	RNP	diffuse
5	2007年3月	125	DU	CENP	limited
6	2007年3月	125	DU	topo, SSA	diffuse
7	2007年4月	250	DU, GIT	RNP, topo	diffuse
8	2007年8月	125	DU, PAH	topo	diffuse
9	2007年10月	187.5	DU, ILD	topo	diffuse
10	2007年11月	187.5	DU	CENP	limited
11	2007年12月	250	DU	RNP, CENP, SSA	limited

DU: 指尖部潰瘍、PAH: 肺動脈性肺高血圧症、GIT: 腸管病変、ILD: 間質性肺病変

diffuse: びまん性皮膚型、limited: 限局性皮膚型

topo: 抗 topoisomerase I 抗体、CENP: 抗セントロメア抗体、RNP: 抗 U1-RNP 抗体、SSA: 抗 SSA 抗体

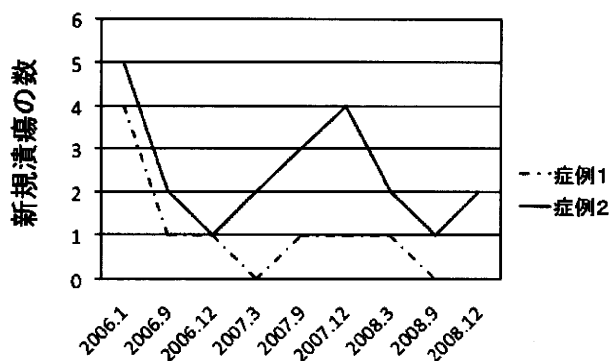


図 1: 3年間のボセンタンの新規皮膚潰瘍発現数に対する効果

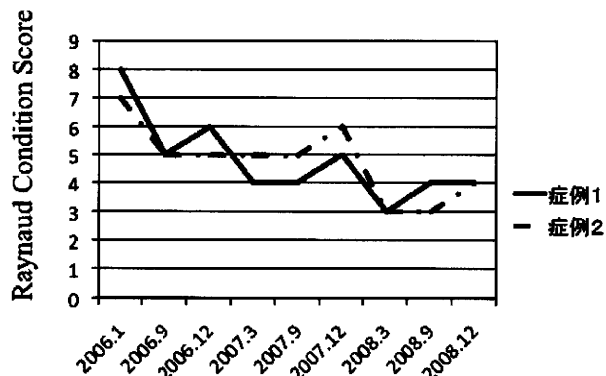


図 2: 3年間のボセンタンの Raynaud Condition Score におよぼす効果

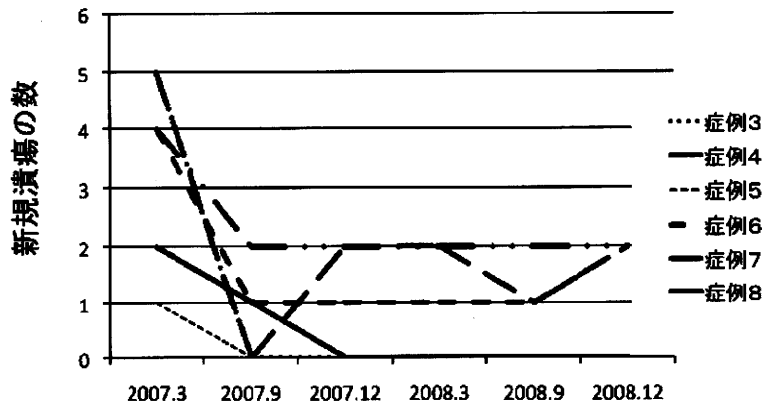


図3：2年間のボセンタンの新規皮膚潰瘍発現数に対する効果

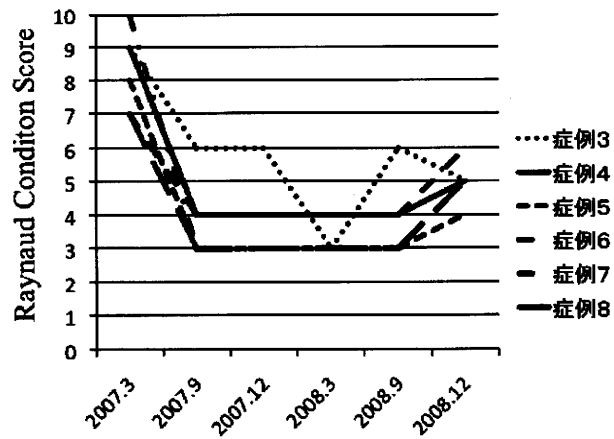


図4：2年間のボセンタンのRaynaud Condition Scoreにおよぼす効果

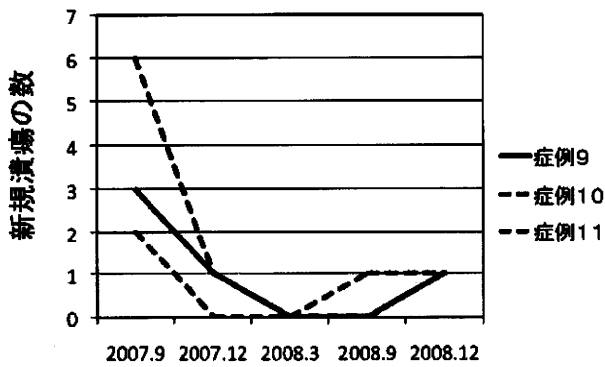


図5：1年間のボセンタンの新規皮膚潰瘍発現数に対する効果

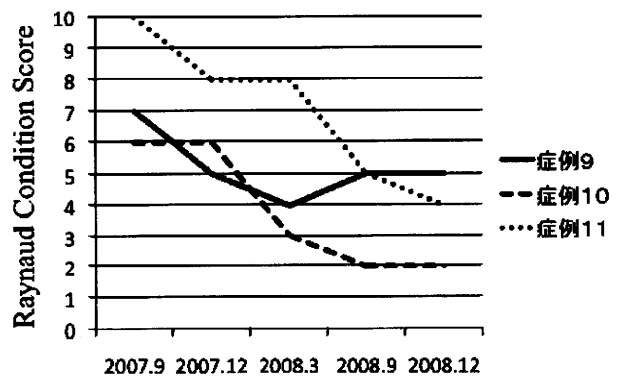


図6：1年間のボセンタンのRaynaud Condition Scoreにおよぼす効果

シクロホスファミド静注およびステロイド内服併用療法による 間質性肺病変合併強皮症の4年間の治療成績

研究分担者	川口鎮司	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	准教授
協力者	栃本明子	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	助教
協力者	高木香恵	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	助教
協力者	大田ゆう子	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	医員
協力者	立石陸人	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	講師
協力者	原まさ子	東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター	教授

研究要旨

全身性強皮症は、多臓器の線維化を主症状とする疾患であるが、特に、肺の線維化病変は、その生命予後を考えるうえに、肺動脈性肺高血圧症とならび、最も重要な合併症と位置づけられている。間質性肺病変を合併することを予測する血清学的指標として、抗 topoisomerase I 抗体があり、この自己抗体陽性患者では、高頻度に間質性肺病変を合併してくる。そのため、肺病変に関しては、無症候性の時期から検索を行ない、早期から診断が可能となってきた。しかしながら、早期においても間質性肺病変を治療することは困難と考えられていた。2006年に、プラセボを用いた、RCT 研究にて、シクロホスファミドの内服あるいは静注療法が、プラセボ群に比較して、呼吸機能を改善したとする報告が米国と英国から続けて出された。一昨年の本研究報告書にて2年間のシクロホスファミド点滴静注療法が、強皮症に合併した間質性肺病変に有効であることを我々は報告した。今回の検討では、活動性を有する強皮症合併間質性肺病変に対して、シクロホスファミドの点滴静注療法が4年間の長期間においても一定の効果が得られることが明らかとなり、有用性が高いことが示された。

A. 研究目的

強皮症患者の半数以上に間質性肺病変 (interstitial lung disease, ILD) が認められ、ILD は、肺高血圧症とならんで、生命予後を決定する重要な内臓病変の一つと考えられている。特に、欧米と比較し、腎病変の頻度が少ない日本人においては、治療の観点から最も重要な合併症と考えられている。未だに強皮症の間質性肺病変に対しての治療法は確立されていないが、2006年に、米国、英国より、プラセボを

コントロールとした1年間のシクロホスファミドの治療成績が発表された^{1,2)}。早期での治療効果はプラセボと比較し、有意に高かった。日本人に対する評価は、今のところ、施設により一定しておらず、まとまった報告も少ない。我々は、活動性のある初回治療の間質性病変を選び、シクロホスファミド点滴静注療法を行ない、一昨年、2年後までの有用性を報告したが、今回さらに4年後の結果が得られたので報告する。

B. 研究方法

対象は、2000年5月から2004年11月までに東京女子医科大学附属青山病院にて入院加療を受けた方で、強皮症患者121例のうち、活動性のある間質性肺病変を有していた症例とした。全例が、過去にシクロホスファミドの点滴静注療法をうけたことの無く、また肺高血圧の合併のない症例とした。選択基準を満たした13例の患者の背景を表1に示す。肺病変の活動性の評価は、自覚症状の悪化、胸部CTでのスリガラス陰影を伴った間質陰影の出現の2項目を満たし、それ以外に、肺胞洗浄液中のリンパ球または好酸球の増加、血液酸素濃度または呼吸機能検査の悪化、血清KL-6の悪化3項目のうち少なくとも1項目を満たすものとした。治療は、シクロホスファミドの点滴静注療法(400 mg/m²/month)を6クールと中等量プレドニソロン(30-40 mg/day)の内服併用療法を行なうこととした。プレドニソロンは、投与後、1ヶ月目より週に2.5-5 mgの減量を行ない、10 mg/dayでの維持療法を行なった。

評価は、治療開始時、3ヶ月後、6ヶ月後、12ヶ月後、24ヶ月後、36ヶ月後、48ヶ月後にて、自覚症状、CT所見、%VC、血清KL-6のそれぞれの項目を、表2に示すようなスコアで行なった。

C. 研究結果

1) 48ヶ月の治療経過

図1に示すように、13例のうち、1例で、シクロホスファミド投与1ヶ月後にウイルス性心筋炎(コクサッキーBウイルス)を併発したため、治療を中止した。2回以上IVCYを投与した患者では、12ヶ月後までは改善し悪化した症例はなかった。12ヶ月以降再燃が4例でそのうち1例は感染性肺炎を合併し死亡。24ヶ月から36ヶ月の間に1例が再燃した。7

例は48ヶ月後まで悪化せずに経過した。

2) 自覚症状

図2に示すように、12ヶ月目までは全例で、自覚症状の改善があったが、24ヶ月目までに、症例6、8にて自覚症状の悪化がみられた。

3) 胸部CT所見

図3に示すように、治療により、全例でスリガラス陰影の改善がみられたが、12ヶ月以降に再燃例を含む7例で間質陰影の悪化がみられた。

4) %VC (vital capacity) の評価

図4に示すように12ヶ月後までは悪化例はなかったが、再燃した症例8、9では12ヶ月以降に%VCが悪化した。

5) 血清KL-6

図5に示すように、再燃が認められた症例9では、治療3ヶ月後からKL-6の上昇が続いていた。一方、同じく再燃した症例8ではKL-6は一定だった。その他の再燃例では再燃時にKL-6が上昇した。症例13では一度低下したKL-6が再度上昇しているが、48ヶ月までに再燃はなかった。

5) 総合評価

合計ポイントでの評価を図6に示す。脱落した1例を除く12例では12ヶ月までは有意に総合ポイントは低下していた。再燃例を除く7症例は24、36、48ヶ月後でも治療前と比較し、有意に悪化することなく経過した。

6) 安全性の評価

シクロホスファミドの副作用として報告されている出血性膀胱炎や骨髄抑制は今回のプロトコールでは1例も認められなかった。シクロホスファミド投与後1ヶ月後に、ウイルス性心筋炎を合併した症例が1例有り、免疫抑制効果の強いシクロホスファミドとの因果関係はあると思われた。しかしながら、こ

の症例においても、骨髄抑制や肝障害は認められず、治療中止後は、心筋炎は軽快した。

D. 考案

我々の提唱するシクロホスファミド静注療法（月に1度を2-6回、400 mg/m²）と中等量の経口プレドニゾロン（30-40 mg/日）は、強皮症に伴う間質性肺病変に48ヶ月間有効であった。12ヶ月以降に、5例（42%）で再発が認められたことより、12ヶ月以降の免疫抑制剤などによる追加治療を今後検討する。欧米からはシクロホスファミド静注療法後にアザチオプリンの内服による維持療法の効果も報告されている³⁾。強皮症に合併した間質性肺病変に対する治療として、d-ペニシラミンの有効性が低いことが推定されて以来⁴⁾、コルチコステロイド大量療法やシクロホスファミド免疫抑制療法が試みられている^{1,2,5-8)}。日本人での強皮症合併間質性肺病変に対する免疫抑制療法の検討は今までのところ報告が少ない。以前我々が検討したシクロホスファミド点滴静注療法群とステロイド大量療法群との比較では、12カ月後に、ステロイド大量療法群で間質性肺病変の再発が高頻度にみられ、シクロホスファミド治療群では、再発がみられなかった。そこで、シクロホスファミドの静注療法を前向きに検討した。一方、シクロホスファミド単独治療群と、シクロホスファミドとステロイドの併用群の比較検討は我々の施設では行なわれていない。欧米でステロイドの併用が有効であったとする論文⁹⁾があることより、今回の検討では、より治療効果が高い治療法を検討するため、併用治療法を選択した。

E. 結論

シクロホスファミド点滴静注療法と中等量ステロイド内服療法は4年間の観察期間においても、強皮

症に合併する活動性間質性肺病変に有効な治療法であり、安全性も高いと考えられた。しかしながら、再発する症例があり、再発を早期に予測し、再発症例に対する治療法も検討して行く必要があると考える。

F. 文献

1. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, et al: Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. *N Engl J Med* 354: 2655-2666, 2006
2. Hoyles RK, Ellis RW, Wellsbury J, et al: A multicenter, prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, trial of corticosteroids and intravenous cyclophosphamide followed by oral azathioprine for the treatment of pulmonary fibrosis in scleroderma. *Arthritis Rheum* 54: 3962-3970, 2006
3. Berezne A, Ranque B, Valeyre D, et al: Therapeutic strategy combining intravenous cyclophosphamide followed by oral azathioprine to treat worsening interstitial lung disease associated with systemic sclerosis: A retrospective multicenter open-label study. *J Rheumatol* 35: 1064, 2008
4. Clements PJ, Furst DE, Wong WK, Mayes M, White B, Wigley F, Weisman MH, Barr W, Moreland LW, Medsger TA Jr, Steen V, Martin RW, Collier D, Weinstein A, Lally E, Varga J, Weiner S, Andrews B, Abeles M, Seibold JR: High-dose versus low-dose D-penicillamine in early diffuse systemic sclerosis: analysis of a two-year, double-blind, randomized, controlled clinical trial. *Arthritis Rheum* 42: 1194, 1999
5. Giacomelli R, Valentini G, Salsano F, Cipriani P, Sambo P, Conforti ML, Fulminis A, De Luca A,

- Farina G, Candela M, Generini S, De Francisci A, Tirri E, Proietti M, Bombardieri S, Gabrielli A, Tonietti G, Cerinic MM: Cyclophosphamide pulse regimen in the treatment of alveolitis in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 29: 731, 2002
6. Davas EM, Peppas C, Maragou M, Alvanou E, Hondros D, Dantis PC: Intravenous cyclophosphamide pulse therapy for the treatment of lung disease associated with scleroderma. *Clin Rheumatol* 18: 455, 1999
7. Griffiths B, Miles S, Moss H, Robertson R, Veale D, Emery P: Systemic sclerosis and interstitial lung disease: a pilot study using pulse intravenous methylprednisolone and cyclophosphamide to assess the effect on high resolution computed tomography scan and lung function. *J Rheumatol* 29: 2371, 2002
8. White B, Moore WC, Wigley FM, Xiao HQ, Wise RA: Cyclophosphamide is associated with pulmonary function and survival benefit in patients with scleroderma and alveolitis. *Ann Intern Med* 132: 947, 2000
9. Pakas I, Ioannidis JP, Malagari K, Skopouli FN, Moutsopoulos HM, Vlachoyiannopoulos PG: Cyclophosphamide with low or high dose prednisolone for systemic sclerosis lung disease. *J Rheumatol* 29: 298, 2002
- G. 研究発表**
なし
- H. 知的財産権の出願、登録状況**
なし

表 1. 患者背景

Pt	Sex	Age	Disease type	mRodnan TSS	Disease duration (Months)	BALF			Antibodies
						L (%)	N (%)	E (%)	
1	F	61	dc	30	8	11	—	—	ANA
2	F	64	dc	30	96		ND		Topo-I
3	F	47	dc	39	7		ND		Topo-I
4	F	52	dc	20	10		ND		U1-RNP
5	F	47	lc	5	7	12	—	—	U1-RNP
6	F	73	dc	30	14	61	5	—	ANA
7	M	55	lc	14	36	41	—	—	SS-A, SS-B
8	F	55	dc	27	108	40	5	5	Topo-I, CENP
9	M	64	dc	33	12	12	—	9	Topo-I
10	M	55	dc	15	3		ND		U1-RNP, SS-A
11	F	50	dc	23	12	7	—	1	Topo-I
12	F	67	dc	44	10		ND		ANA
13	F	43	dc	34	8		ND		ANA

Pt; Patient, dc; Diffuse cutaneous SSc, lc; Limited cutaneous SSc, TSS; Total Skin-thickness Score, L; Lymphocyte, N; Neutrophil, E; Eosinophil, ND; Not determined

表 2. 間質性肺病変の重症度分類

		score
自覚症状	息切れのため外出不能	5
	100m 以上の連続での平地歩行困難	4
	平地歩行はできるが息切れを感じる	3
	坂、階段の昇降でのみ息切れを感じる	2
	乾性咳嗽症状がある	1
	特に息切れを感じない	0
CT	全肺野に拡がる間質陰影	4
	下肺野から中肺野	3
	下肺野に限局	2
	横隔膜に接した部分のみ	1
	間質陰影の消失	0
	スリガラス陰影がある場合	+1
%VC	50	5
	50 \leq , <60	4
	60 \leq , <70	3
	70 \leq , <80	2
	80 \leq , <90	1
	90 \leq	0
KL-6	2500 \leq	5
	2000 \leq , <2500	4
	1500 \leq , <2000	3
	1000 \leq , <1500	2
	500 \leq , <1000	1
	<500	0

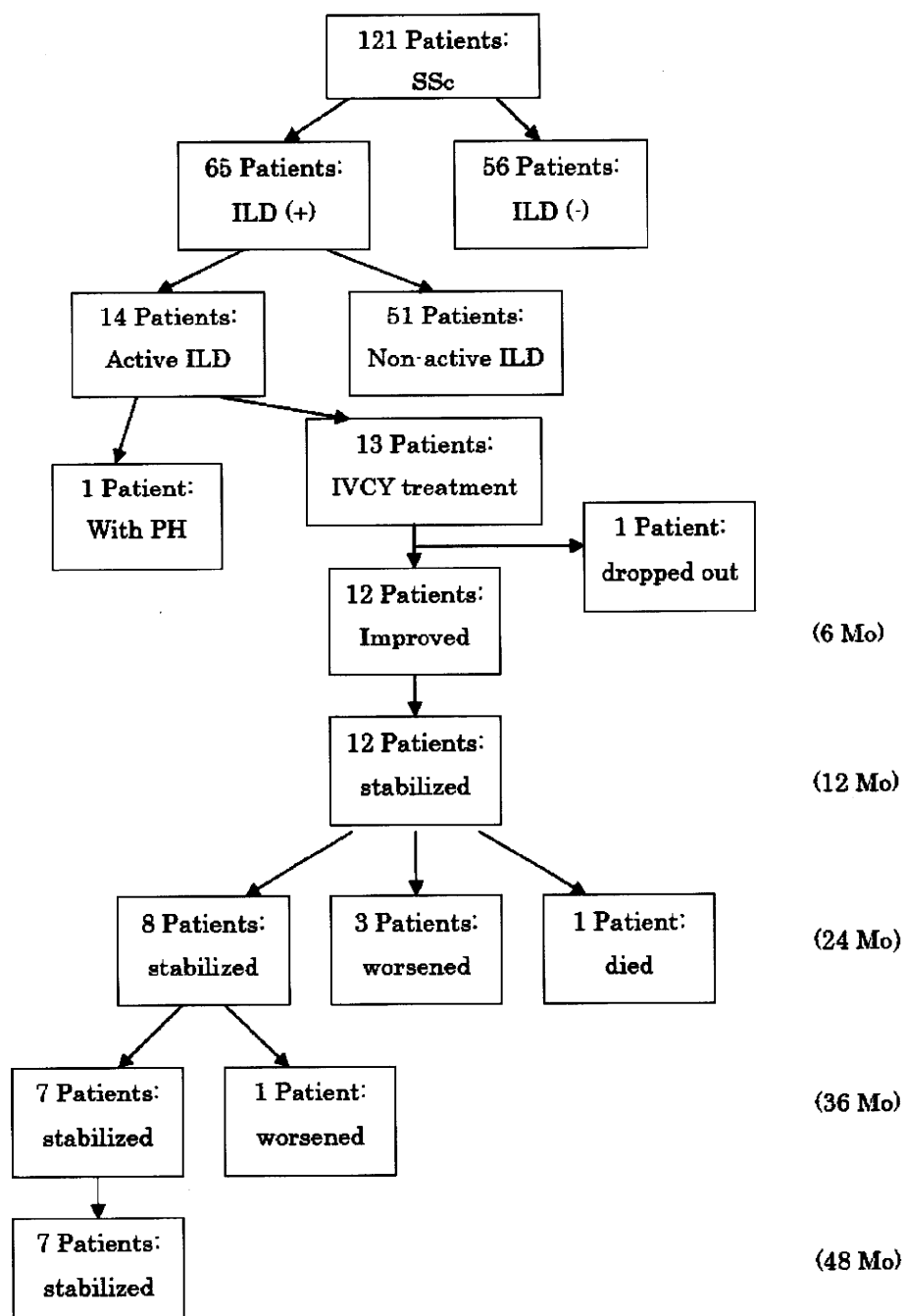


図1：患者の選択と治療経過

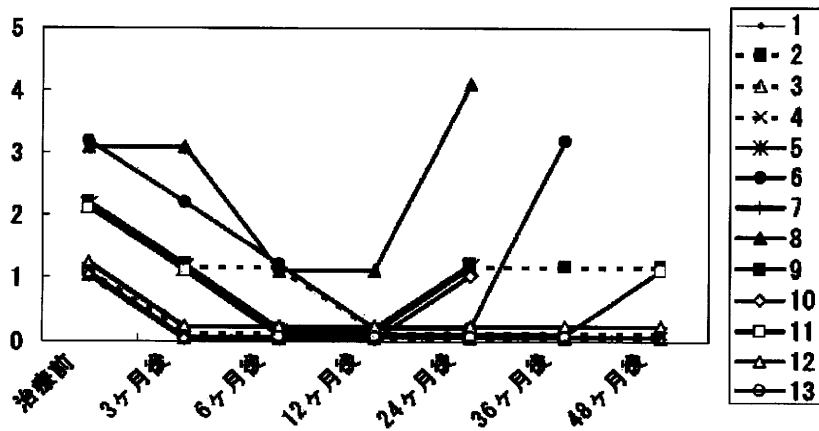


図2：治療経過での自覚症状の推移

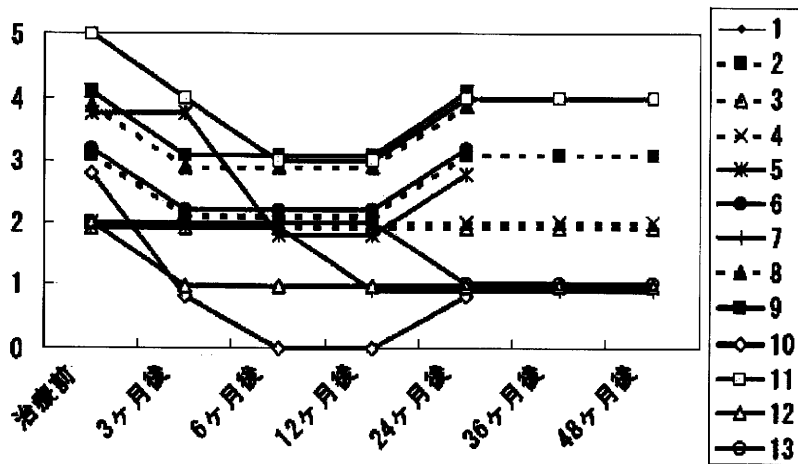


図3：治療経過での胸部高感度CTの推移

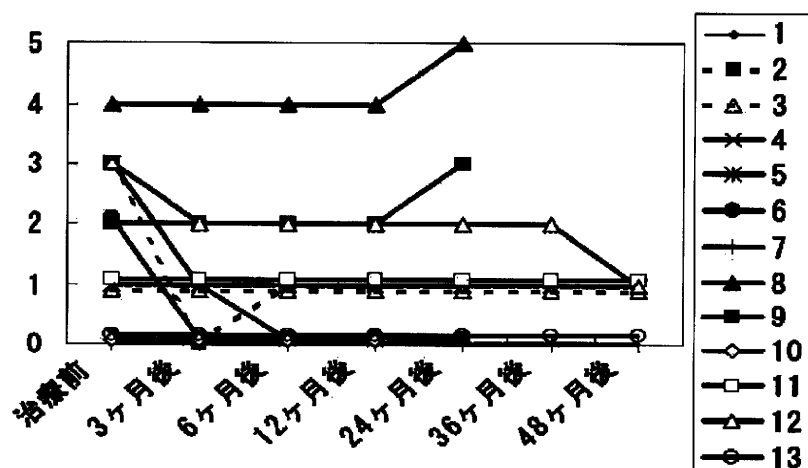


図4：治療経過での%VCの推移

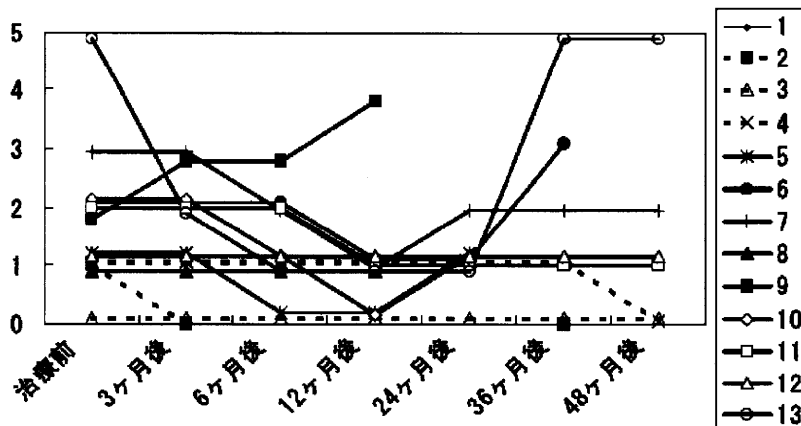
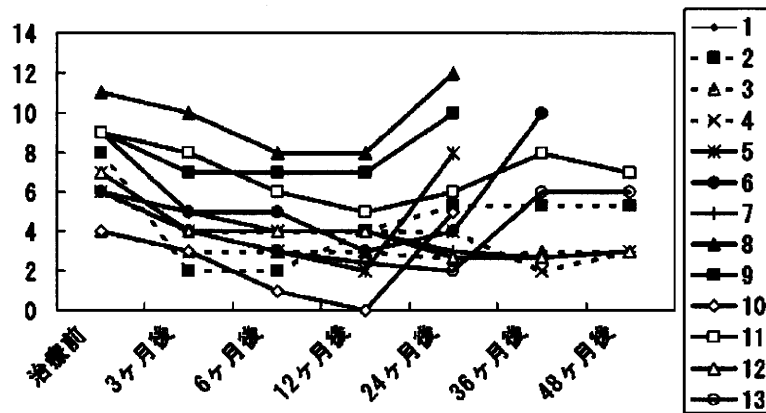


図5：治療経過での血清 KL-6 の推移



	治療前	3ヶ月後	6ヶ月後	12ヶ月後	24ヶ月後	36ヶ月後	48ヶ月後
mean	6.92	4.92	4.17	3.87	3.71	4.24	4.33
range	4-11	2-10	1-8	0-8	2-6	2-8	3-7
P value (vs Baseline)		0.03	0.005	0.003	0.002	0.02	0.01

(24ヵ月後以降は再燃例を除く)

図6：治療評価4項目の合計の推移

CTGF 遺伝子多型と強皮症発症との関与

研究分担者	川口鎮司	東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター 准教授
研究分担者	桑名正隆	慶応義塾大学内科学 准教授
研究分担者	藤本 学	金沢大学大学院医学系研究科皮膚科 准教授
研究協力者	土屋尚之	筑波大学生命システム医学専攻 教授
研究協力者	長谷川稔	金沢大学大学院医学系研究科皮膚科 講師
研究代表者	佐藤伸一	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授
協力者	大田ゆう子	東京女子大学附属膠原病リウマチ痛風センター 医員
協力者	高木香恵	東京女子大学附属膠原病リウマチ痛風センター 助教
協力者	栃本明子	東京女子大学附属膠原病リウマチ痛風センター 助教
協力者	竹原和彦	金沢大学大学院医学系研究科皮膚科 教授
協力者	伊東郁恵	筑波大学生命システム医学専攻 医員

研究要旨

全身性強皮症 (SSc) は、多臓器の線維化を主症状とする原因不明の自己免疫疾患である。SSc では線維芽細胞からのコラーゲンの過剰産生が認められ、その過剰な産生に connective tissue growth factor (CTGF) が重要な働きをしていることが報告されている。今回の研究では、日本人の SSc において、CTGF 遺伝子が疾患感受性遺伝子となりうるかどうかを検討した。SSc 395 名を対象に、翻訳開始部位から -945 の single nucleotide polymorphism (SNP, rs6918698) G/C を検討した。SSc 患者における G allele の頻度は健常人に比べて有意に高かった ($P=0.00028$, odds ratio 1.5, 95% CI 1.2-1.9)。臨床的特徴および自己抗体との関連としては、diffuse cutaneous type および間質性肺病変のある患者、抗 topoisomerase I 抗体を有している患者において G allele の頻度が有意に高い結果であった。Genotype の解析においても allele と同様の結果が得られた。以上の結果より、CTGF 遺伝子は、日本人において、SSc の疾患感受性遺伝子であり、-945 SNP の G allele は、線維化病変の危険因子となる可能性が示された。

A. 研究目的

全身性強皮症 (SSc) は、皮膚硬化、間質性肺病変、消化管蠕動障害、指尖潰瘍、肺高血圧症、腎クリーゼ、心筋障害などで特徴付けられる原因不明の結合組織疾患である¹⁾。自己抗体や遺伝子変異が臨床症状を反映するという報告もある。

Connective tissue growth factor (CTGF) は、線維化に関与する成長因子である TGF- β により産生され²⁾、強皮症患者の線維芽細胞、皮膚、血液中で増加している³⁻⁶⁾。また、CTGF は線維芽細胞による細胞外マトリックスの産生や肉芽形成を調整している。

2007年にFonsecaらは英国の強皮症患者においてCTGF遺伝子の翻訳開始部位から-945のsingle nucleotide polymorphism (SNP, rs6918698)が強皮症発症と関連していると報告した⁷⁾。また、そのSNPがCTGF遺伝子のプロモーター領域に存在し、CTGF遺伝子の転写活性に重要な役割をはたすことを発見した。

そこで、今回我々は日本人において同様のCTGF遺伝子多型と強皮症発症の関連について検討した。また、臨床症状、自己抗体との関連についても併せて検討した。

B. 研究方法

1) 対象患者

対象患者はSSc 395人、関節リウマチ (RA) 115人、健常人 269名である。全ての患者は日本人である。SSc、RAはアメリカリウマチ学会の定める分類基準により診断した。SScの平均年齢は43歳、病型別ではdiffuse cutaneous SSc (dsSSc)が183人、limited cutaneous SSc (lcSSc)が212人であった。臨床症状としては、皮膚硬化、間質性肺病変 (ILD)、肺動脈性肺高血圧症 (PAH)、強皮症腎クリーゼ (SRC)、指尖潰瘍 (DU)を、自己抗体については抗トポイソメラーゼ I 抗体 (Topo I)、抗セントロメア抗体 (CENP)、抗U1-RNP抗体 (U1RNP)を調べた。詳細は表1に記載した。

2) 遺伝子タイピング

CTGF遺伝子の-945SNP(rs6918698)をTaqMan SNP Genotyping Assay kit (Applied Biosystem)を用いて検討した。

3) 統計

-945SNPのalleleおよびgenotype頻度と病態との関連の解析方法としては、Fisher正確検定を用

いた。

C. 研究結果

1) CTGF 遺伝子の -945SNP と強皮症発症の関連 (表2)

強皮症患者におけるG alleleの頻度は健常人に比べて有意に高かった ($P=0.00028$, odds ratio 1.5, 95% CI 1.2-1.9)。また、genotypeについては、強皮症患者と健常人において有意に異なっていた ($P=0.00018$)。

2) CTGF 遺伝子の -945SNP と臨床症状の関連 (表3)

線維化と血管内皮障害は強皮症の主な病態である。このSNPがどちらの病態と関連しているかを評価するために臨床症状と-945SNPの関連性を検討した。Alleleおよびgenotypeの頻度は共にdsSScとILDに有意な相関が認められた。逆にPAHとDUにおいてはこのSNPとの弱い相関が認められた。SRCにおいてはこのSNPとの相関は認められなかったが、SRCを合併したSScの人数は非常に少なかった。Bonferroni補正を行うと、dsSScとILDのみで有意な相関がみとめられた。

3) CTGF 遺伝子の -945SNP と自己抗体の関連 (表3)

このSNPのG alleleの頻度はTopo I、U1RNPを有するSScにおいて有意に高かった ($P=0.00011$, odds ratio 1.8, 95% CI 1.4-2.5および $P=0.010$, odds ratio 1.8, 95% CI 1.2-2.8)。Bonferroni補正を行うとTopo Iのみが残った。

D. 考案

今回の研究で、我々はCTGF遺伝子のプロモーター領域に存在する-945SNPが日本人においても疾

患感受性遺伝子となりうることを明らかにした。以前の報告では、この SNP の G allele と Topo I および CENP の間に相関が認められたが、我々の研究では CENP とこの SNP の間には相関は認められなかった。自己抗体は HLA や人種に関係することが既に報告されている。我々の結果と Fonseca らの結果に相違がみられた理由としては、我々の研究における対象は日本人であるのに対し、Fonseca らの研究対象はイギリスの白人であることが考えられた。また、アメリカ人の強皮症患者 1311 人（白人 994 人、アフリカ系アメリカ人 150、ラテン系アメリカ人 167 人）を対象とした CTGF 遺伝子の -945SNP の研究では、我々や Fonseca らの研究結果とは異なり、CTGF 遺伝子の -945SNP は SSc の疾患感受性遺伝子であることは証明されなかった⁸⁾。多くの遺伝子関連の研究において、ヨーロッパ人、北アメリカ人、日本人において相違が見られることが既に報告されており⁹⁻¹¹⁾、CTGF 遺伝子においても同様に人種の差による結果と考えられた。

ILD と dcSSc は Topo I 陽性強皮症において頻度の高い合併症である。Fonseca らの研究結果と同様に ILD では -945SNP の G allele との有意な相関が認められた。さらに dcSSc における P 値は SSc 全体に比して小さく、lcSSc では、-945SNP との相関は認められなかった。一方、PAH や DU といった血管内皮障害を示唆する病態と -945SNP との相関は非常に弱かった。以上より、CTGF 遺伝子の -945SNP は線維化の良いマーカーとなりうるが、血管内皮障害のマーカーとはならないと考えられた。Fonseca らによれば -945SNP において G allele の場合は C allele に比して CTGF 遺伝子の転写活性が上昇していると報告されている。CTGF は線維芽細胞におけるコラーゲン産生や組織におけるコラー

ゲンの蓄積に重要な役割をになっていることから我々の臨床症状と -945SNP との関連性は妥当であり信頼できる結果といえる。以上のことから CTGF 遺伝子の -945SNP は SSc だけでなく特発性間質性肺病変、巣状系球体硬化症や肝硬変といった線維化疾患の疾患感受性遺伝子となりうる可能性が推察された。

ILD は dcSSc に合併する頻度が高く、lcSSc への合併頻度は低い。今回の研究では、ILD を合併した lcSSc40 人において CTGF 遺伝子の -945SNP の G allele との有意な相関が認められた。また、ILD を合併した lcSSc は健常人に比して遺伝子型が有意に異なっていた。以上の結果から CTGF 遺伝子の -945SNP における G allele および G/G genotype は皮膚硬化とは無関係に ILD の危険因子となりうると思われた。

CTGF 遺伝子の -945SNP は日本人における SSc の疾患感受性遺伝子であり、皮膚硬化や ILD といった組織の線維化の指標となりうると思われた。

E. 結論

CTGF 遺伝子は、日本人において、SSc の疾患感受性遺伝子であり、-945 SNP の G allele は、線維化病変の危険因子となる可能性が示された。

F. 文献

1. Medsger TA Jr. Systemic sclerosis (scleroderma): clinical aspects. In: Koopman WJ, ed., Arthritis and allied conditions, 14th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins 2001: 1590-624.
2. Chujo S, Shirasaki F, Kawara S, Inagaki Y, Kinbara T, Inaoki M, et al. Connective tissue growth factor causes persistent proalpha2(I) col-

- lagen gene expression induced by transforming growth factor-beta in a mouse fibrosis model. *J Cell Physiol* 2005; 203: 447-56.
3. Xiao R, Liu FY, Luo JY, Yang XJ, Wen HQ, Su YW, et al. Effect of small interfering RNA on the expression of connective tissue growth factor and type I and III collagen in skin fibroblasts of patients with systemic sclerosis. *Br J Dermatol* 2006; 155: 1145-53.
 4. Bogatkevich GS, Ludwicka-Bradley A, Highland KB, Hant F, Nietert PJ, Singleton CB, et al. Down-regulation of collagen and connective tissue growth factor expression with hepatocyte growth factor in lung fibroblasts from white scleroderma patients via two signaling pathways. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 3468-77.
 5. Igarashi A, Nashiro K, Kikuchi K, Sato S, Ihn H, Grotendorst GR, et al. Significant correlation between connective tissue growth factor gene expression and skin sclerosis in tissue sections from patients with systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 280-4.
 6. Sato S, Nagaoka T, Hasegawa M, Tamatani T, Nakanishi T, Takigawa M, et al. Serum levels of connective tissue growth factor are elevated in patients with systemic sclerosis: association with extent of skin sclerosis and severity of pulmonary fibrosis. *J Rheumatol* 2000; 27: 149-54.
 7. Fonseca C, Lindahl GE, Ponticos M, Sestini P, Renzoni EA, Holmes AM, et al. A polymorphism in the CTGF promoter region associated with systemic sclerosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 1210-20.
 8. Gourh P, Mayes MD, Arnett FC. CTGF polymorphism associated with systemic sclerosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 308-9; author reply 9.
 9. Lagan AL, Pantelidis P, Renzoni EA. Single-nucleotide polymorphisms in the SPARC gene are not associated with susceptibility to scleroderma. *Rheumatology* 2005; 44: 197-201.
 10. Wipff J, Allanore Y, Kahan A. Lack of association between the protein tyrosine phosphatase non-receptor 22 (PTPN22)*620W allele and systemic sclerosis in the French Caucasian population. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 1230-2.
 11. Zhou X, Tan FK, Reveille JD. Association of novel polymorphisms with the expression of SPARC in normal fibroblasts and with susceptibility to scleroderma. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2990-9.
- G. 学会発表
第 106 回日本内科学会総会にて発表予定
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1. Age, gender, and clinical features of patients with systemic sclerosis or rheumatoid arthritis and healthy controls

	SSc (n=395)	RA (n=115)	HC (n=269)
Age, years, median (range)	43 (8-77)	63 (25-84)	40 (27-71)
Gender, female:male	353 : 42	98:17	180:89
Clinical features, no. (%)			
dcSSc	183 (46)	0	0
ILD	188 (48)	8 (7)	0
PAH	36 (9)	0	0
SRC	5 (1)	0	0
DU	91 (23)	0	0
Autoantibody, no. (%)			
anti-topo I	122 (31)	ND	ND
CENP	114 (29)	ND	ND
anti-U1RNP	48 (12)	ND	ND

anti-topo I, anti-topoisomerase I antibody; anti-U1RNP, anti-U1RNP antibody; CENP, anti-centromere antibody; dcSSc, diffuse cutaneous systemic sclerosis; DU, digital ulcer; HC, healthy controls; ILD, interstitial lung disease; ND, not determined; PAH, pulmonary arterial hypertension; RA, rheumatoid arthritis; SRC, scleroderma renal crisis; SSC, systemic sclerosis.

表 2. Distribution of alleles and genotypes of the single nucleotide polymorphism at -945 G/C

Variable	Allele, n (%)				Genotype, n (%)			
	G	C	P	OR (95% CI)	GG	GC	CC	P
SSc (n = 395)	435 (55)	355 (45)	0.00028	1.5 (1.2-1.9)	126 (32)	183 (46)	86 (22)	0.0018
RA (n = 115)	104 (45)	126 (55)	NS		24 (21)	56 (49)	35 (30)	NS
HC (n = 269)	241 (45)	297 (55)			58 (22)	125 (46)	86 (32)	

P values were estimated by the Fisher exact test compared with HC.

CI, confidence interval; HC, healthy controls; NS, not significant; OR, odds ratio; RA, rheumatoid arthritis; SSc, systemic sclerosis.

表 3. Association of the single nucleotide polymorphism at -945 G/C with clinical features and autoantibodies

Variable	No	Allele, n (%)			OR (95% CI)	Genotype, n (%)			
		G	C	P		GG	GC	CC	P
dcSSc	183	222 (61)	144 (39)	0.000003	1.9 (1.5-2.5)	72 (39)	78 (43)	33 (18)	0.00004
lcSSc	212	213 (50)	211 (50)	NS		54 (25)	105 (50)	53 (25)	NS
ILD	188	232 (62)	144 (38)	0.0000006	2.0 (1.5-2.6)	73 (39)	86 (46)	29 (15)	0.000006
PAH	36	40 (56)	32 (44)	NS		8 (22)	24 (67)	4 (11)	0.018
SRC	5	6 (60)	4 (40)	NS		2 (40)	2 (40)	1 (20)	NS
DU	91	100 (55)	82 (45)	0.02	1.5 (1.1-2.1)	29 (32)	42 (46)	20 (22)	NS
topo I	122	146 (60)	98 (40)	0.00011	1.8 (1.4-2.5)	49 (40)	48 (39)	25 (21)	0.00058
CENP	114	118 (52)	110 (48)	NS		27 (24)	64 (56)	23 (20)	NS
U1RNP	48	57 (59)	39 (41)	0.010	1.8 (1.2-2.8)	17 (35)	23 (48)	8 (17)	0.039
HC	269	241 (45)	297 (55)			58 (22)	125 (46)	86 (32)	

P values were estimated by the Fisher exact test compared with HC.

CENP, anti-centromere antibody; CI, confidence interval; dcSSc, diffuse cutaneous systemic sclerosis; DU, digital ulcer; HC, healthy controls; ILD, interstitial lung disease; lcSSc, limited cutaneous systemic sclerosis; NS, not significant; OR, odds ratio; PAH, pulmonary arterial hypertension; SRC, scleroderma renal crisis; topo I, anti-topoisomerase I antibody; U1RNP, anti-U1RNP antibody.

皮膚硬化が急速に進行する全身性強皮症に対する シクロホスファミド大量静注療法の有効性と安全性

研究分担者	川口鎮司	東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター	准教授
協力者	西間木江美	東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター	
協力者	高木香恵	東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター	
協力者	深澤千賀子	東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター	
協力者	栃本明子	東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター	
協力者	大田ゆう子	東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター	

研究要旨

全身性強皮症の10-20%に急速に皮膚硬化が進行する症例がある。ほとんどの症例は、びまん皮膚硬化型であり、内臓病変の合併も多いことがわかってきている。皮膚硬化が重症化すれば、それだけでも日常生活が不自由になり、ADLは低下する。皮膚硬化に対しての治療として、シクロホスファミドの点滴静注療法を試みた。26症例において、皮膚硬化の改善が認められた。副作用と考えられた症状としては、SIADHが1例にみられたが、経過観察で改善した。シクロホスファミドと副腎皮質ステロイド併用療法は、皮膚硬化に有用な治療方法であることが示唆された。

A. 研究目的

全身性強皮症は、線維化が皮膚や内臓に認められる疾患である。原因は不明であるが、皮下に細胞外マトリックスが過剰に蓄積している。そのため、線維化が進行すれば、関節の可動制限や関節痛、また、関節拘縮が生じてくる。手指の関節拘縮がある症例では、拘縮部の背側に皮膚潰瘍が生じやすくなる。従来、皮膚硬化が重度でも、間質性肺病変が無い軽度であれば、強力な免疫抑制療法は行われてこなかった。しかし、皮膚硬化が広範囲におよべば、患者のADLは低下する。また、急速に皮膚硬化が進行する症例では内臓病変の合併が多いことは、報告されている。そこで、今回は、急速に進行する皮膚の線維化に対して前向きにシクロホスファミドの点滴

静注療法を行い、その有効性と安全性について検討した。

B. 研究方法

東京女子医科大学に入院した全身性強皮症患者を対象とした。全身性強皮症の診断は、厚生労働省の強皮症研究班の診断基準を用いた。皮膚硬化が確認されてから1年以内にmodified Rodnan total skin thickness score (MRSS)が15点以上に増加する症例を急速進行型(rapid progressive systemic sclerosis, RPSSc)と定義した。治療方法は、全例にシクロホスファミド点滴静注療法を行った。投与量は、0.4 g/対表面積(m²)を4週間間隔で2回行った。同時に、プレドニソロンを0.8 mg/体重(kg)/日の内