

201024030A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

混合性結合組織病の病態解明と治療法の確立
に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

平成23（2011）年3月

研究代表者 三 森 経 世

目 次

I. 総括研究報告	
混合性結合組織病の病態解明と治療法の確立に関する研究	1
(三森 経世)	
II. 分担研究報告	
1. 混合性結合組織病 (MCTD) の肺動脈性肺高血圧症 (PAH) 診断の手引き改訂 について	7
(吉田俊治ほか)	
2. 脳脊髄液中の抗 U1RNP 抗体と液性因子に関する研究	14
(藤井 隆夫)	
3. 混合性結合組織病 (MCTD) にともなう肺高血圧症 (PH) に関連する抗内皮細胞 抗体 (AECA) に関する研究	18
(澤井 高志)	
4. マウスモデルを用いた抗 RNP 抗体産生機序の解明	22
(川畑 仁人)	
5. MCTD の肺動脈性肺高血圧症の発症予測因子、NOS2 遺伝子多型の前向き研究	27
(川口 鎮司)	
6. 肺高血圧症に合併する心血管系のリモデリングの病態解明と治療法開発に 関する研究	31
(田中 廣壽)	
7. 膠原病 PAH における血管関連マーカーの臨床的意義に関する研究	35
(岡田 純)	
8. MCTD 肺高血圧症における抗 ACE2 抗体の病因解析 (平成 22 年度)	38
(三森 明夫)	
9. 肺動脈性肺高血圧症における末梢血単球の役割に関する研究	42
(桑名 正隆)	
10. 膠原病における肺高血圧症の評価法と治療に関する研究	46
(高崎 芳成)	
11. 長時間作用型肺高血圧治療薬の有用性に関する研究	51
(京谷 晋吾)	
12. 混合性結合組織病生体試料バンクの構築およびそれを利用した疾患関連遺伝子 の全ゲノム解析	53
(三森 経世、大村浩一郎)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	57
IV. 平成 22 年度構成員名簿	68

I. 総括研究報告

混合性結合組織病の病態解明と治療法の確立に関する研究

研究代表者： 三森 経世 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学・教授

研究要旨

混合性結合組織病（MCTD）はわが国に多い疾患であり、これまでの調査研究により特徴的な臨床所見と抗U1RNP抗体とに密接な関連があること、自然歴よりSLE、SSc、PMのいずれとも異なる独自の病像と自然経過を有すること、主な死因としての肺動脈性肺高血圧症（PAH）が重要であることが明らかにされてきた。しかし、MCTDの病態形成機序にはなお不明な点が多く、生命予後の悪いPAHについても発症のメカニズムは不明であり、その治療法についても原発性PAHとの異同を含めてなお多くの問題点が残されている。当研究班の最終年度である本年度は、MCTDの病態形成機序解明と治療法確立のため、1)抗U1RNP抗体および抗内皮細胞抗体の病因的意義、2)MCTDに合併するPAHの病態の解明と治療法の確立、3)エビデンスに基づくMCTDの治療ガイドラインの策定、4)MCTDに合併するPAHの診断基準の改訂、を重点研究課題とし歴代の研究班で未解決として残された課題の解決を目指した。

研究分担者

岡田 純（北里大学健康管理センター・教授）
川口鎮司（東女医大膠原病リウマチ痛風センター・准教授）
川畑仁人（東京大学アレルギーリウマチ内科・助教）
京谷晋吾（国立循環器病センター・客員研究員）
桑名正隆（慶應義塾大学内科・准教授）
澤井高志（岩手医科大学病理学第一講座・教授）
高崎芳成（順天堂大学膠原病内科・教授）
田中廣壽（東京大学医科学研究所・准教授）
藤井隆夫（京都大学大学院臨床免疫学・准教授）
三森明夫（国立国際医療センター・副院長）
吉田俊治（藤田保健衛生大リウマチ感染症内科・教授）

A. 目的

混合性結合組織病（MCTD）は1972年にSharpらによって提唱された疾患概念で、抗U1RNP抗体高力価陽性と全身性エリテマトーデス（SLE）、強皮症（SSc）、筋炎（PM）様症状を合わせ持つ病態を特徴とする。米国ではMCTDの疾患概念と独立性に対して議論もあるが、わが国では1982年以来特定疾患に指定され、診断名として広く定着するとともに、これまでの調査研究によりわが国では欧米よりも頻度の高い疾患であること、特徴的な臨床所見と抗U1RNP抗体とに

密接な関連があること、自然歴よりSLE、SSc、PMのいずれとも異なる独自の病像と自然経過を有すること、主な死因としての肺動脈性肺高血圧症（PAH）が重要であることが明らかにされてきた。これまで1982年にMCTD調査研究班発足以来、数回の全国疫学調査によりMCTDには予後不良な肺動脈性肺高血圧症（PAH）合併が多く必ずしも予後の良い疾患ではないことが明らかにされた。さらに、MCTD診断の手引き（粕川班1987）、PAH診断の手引き（横張班1990）、MCTD治療指針（東條班1995）、PAHの治療ガイドライン（近藤班2004）が作成されたことは大きな成果としてあげられ、我国におけるMCTDの臨床診療の向上に大きく貢献してきた。

しかし、MCTDの病態形成機序には不明な点が多い。特にMCTDの血清学的マーカーである抗U1RNP抗体がいかんして産生され、病態にどのようにかわるかについてはなお不明である。生命予後の悪いPAHについても発症のメカニズムは不明であり、その治療法については原発性PAHとの異同を含めてなお多くの問題点が残されている。我々はかかる点を解明し、MCTDのさらなる予後改善のために2005年より本研究班を立ち上げた。本研究は第2期目に当たり、歴代の研究班で未解決として残された課題の解決を目指し、かかる問題点を重点研究課題とするこ

とで、MCTDの病態解明を追究し、治療法の確立と生命予後改善を目指すことを目的とした。

B. 方法

1. 抗U1RNP抗体および抗内皮細胞抗体の病因的意義

抗U1RNP抗体自身や新たな抗血管内皮細胞抗体などの液性因子の病原性を追及するために培養肺血管内皮細胞を用いたプロテオーム解析とイムノスクリーニング法でAECAの対応抗原を解析した(澤井)。中枢神経症状を呈した抗U1RNP抗体陽性MCTDおよびSLE患者の髄液中における、自己抗体と種々のサイトカインおよびケモカインなどの液性因子を測定し、髄液中抗U1RNP抗体との関連を調べた(藤井)。またヌードマウスにT細胞を移入する系で抗U1RNP抗体を産生させる新たなモデルを開発し、その産生機序を検討した(川端)。

2. MCTDに合併するPAHの病態の解明と治療法の確立

MCTD-PAHの病態形成機序を血管内皮細胞の増殖や血管運動性に関与する液性因子とそれらの遺伝子および転写因子などから追及した(田中、川口、岡田)。血管保護作用を持つアンギオテンシン変換酵素2に対する自己抗体の存在を検討し、その病因的意義を解析した(三森明夫)。MCTDに合併するPAH(MCTD-PAH)の発症と進展様式を分担研究施設症例のアンケート調査により追跡検討した(吉田)。MCTDに関連する自覚症状、身体所見、検査所見、心エコー所見より、PAHの早期診断に有用なスクリーニング法を検討した(桑名)。MCTD-PAHにおける生命予後に関連する因子を後ろ向き研究によって検討した(高崎)。またMCTD-PAHに対する血管拡張療法の適応、有用性を前向き研究によって検討した(京谷)。

3. エビデンスに基づくMCTDの治療ガイドラインの策定

本研究で得られた成果と過去の文献のシステマティックレビューによりエビデンスレベルの高い治療法を整備し、エビデンスに基づいた治療ガイドラインを作成した(全員)。

4. MCTDに合併するPAH診断基準の改訂

MCTDのPAH診断の手引きの改訂は、MCTDの

PAH診断の手引き改訂のためのワーキンググループを本研究班内に設置し、平成21年度第2回本研究班班会議、平成22年度第1回本研究班班会議で議論され合意された事項に基づき作成し、平成22年度第2回本研究班班会議にて最終的に了承を得た。本手引きの改訂にあたり、①PAHの診断には肺動脈圧の測定を必須とする、②PAHの診断には右心カテーテル検査を必須とはしないが積極的に推奨する、③PAHの診断に必要な心エコー検査でのePAPの具体的な数値を記載する、④PHを示唆する臨床所見にも注目する、⑤PHではなくPAHの診断の手引きにする、の5項目の合意事項を基に、ePAPの経年的変化に関する研究班内の調査結果、自験例におけるmPAP 25mmHgに相当するePAP値の検討結果、ヨーロッパ心臓病学会のPH診断・治療ガイドラインを参考にPAHの診断に用いるべきePAP値を設定し、PAHを示唆する臨床所見も診断に寄与するものとした。

5. MCTD生体試料バンクの構築およびそれを利用したGWAS解析(追加課題)(全員)

分担研究施設のMCTD患者より文書によるインフォームドコンセントのもとに末梢血DNAおよび血清、生検材料などの生体試料を採取し、冷凍保存した。連結可能匿名化し、研究分担を行う希望者にそれらの一部ずつを提供する。本年度は研究班全体としてDNA検体を利用して全ゲノム関連解析(GWAS)によりMCTDの疾患関連遺伝子を検索する準備を行った。

6. MCTDの疫学調査(疫学研究班との共同研究)

疫学研究班鷺尾との共同研究。代表研究施設および臨床系分担研究施設での倫理委員会の承認を経て、MCTD患者に対するアンケート調査(生活習慣、生殖歴、既往歴、家族歴等に関する自記式のアンケート調査)により、MCTD発症に関わる因子の疫学調査を行った。当班全体としてMCTD65例、対照として健常人261例にアンケートを配布、匿名で記入後に返送していただいた。

(倫理面の配慮)

プロジェクト研究においては主任研究者および各分担研究者の施設における倫理委員会の承認を得た後に研究を開始し患者へのインフォームドコンセントを遵守した。個人情報保護に関しては、患者情

報は各施設にて暗号化し、年齢、性別、治療経過、検査所見および血清を京都大学事務局に送付、匿名化された患者データと血液は事務局コーディネーターが管理している。

各分担研究においても患者への臨床介入を行なう場合および患者からの検体を使用する必要がある場合は、当該施設の倫理委員会規定を遵守することを求めた。動物実験においてはワシントン条約に定められた規約を遵守し、当該実験動物施設において定められた実験動物運営規定に基づいて、各施設の実験動物委員会による審査が行われた上での実験がなされるものとした。組換えDNA実験については文部科学省の「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に従い、当該施設のDNA実験安全委員会の承認を得て行うこととした。

C. 結果

1. 抗U1RNP抗体および他の液性因子の病因的意義およびその産生機序

1-1. 脳脊髄液中の抗U1RNP抗体と液性因子に関する研究（藤井）： CSF中抗U1RNP抗体陽性12例と陰性18例を比較したところ、陽性例でCSF中のIFN- α 、IP-10、MCP-1、MIG、RANTES、fractalkineが高い傾向を認めた。原疾患によるNPSLE/MCTDと診断された血清抗U1RNP抗体陽性24例（CSF-抗U1RNP抗体陽性率=46%）とステロイド精神病と診断された同6例（同17%）とを比較すると、MCP-1が前者で高値であった。また比較的高頻度であった認知機能障害5例（CSF-抗U1RNP抗体陽性率=60%）とステロイド精神病6例（同17%）を比較すると、前者でfractalkineが有意に高く、MCP-1も高い傾向を認めた。中枢神経症状を呈するSLE/MCTD患者において、CSF中の抗U1RNP抗体とケモカイン濃度上昇とが相関する可能性がある。

1-2. MCTDに伴うPAHに関連する抗内皮細胞抗体(AECA)に関する研究（澤井）： MCTD患者でのPAH発症に至る初期変化として肺微小血管内皮細胞傷害が示されており、肺微小血管内皮細胞を特異的に傷害する血清因子として抗内皮細胞抗体の対応抗原の探索を行った。ライブラリーのイムノスクリーニングにより、細胞膜にも局在する蛋白質や細胞外蛋白

質が19個抗原候補としてあがった。ヒト臍帯静脈血管内皮細胞に比べHMVEC-Lで高く発現していることが確認でき、スクリーニングの際にも高い反応を示した抗原について患者個人毎の血清で反応性を調べたものの、MCTD患者1名でのみ高い反応性が認められた。MCTD患者の食道では、筋層に免疫グロブリンの沈着が認められ、MCTD患者血清は食道平滑筋や静脈壁の中膜平滑筋、アウエルバッハ神経叢の神経節細胞に高い反応性を示した。しかし食道のcDNAライブラリーを用いたSEREXでは免疫グロブリンのmRNAが含まれており、期待するスクリーニング効率が得られなかった。

1-3. 新規マウスモデルを用いた抗U1RNP抗体産生機序の検討（川畑）： 抗U1RNP抗体の出現機序の検討はMCTDの病態解明に重要であることから、ヌードマウスへのT細胞移入による抗核抗体産生の系を樹立し、抗U1RNP抗体の産生機序研究への有用性を明らかにしてきた。本年度は実際に本系を用いて、抗U1RNP抗体産生の産生機構の解明を試みた。その結果、本系では移入されたCD4+CD25-T細胞が新たなCXCR5⁺PD-1⁺ follicular helper T細胞に分化し、それに伴いgerminal centerが形成され、抗U1RNP抗体をはじめとする自己抗体産生が生じることが明らかとなった。この分化過程において、homeostatic proliferationやICOSからのシグナルが促進的に関与する一方で、cognateな抗原認識は必要ではないこと、制御性T細胞が抑制的に作用していることも明らかとなった。本研究により明らかとなった自己抗体産生に関わる新たなfollicular helper T細胞サブセットとその分化経路の解明は、MCTDに対する分子標的治療を開発する上で重要と考えられた。

2. MCTDに合併するPAHの自然歴および病態の解明と治療

2-1. MCTD-PAHの発症予測因子NOS2遺伝子多型の前向き研究（川口）： 血管拡張因子である一酸化窒素(NO)は、以前の検討で、MCTD患者において血清中で増加しているが、PAHを合併した症例では、NOの増加が認められない。このNO産生量の違いにNO合成酵素であるinducible NO synthase (NOS-2)の遺伝子多型の関与があることを報告してきた。発症4年以内のMCTD患者で4年以上の追跡調査を行い、PAHの発症にNOS2遺伝子多型が予測因子になるか

どうかを前向き検討で評価した。2005年11月から2009年10月まで26例のMCTDを登録し、そのうち7例にPAHが発症した。26症例のNOS2遺伝子の-2.5 kb近傍に存在するCCTTT繰り返し配列の2つの染色体上の和を検討した結果、CCTTT繰り返し配列の数が少ないことは、PAHの発症と有意な相関が認められ、NOS2遺伝子多型はPAH発症の遺伝学的指標となる可能性が示唆された。

2-2. PAHに合併する心血管系のリモデリングの病態解明と治療法開発に関する研究 (田中) : HEXIM1は血管平滑筋の分化誘導に伴って発現する遺伝子の一つとして発見され、血管平滑筋・心筋細胞の増殖や心肥大に関与する。MCTDにおけるPAHとそれに合併する右心肥大の病態におけるHEXIM1の意義を明らかにし、新規治療法開発の基盤をつくることを目的とした。低酸素負荷によるPAHモデルでは、野生型マウスでは右心肥大の指標である右室/左室+心室中隔重量比は有意に増加したが、心筋特異的HEXIM1過剰発現マウス (HEXIM1Tg) では変化がなかった。心病理組織学的解析によっても、HEXIM1Tgにおいて右室心筋細胞の肥大が抑制されていることが確認された。したがって、個体レベルにおいて、HEXIM1はPAHに伴う右心肥大進展抑制に関与する可能性が示唆された。

2-3. 膠原病PAHにおける血管関連マーカーの臨床的意義に関する研究 (岡田) : LIGHT (lymphotoxin-like inducible protein that competes with glycoprotein D for binding herpes virus entry mediator on T cells) は、IFN- γ によりT細胞に誘導されるTNF superfamilyであるが、血管内細胞にも見られ、血栓やPAHとの関連も報告されている。そこで、膠原病および膠原病に伴うPAHにおけるLIGHTの意義を検討した。PAHを認めた症例ではLIGHTは非PAH群よりも高い傾向が見られた。その他の膠原病ではRAおよびAPSで高値を示す症例が多かった。特にAPSで最も高値を示し、血栓症との関連が推測された。血清中のLIGHTはPAH例で上昇する傾向が見られたものの、血栓症を主要な病態とするAPSで最も高値を示し、膠原病では血栓症を反映する可能性が推測された。

2-4. ACE2活性を阻害する新規自己抗体の同定と分析 (三森明夫) : 収縮・増殖性血管反応に拮抗して血管を保護するACE2の生理作用を阻害する抗

ACE2抗体の存在を証明した。MCTDを含む膠原病PAH 3例でACE2阻害自己抗体を再確認する一方で、血管病変なしに抗ACE2抗体高値を示す例がSLE 7人にみつけたが、いずれのIgG分画にもACE2阻害作用はなかった。すなわち、阻害作用をもつ抗体の存在が、膠原病血管病変と相関すると示唆された。ランダムペプチドライブラリー法によって、ACE2蛋白の活性部位付近に位置する335-DPGNVQK-341、462-MVFKG-466の2つの共通エピトープを同定した。ACE2阻害自己抗体は膠原病の末梢循環不全とPAHに関連する可能性が示唆された。

2-5. PAHにおける末梢血単球の役割に関する研究 (桑名) : 循環血中の単球が局所にリクルートされ、血管新生や線維化病態に関わることを示す知見が集積されている。そこで、末梢血単球の遺伝子発現を網羅的に検討することで、膠原病に伴うPAH病態における単球の役割を追究することを目的とした。PAHを有するSSc3例とPAHのないSSc3例から末梢血CD14+単球を分離し、PCRアレイ法を用いてケモカイン、細胞外マトリックス、TGF β /BMPシグナル、血管内皮に関わる計318遺伝子の発現を比較した。その結果、PAH症例で発現の高い17遺伝子 (ケモカインとその受容体、細胞接着分子を含む) と発現の低い17遺伝子 (TGF β /BMPシグナル分子や細胞外マトリックス分解酵素を含む) が抽出された。これら遺伝子の既知の機能から、末梢血単球が遊走や接着能の亢進を介して肺動脈のリモデリングに関わる可能性が示唆された。

2-6. 膠原病におけるPAHの評価法と治療に関する研究 (高崎) : MCTDに合併するPAHの診断において、右心カテーテルは肺動脈圧以外の右心系の血行動態も把握でき、PHの確定診断に最も有用である。しかしスクリーニング検査や短期間での経過観察には適さない。本研究では血液検査、呼吸機能検査やCTスキャン上で測定した血管径などから非侵襲的に高い確率でPH合併を簡便に予測し、経過観察する方法について考察した。その結果、血清BNP値とCTスキャンで計算した右肺動脈径、上行大動脈径をそれぞれ組み合わせた計算式により、心臓超音波検査での推定右室圧と一定の相関を有することが明らかとなった。これらをPAHが疑われる症例に用いることで、右心カテーテルの適応例や施行時期を的確

に予測できる可能性が示唆された。

2-7. 長時間作用型肺高血圧治療薬の有用性に関する研究（京谷）： 作用機序が同一だが作用時間の異なる薬剤の有用性の相違について検討した。膠原病性を含む PAH 患者で、短時間作用薬シルデナフィルによる治療を行っていた 4 名に対して長時間作用薬タダラフィルに変更したところ、シルデナフィルでは薬剤急性効果に伴う副作用である動悸、頭痛、胸部圧迫感のために十分な増量が果たせずいたが、タダラフィルへ変更後は副作用は軽減し、十分な増量を行うことができた。心臓超音波検査での推定肺動脈圧は 120.5mmHg から 73.5mmHg へと低下し、BNP も 328.9pg/ml から 138.1pg/ml へと改善がみられた。長時間作用型薬剤においては副作用が軽減され、忍容性が向上し、高用量治療の導入が容易であり、治療効果の増強が観察された。

3. 混合性結合組織病の肺動脈性肺高血圧症診断の手引き改訂（吉田、全員）

MCTD に合併する肺高血圧症 (PH) 診断の手引は 1992 年に作成されているが、この間治療法が進歩し、軽症・無症候患者に対して行われるスクリーニング検査も念頭においた PAH 診断の手引きが必要と考え、その改訂を行った。改訂した診断の手引きは、I. PH を疑う臨床所見、検査所見、II. 心エコー検査での診断、III. 右心カテーテル検査での診断、IV. 除外診断項目からなり、PAH と PAH の疑いの 2 群の診断とした（分担研究報告書 p12、表 1）。心エコー検査のみでの診断も可能ではあるが、右心カテーテル検査を推奨した。また、PAH 診断の閾値となる ePAP 値はヨーロッパ心臓病学会の PH 診断・治療ガイドラインで提唱された 36mmHg とした。これは本研究班内での PH の悪化をきたす ePAP の閾値、あるいは自験例での右心カテーテル検査での肺動脈平均圧 25mmHg に相当する ePAP 値にきわめて近似した値であり、妥当と考えられた。従来の古典的形式に加えてアルゴリズム形式（フローチャート）も作成した（分担研究報告書 p12、図 1）。

4. エビデンスに基づく MCTD の治療ガイドラインの策定（全員）

MCTD の治療に関する過去 20 年間の文献のシステマティックなレビューによりエビデンスレベルの分類（レベル I～VI）を行い、これらを元に現時点で最

も信頼性の高いと考えられる MCTD の治療法を整備して、エビデンスに基づいた MCTD の治療ガイドラインを作成した。それぞれの治療法にはエビデンスレベルなどから勘案した推奨度 (A～D) を設定した。MCTD の治療ガイドラインとしては現時点で最良のものが作成されたと考えられる。このガイドラインはすでに平成 19 年度に完成していたが、本年度にマイナーな改訂を行った。印刷して全国の主要な膠原病を専門とする医療施設へ配布するとともに、ウェブサイトで公開する予定である。

5. MCTD 生体試料バンクの構築およびそれを利用した GWAS 解析（全員）

京都大学医の倫理委員会に申請し認可を得て、MCTD 検体の採取を開始した。これまでに合計 MCTD 88 例、抗 U1RNP 抗体陽性膠原病 160 例の DNA が収集され、またそれぞれ 86 例、158 例の血清または血漿が収集された。PAH 合併例は 20 例であった。本年度は研究班全体として DNA 検体を利用した MCTD の疾患関連遺伝子検索のための検体収集が始まり、全ゲノム関連解析 (GWAS) のための遺伝子タイピングのチップを購入した。十分な数の検体が集まり次第、MCTD の疾患関連遺伝子の解析を遂行する。

6. MCTD の症例対照研究（疫学研究班との共同研究）

代表研究施設および臨床系分担研究施設での倫理委員会の承認を経て、MCTD 患者および対象疾患である SLE 患者にアンケートを配布し、集計が終了した。生活習慣および生殖歴、既往歴、家族歴等に関する自記式のアンケート調査の結果、喫煙は SLE 発症のリスクであるが、MCTD の発症に与える影響は少ないなどの結果を得た。本研究の限界としては発症から 10 年以上経過している症例も含まれており、施設を増やして、発症からの期間を限定した症例で解析を行う必要がある。

D. 考察

MCTD はわが国に多い疾患であり、わが国が中心となって研究を進める責務がある。これまでの調査研究によりわが国では欧米よりも頻度の高い疾患であること、特徴的な臨床所見と抗 U1RNP 抗体とに密接な関連があること、自然歴より SLE、SSc、PM のいずれとも異なる独自の病像と自然経過を有するこ

と、主な死因としてのPAHが重要であることが明らかにされてきた。これらの過去の研究班の努力によって、MCTDが独立した疾患概念であることは確立したと考えてよい。しかし、MCTDの病態形成機序にはなお不明な点が多い。特にMCTDの血清学的マーカーである抗U1RNP抗体がいかんして産生され、病態にどのようにかわるかについてはなお不明である。生命予後の悪いPAHについても発症のメカニズムは不明であり、その治療法については近年プロスタサイクリン製剤、エンドセリン受容体拮抗薬、PDE5阻害薬が我国でも適応となったが、その適応や効果には原発性PAHとの異同を含めてなお多くの問題点が残されている。我々はかかる点を解明し、MCTDのさらなる予後改善のために本研究班で研究を続けてきた。MCTDのPAHは原発性PAHと異なってステロイドや免疫抑制薬に反応する可能性があり、原発性PAHとは異なった独自の治療指針を確立する必要性が大きい。

本研究班ではMCTDの病態形成機序解明と治療法確立のため、1)抗U1RNP抗体および抗肺血管内皮細胞抗体などの液性因子の病因的意義、2)MCTDに合併するPAHの病態の解明と治療法の確立、を重点研究課題として各個研究が遂行され、一定の成果が得られたと考える。特に各個研究では、抗U1RNP抗体を産生する新たな動物モデルが確立され産生メカニズムの一端が解明されたこと（川畑）、中枢神経症状を呈するMCTD/SLE髄液中に抗U1RNP抗体が検出され病態との関連が示されたこと（藤井）、PAHや末端壊死を有する患者血清中にACE2の生理活性を阻害する新規自己抗体が発見されたこと（三森明夫）はMCTDの発症・病態形成機序に大きな手掛かりを与えるものと期待され、生命予後の悪いPAHについての発症メカニズムの研究において、NOS遺伝子多型がPAH発症の予測因子となりうること（川口）、血管平滑筋・心筋細胞の増殖などPAHにおける心筋リモデリングにHEXIM1が関与していること（田中）、

MCTD-PAHの発症予測や新たな治療標的開発に対して示唆を与えるものと評価される。

本年度は当研究班の最終年度として、1992年に策定されたMCTD-PAHの診断の手引の全面改定を行った。本症の診断には必ずしも循環器専門医のみが関わるものではないため、右心カテーテル検査だけでなく、PAHを疑う臨床所見および非侵襲的な検査所見と心エコー検査によっても診断可能な手引とし、PAH診断の閾値となるePAP値を設定したこと、心エコー検査によるPAHの基準と方法を明確に定義したことに特徴がある。その有用性の検証が今後の課題である。

E. 結論

MCTDはSLE、SSc、PMの症状を併せ持つユニークな病態と抗U1RNP抗体の産生を血清学的な特徴とする、我国に多い疾患である。PAHの合併などにより当初考えられていたほど予後の良い疾患ではないため、患者の生命予後とQOL改善は急務といえる。当研究班では、抗U1RNP抗体の産生機序と病態形成における意義、PAHの発症機序、診断および治療法を追及し、成果を上げてきた。本年度はMCTDに合併するPAHの診断の手引を18年ぶりに改訂した。さらに班全体で取り組んだガイドライン策定により全国での一定レベルの診療が可能となることが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

「III. 研究成果の刊行に関する一覧表」参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

II. 分担研究報告

混合性結合組織病(MCTD)の肺動脈性肺高血圧症(PAH)診断の手引き改訂について

研究分担者： 吉田 俊治 藤田保健衛生大学医部内科・教授
研究協力者： 深谷 修作 藤田保健衛生大学医部内科・准教授
研究分担者： 京谷 晋吾 国立循環器病センター・客員研究員
研究分担者： 桑名 正隆 慶応義塾大学医学部内科・准教授
研究分担者： 藤井 隆夫 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学・准教授
研究代表者： 三森 経世 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学・教授

研究要旨

MCTDには高率に肺高血圧症(PH)の合併を認め、その多くがPAHである。本研究班ではMCTD患者に対する積極的なPAHのスクリーニング検査を推奨してきた。近年、PAHの新たな薬剤の開発が相次いだこともあり、PAHに対する関心が急速に高まってきた。その結果、軽症または無症候、境界域のPAH患者も発見されるようになった。また、世界的に新たなPHの診療指針が示され、早期治療や作用機序の異なる肺血管拡張薬の併用が積極的に行われるようになった。そこで、軽症、無症候患者に対して行われるスクリーニング検査も念頭においたPAH診断の手引きが必要と考え、その改定を行った。改訂にあたり、①PAHの診断には肺動脈圧測定を必須とする、②PAHの診断には右心カテーテル検査は必須としないが積極的に推奨する、③PAHの診断に必要な心エコー検査での推定肺動脈収縮期圧(ePAP)の具体的数値を記載する、④PHを示唆する臨床所見にも注目する、⑤PHではなく、PAHの診断の手引きとするの5項目を基本方針とした。これらは本研究班の班会議、本研究班内に設置されたワーキンググループで議論され合意を得た。改訂した診断の手引きは、I. PHを疑う臨床所見、検査所見、II. 心エコー検査での診断、III. 右心カテーテル検査での診断、IV. 除外診断項目からなり、PAHとPHの疑いの2群の診断とした。心エコー検査のみでの診断も可能ではあるが、右心カテーテル検査を推奨している。また、PAH診断の閾値となるePAP値はヨーロッパ心臓病学会のPH診断・治療ガイドラインで提唱された36mmHgとした。これは本研究班内でのPHの悪化をきたすePAPの閾値、あるいは自験例での右心カテーテル検査での肺動脈平均圧25mmHgに相当するePAP値にきわめて近似した値であり、妥当と考えられた。

A. 研究目的

混合性結合組織病(MCTD)には高率に肺高血圧症(PH)の合併を認め、その多くが肺動脈性肺高血圧症(PAH)とされている。また、積極的にPAHのスクリーニングを行うことにより、軽症あるいは無症候の患者も含め、新たなPAH患者が見いだされる1)こともあり、本研究班ではMCTD患者に対する積極的なPAHのスクリーニングを推奨してきた。また、近年PAH治療薬の新たな開発が相次いだことによるPAHに対する関心の高まりも相俟って、積極的なPAHスクリーニングが行われるようになってきた。さらに、境界域なる概念が記載された世界的に

新たなPH診療指針2,3)が示され、比較的早期からの肺血管拡張療法、作用機序の異なる肺血管拡張薬の併用療法が積極的に行われるようになってきた。

一方、現在用いられているMCTDのPH診断の手引き4)は、PHに由来する症状を有する患者におけるPH診断が想定されており、無症候患者における積極的なPHスクリーニングは想定されていない。しかし、無症候患者に対し心エコー検査による積極的なPHスクリーニングを行った場合でも、「超音波ドップラー法による右心系の圧が右心カテーテル検査の肺動脈平均圧(mPAP)25mmHg以上に相当」の項目を用いればその診断も可能ではある。しかし

ながら、「mPAP 25mmHg に相当する圧」の具体的な数値の記載がなく、各施設あるいは主治医毎に PH 診断の判定基準が異なってしまう可能性がある。

そこで、軽症、無症候患者に対して積極的に行うことを推奨している PAH スクリーニング検査にも対応できる、第 4 回 PH ワールドシンポジウムで提唱された境界域 PH にも対応できる、mPAP 25mmHg に相当する心エコー検査による推定肺動脈収縮期圧 (ePAP) の具体的な数値を記載した MCTD の PAH 診断の手引きを作成することとした。

B. 研究方法

MCTD の PH 診断の手引きの改訂は、平成 21 年度第 2 回本研究班班会議、平成 22 年 4 月の「MCTD の PAH 診断の手引き改訂のためのワーキンググループ」(本研究班の班内に設置)、平成 22 年度第 1 回本研究班班会議の 3 回の会議で議論され合意された事項に基づき作成し、平成 22 年度第 2 回本研究班班会議にて最終的に了承を得た。本手引きの改訂にあたり、①PAH の診断には肺動脈圧の測定を必須とする、②PAH の診断には右心カテーテル検査を必須とはしないが、積極的に推奨する、③PAH の診断に必要な心エコー検査での ePAP の具体的な数値を記載する、④PH を示唆する臨床所見にも注目する、⑤PH ではなく PAH の診断の手引きにするの 5 項目が班内の合意事項である。この合意事項を基に、ePAP の経年的変化に関する研究班内の調査結果、自験例における mPAP 25mmHg に相当する ePAP 値の検討結果、ヨーロッパ心臓病学会 (ESC) の PH 診断・治療ガイドライン³⁾を参考に PAH の診断に用いるべき ePAP 値を設定し、PH を示唆する臨床所見も診断に寄与するものとした。

(倫理面への配慮)

今回の研究では個人情報を扱っておらず、特に個人情報の保護を考慮すべき内容は含まれていない。

C. 研究結果

表 1 に今回改訂した MCTD の PAH 診断の手引き、図 1 に診断アルゴリズムを示す。

診断は「PAH」と「PAH 疑い」の 2 つを設定した。心エコー検査で PAH を診断する場合に用いる ePAP

の値は ESC の PH 診断・治療ガイドライン³⁾に基づき 36mmHg と 50mmHg (表 2) とした。この時に、I の A の項目の満たし具合を加味した PAH の診断となるようにした。右心カテーテル検査で PAH を診断する場合に用いる mPAP の値は PH の定義に基づき 21mmHg を PAH 疑い(境界域)と 25mmHg を PAH とした。

D. 考察

MCTD 患者に積極的に PAH のスクリーニングを行うことにより、軽症あるいは無症候の患者も含め、新たな PAH 患者が見いだされる¹⁾。このような状況で、従来用いられてきた MCTD の PH 診断の手引き⁴⁾には二つの問題点があると思われる。第一の問題点は、従来の PH 診断の手引きは、PH に由来すると考えられる症候を有している患者における PH の診断を想定しており、無症候患者における積極的な PH スクリーニングは想定されていない点である。第二の問題点は、「超音波ドップラー法による右心系の圧が右心カテーテル検査の mPAP 25mmHg 以上に相当」すれば PH の診断が可能であるが、その具体的な数値の記載がなく、各施設あるいは主治医毎に PH 診断の判定基準が異なってしまう可能性がある点である。そして、第 4 回 PH ワールドシンポジウムでは境界域 PH の概念も提唱された。そこで、これら三つの点に対応できる MCTD の PAH 診断の手引きを作成した。

本手引きの改訂にあたり、①PAH の診断には肺動脈圧の測定を必須とする、②PAH の診断には右心カテーテル検査を必須とはしないが、積極的に推奨する、③PAH の診断に必要な心エコー検査での ePAP の具体的な数値を記載する、④PH を示唆する臨床所見にも注目する、⑤PH ではなく PAH の診断の手引きにするの 5 項目が本研究班内の合意事項である。

まず、肺動脈圧の測定であるが、心エコーおよび右心カテーテル検査いずれでもかまわないが、肺動脈圧の測定なしでは PAH あるいは PAH の疑いの診断に至らない様な位置づけとした。

右心カテーテル検査については、PAH の診断に際し必須の検査とはしていないが、右心カテーテル検査だけでも PAH あるいは PAH の疑いの診断が可能である位置づけにするとともに、これらの診断に至

る症例については、診断の手引き使用時の留意点および付記においてその施行を推奨している。

PAHの診断に必要なePAPの具体的な数値についてはESCのPH診断・治療ガイドライン3)に記載されている値を採用した。具体的には36mmHgと50mmHgである。この内、36mmHgはPAHの存否を判断する重要な数値と考えられる。自験例での検討ではmPAP 25mmHgに相当するePAPは38mmHgときわめて近似した値であったこと(図2)5)、平成16年度の本研究班内調査において行ったePAPの経時的な経過観察においてePAP 35mmHg以下ではePAPの悪化は見られなかったこと6)からも36mmHgは妥当な数値と考えられた(いずれも右房圧を5mmHgと仮定)。

PHを示唆する臨床所見に関しては、従来の診断の手引きに記載されている項目から心エコー検査に関連する項目を除いた5項目とした。これら5項目中4項目以上を満たす場合(従来の手引きではこれだけでPHの診断が可能)は、ePAPが36mmHg以下ではPAHは否定的からPAH疑いへ、37~50mmHgではPAHの疑いからPAHへとその診断が変化するようにし、これらの項目がPAHの診断に寄与するものとなっている。また、これら臨床徴候とは別に無症候患者に対するスクリーニングも念頭にスクリーニング検査としての心エコー検査の位置づけも明確にした。さらに、臨床所見だけでなくBNPやNT-ProBNP、%VC/%DLco、血清尿酸値などの検査所見の異常も心エコー検査を行うべききっかけとして明記した。

MCTDに合併するPHの多くはPAHと考えられており、「MCTDに合併したPH」は「MCTDに合併したPAH」と同義に近い。しかし、PAH以外のPHも確かに存在し、PHの治療まで考えると、さらにPAHとその他のPHとの鑑別は重要となる。したがって、除外診断項目を設け、具体的に左心性疾患、肺疾患および/または低酸素血症、慢性血栓塞栓によるPHを挙げることにより、PAHの診断の手引きであることを明確にした。

今回改訂したMCTDのPAH診断の手引きは本研究班内では合意されているが、その感度・特異度の検定は行われておらず、今後検討されなければならない。また、多くの軽症PAH患者を循環器専門医で

はなくリウマチ専門医が診療している現状を鑑み、その診断に際し右心カテーテル検査を必須とはしなかった。しかし、右心カテーテル検査はPAHの診断のゴールドスタンダードであり、その重要性を否定するものではないことを強調したい。さらに、無症候あるいは軽症のPAHが診断された場合、その管理に明確な指針はない。慎重に経過観察されたこれら症例の蓄積が、その答に結びつくものとする。

E. 結論

「MCTDのPH診断の手引き」を改訂し、「MCTDのPAH診断の手引き」とした。「MCTDのPAH診断の手引き」は無症候患者へのPAHスクリーニング検査の施行も想定し、mPAP 25mmHgに相当するePAPの具体的な数値を記載し、PAHの診断に際し肺動脈圧の測定を必須とし、PAHの疑いの中に境界域のPAHが含まれるようにした。

今後、「MCTDのPAH診断の手引き」の感度・特異度の検討が必要であるし、右心カテーテル検査の扱いについてもさらに議論を深める必要がある。

文献

1. 吉田俊治, 深谷修作, 岡田純, 他: 混合性結合組織病における肺高血圧症の合併頻度. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 混合性結合組織病に関する研究—混合性結合組織病の病態、治療と関連する遺伝的因子、自己抗体の研究— 平成15年度総括・分担研究報告書: 43-46, 2004
2. Proceedings of the 4th World Symposium on Pulmonary Hypertension, February 2008, Dana Point, California, USA. J Am Coll Cardiol 54(1 Suppl): S1-117, 2009
3. Galie N., Hoeper M.M., Humbert M., et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). Eur Heart J. 30(20): 2493-2537, 2009

4. 厚生省結合組織病調査研究班: 混合性結合組織病の肺高血圧症診断の手引き. リウマチ 31:159-166, 1991
5. 吉田俊治, 深谷修作, 加藤靖周, 他: 膠原病における肺動脈圧の予測値に関する検討. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 混合性結合組織病の病態解明と治療法の確立に関する研究 平成 20 年度総括・分担研究報告書: 56-61, 2009
6. 吉田俊治, 深谷修作, 岡田純, 他: 混合性結合組織病合併肺高血圧症の自然経過に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業—混合性結合組織病の病態、治療と関連する遺伝的因子、自己抗体の研究— 平成 16 年度総括・分担研究報告書: 55-58, 2005

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 加藤賢一, 吉田俊治: 膠原病・リウマチ性疾患における感染症と IVIG 療法. 診療と新薬 47 巻 2 号 1-8, 2010.
2. 西野譲, 吉田俊治: 関節リウマチの治療 生物学的製剤、新規生物学的製剤. Modern Physician, vol.30, No.8, 2010
3. Kenichi Kato, Satoru Onoda, Shunji Yoshida: Evaluation of the clinical cutoff level of serum(1→3) β -D-dlucan in patients with connective tissue diseases complicated by deep fungal infections. Modern Rheumatology :366-369, 2010

2. 学会発表

1. 西野譲, 岩館知史, 吉田俊治, 他: 関節リウマチ(RA)患者およびシェーグレン症候群(SS)患者における胃食道逆流症(GERD)及び QOL の検討. 第 107 回日本内科学会総会, 2010.4
2. 小野田覚, 水谷昭衛, 吉田俊治, 他: 当院における infliximab 増量症例の検討. 第 54 回日本リウマチ学会総会, 2010.4
3. 岩館知史, 西野譲, 吉田俊治, 他: PSL、AZP 投与中に難治性 CMV 感染症、ノカルジア感染症、多発脳膿瘍を合併した MPA の一例. 第 54 回日本リウマチ学会総会, 2010.4、
4. 登坂信子, 深谷修作, 吉田俊治, 他: 当科におけるボセンタンの治療成績から考える肺血管拡張薬の併用療法. 第 54 回日本リウマチ学会総会, 2010.4
5. 岩破由実, 平野大介, 吉田俊治, 他: 大動脈狭窄を認め高安動脈炎様病変を示した不全型ベーチェット病の一例. 第 54 回日本リウマチ学会総会, 2010.4
6. 大竹智子, 芦原睦, 吉田俊治, 他: RA 病態・QOL 関節リウマチ(RA)患者の心身医学的検討. 第 54 回日本リウマチ学会総会, 2010.4
7. 玉熊桂子, 岩館知史, 吉田俊治, 他: 感染症と病態膠原病患者におけるサイトメガロウイルス(CMV)薬剤耐性遺伝子 UL97 変異の部分解析. 第 54 回日本リウマチ学会総会, 2010.4
8. 吉田俊治: 膠原病性肺高血圧症の現状. 第 54 回日本リウマチ学会総会, 2010.4、
9. 西野譲, 岩破由実, 吉田俊治, 他: RA 病態 関節リウマチ患者およびシェーグレン症候群患者における胃食道逆流症と QOL の検討. 第 54 回日本リウマチ学会総会, 2010.4、

表 1. 混合性結合組織病(MCTD)の肺動脈性肺高血圧症(PAH)診断の手引き

<p>I. 肺高血圧症を疑う臨床所見、検査所見</p> <p>A. 労作時の息切れ 胸骨左縁収縮期拍動 第Ⅱ肺動脈音の亢進 胸部 X 線像での肺動脈本幹部の拡大あるいは左Ⅱ弓の突出 心電図上の右室肥大あるいは右室負荷</p> <p>B. BNP または NT-ProBNP 高値 %VC/%DLco\geq1.4 原因不明の高尿酸血症</p> <p>II. 心臓超音波検査</p> <p>1. 推定肺動脈収縮期圧が 36mmHg (三尖弁逆流速度 2.8m/s) 以下 2. 推定肺動脈収縮期圧が 37~50mmHg (三尖弁逆流速度 2.9~3.4m/s) 3. 推定肺動脈収縮期圧が 50mmHg (三尖弁逆流速度 3.4m/s) より大</p> <p>III. 右心カテーテル検査</p> <p>1. 肺動脈平均圧 21~24mmHg 2. 肺動脈平均圧 25mmHg 以上</p> <p>IV. 診断</p> <p>PAH</p> <p>Ⅱの 3 に該当 Ⅱの 2 に該当し、Ⅰの A の 4 項目以上を満たす Ⅲの 2 に該当</p> <p>PAH の疑い</p> <p>Ⅱの 2 に該当し、Ⅰの A の 4 項目以上を満たさない Ⅱの 1 に該当し、Ⅰの A の 4 項目以上を満たす Ⅲの 1 に該当</p> <p>V. 除外診断</p> <p>1. 左心疾患による肺高血圧症 2. 肺疾患および/または低酸素血症による肺高血圧症 3. 慢性血栓塞栓性肺高血圧症</p>

診断の手引使用上の留意点

- 本手引きは MCTD 患者の PAH の診断に用いる。
- MCTD 患者では肺高血圧症を示唆する臨床所見、検査所見がなくても、心臓超音波検査を行うことが望ましい。
- 肺高血圧症を示唆する推定肺動脈収縮期圧以外のパラメーター（肺動脈弁逆流速度の上昇、肺動脈への右室駆出時間の短縮、右心系の径の増大、心室中隔の形状および機能の異常、右室肥厚の増加、主肺動脈の拡張）を認める場合には、PAH およびその疑いの診断に至らなくても 1 年以内に再評価することが望ましい。
- PAH 疑いと診断される場合には右心カテーテル検査を施行することが望ましい。治療を行わない場合でも、3 か月後に心臓超音波検査を行い再評価する。
- PAH と診断される場合においても、その臨床分類、重症度評価のため、治療開始前に右心カテーテル検査を施行することが望ましい。

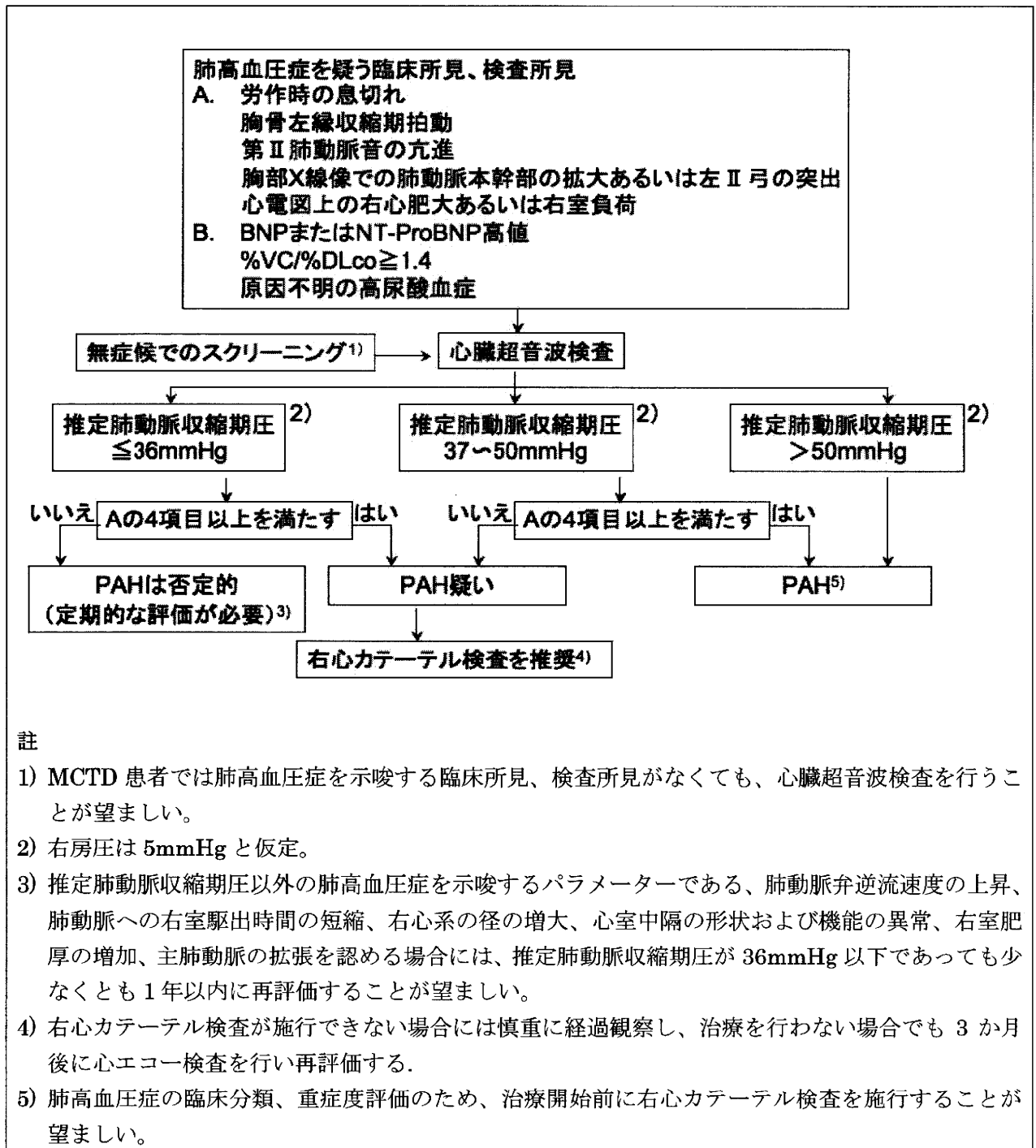


図1. 混合性結合組織病(MCTD)の肺動脈性肺高血圧症(PAH)診断アルゴリズム

表2. 心エコー検査による肺高血圧症の有無を推測するための基準

	推奨度	エビデンスレベル
心エコー診断：PHの可能性ほぼなし 三尖弁逆流速度 ≤ 2.8 m/s PA収縮期圧 < 36 mmHg PHを示唆するその他の心エコーパラメーターなし	I	B
心エコー診断：PHの可能性あり 三尖弁逆流速度 ≤ 2.8 m/s、PA収縮期圧 < 36 mmHgだが、PHを示唆するその他の心エコーパラメーターあり 三尖弁逆流速度 $2.9\sim 3.4$ m/s、PA収縮期圧 $37\sim 50$ mmHg、PHを示唆するその他の心エコーパラメーターの有無は問わない	IIa IIa	C C
心エコー診断：PHの可能性大 三尖弁逆流速度 > 3.4 m/s、PA収縮期圧 > 50 mmHg、PHを示唆するその他の心エコーパラメーターの有無は問わない	I	B
PHのスクリーニングに運動負荷ドップラー心エコー法は推奨できない	III	C

推奨度

- I：エビデンスが存在するおよび/または見解が広く一致
- IIa：有用、有効である可能性が高い
- IIb：有用性/有効性が確立されているとは言い難い
- III：有用、有効ではなく、時に有害であるというエビデンスが存在するか、見解が広く一致

エビデンスレベル

- A：多数の無作為化臨床試験またはメタアナリシス
- B：ひとつの無作為化臨床試験または大規模非無作為化試験
- C：専門医の合意および/または小規模試験、レトロスペクティブ試験、症例登録

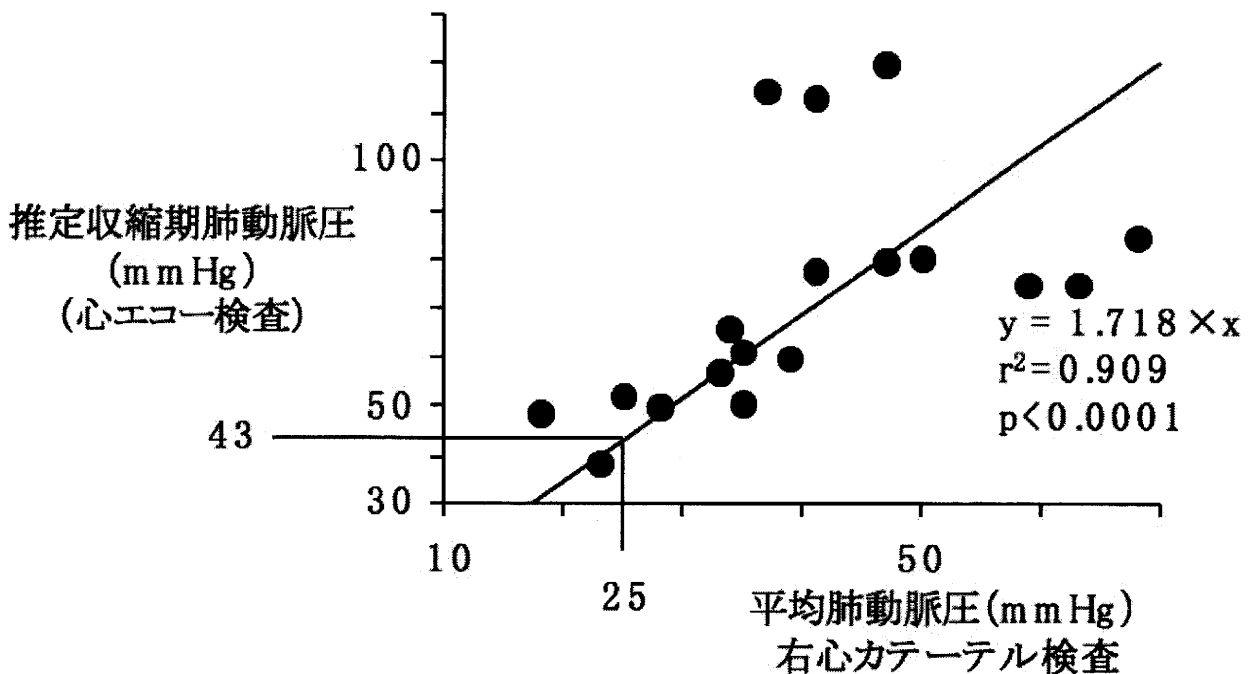


図2. 心エコーによる推定収縮期肺動脈圧と右心カテーテルによる平均肺動脈圧との相関

脳脊髄液中の抗 U1RNP 抗体と液性因子に関する研究

研究分担者： 藤井 隆夫 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学・准教授
研究協力者： 横山 倫子 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学

研究要旨

Neuropsychiatric SLE (NPSLE) 患者では、脳組織に免疫複合体や IgG の沈着が認められることはきわめて少なく、脳脊髄液 (CSF) -抗 U1RNP 抗体の病因的意義は不明である。本研究では CSF-抗 U1RNP 抗体と液性因子 (サイトカイン・ケモカイン) に相関がないかどうかを調べた。CSF-抗 U1RNP 抗体が RNA-免疫沈降法 (RNA-IPP) により測定されていた血清-U1RNP 抗体陽性 SLE 28 例、MCTD2 例を対象とした。CSF-抗 U1RNP 抗体陽性 12 例と、陰性 18 例を比較したところ、陽性例で CSF 中の IFN- α 、IP-10、MCP-1、MIG、RANTES、fractalkine が高い傾向を認めた。原疾患による NPSLE と診断された血清-抗 U1RNP 抗体陽性 24 症例 (CSF-抗 U1RNP 抗体陽性率=46%) とステロイド精神病と診断された同 6 症例 (同 17%) とを比較すると、MCP-1 が前者で高値であった ($p < 0.05$)。また比較的高頻度であった cognitive dysfunction の 5 症例 (CSF-抗 U1RNP 抗体陽性率=60%) とステロイド精神病 6 症例 (同 17%) で比較すると、前者で fractalkine が有意に高く ($p < 0.05$)、MCP-1 も高い傾向を認めた。さらに多数例での検討が必要であるが、NPSLE 患者において、CSF-抗 U1RNP 抗体と CSF 中のケモカイン濃度の上昇とが相関する可能性がある。

A. 研究目的

われわれは本会議で、抗 U1RNP 抗体陽性全身性エリテマトーデス (SLE) および MCTD 患者が中枢神経 (CNS) 症状を合併した場合、neuropsychiatric SLE (NPSLE) では脳脊髄液 (CSF) 中の抗 U1RNP 抗体が高率に陽性となるのに対し、ステロイド精神病など他の原因による症例では陰性であることを報告してきた (Sato T, *et al*, *Arthritis Rheum*, 2010)。しかし NPSLE 患者で脳組織に免疫複合体や IgG の沈着が認められることはきわめて少なく、CSF-抗 U1RNP 抗体の病因的意義は不明である。本研究では、CSF-抗 U1RNP 抗体と液性因子 (NPSLE と関連するサイトカイン・ケモカイン) に相関がないかどうかを調べた。

B. 研究方法

われわれは文書同意をとったうえで NPSLE 患者の CSF を保存し、約 80 例においてサイトカイン・ケモカインを測定したが、今回は、CSF-抗 U1RNP 抗体が RNA-免疫沈降法 (RNA-IPP) により測定さ

れていた血清-U1RNP 抗体陽性 SLE 28 例、MCTD2 例のみを対象とした。男性 1 例、女性 29 例、CNS 症状の平均発症年齢は 32.3 歳で、CNS 症状を認めた際に採取された CSF を用いた。CSF 中の液性因子の測定は Filgen 社に依頼し、Procarta® Cytokine Assay kit を用いて IFN- α 、IL-8、IP (interferon-inducible protein)-10、MCP (monocyte chemoattractant protein)-1、MIG (monokine induced by IFN- γ)、RANTES (regulated upon activation normal T cell expressed and secreted)、fractalkine の 7 種類を Bio-Plex™ により測定した。

液性因子は、まず CSF-抗 U1RNP 抗体陽性患者と陰性患者で差を調べた。次に臨床的にステロイド精神病とされた症例 (脳 MRI、脳波、CSF の一般検査などで明らかな異常がなく、ステロイド減量により症状が改善した症例) と NPSLE と考えられた症例とで液性因子の差がないかを調べた。

C. 研究結果

対象症例30例は、アメリカリウマチ学会のNPSLE分類にあてはめると、headache：9例、cognitive dysfunction：5例、seizure disorder：4例、aseptic meningitis：3例、cerebrovascular diseases：3例、acute confusional state：2例、psychosis：2例、movement disorder：2例、myelopathy：1例、mood disorder：1例（重複あり）であった。また6例で臨床的にステロイド精神病と診断されていた。

まずRNA-IPPで測定したCSF-抗U1RNP抗体陽性12例と、陰性18例を比較したところ、陽性例でCSF中のIFN- α 、IP-10、MCP-1、MIG、RANTES、fractalkineが高い傾向を認めた（図1）。次に原疾患によるNPSLEと診断された24症例（CSF-抗U1RNP抗体陽性率=46%）とステロイド精神病と診断された6症例（同17%）とを比較すると、MCP-1が前者で高値であった（281 vs. 151 pg/mL、 $p < 0.05$ ）（図2）。

NPSLEには多くの病態があり、それらによりケモカインの関与が異なる可能性を考え、比較的高頻度であったcognitive dysfunctionの5症例（CSF-抗U1RNP抗体陽性率=60%）とステロイド精神病6症例（同17%）で比較した（図3）。その結果、前者でfractalkineが有意に高く（15.2 vs. 9.0 pg/mL、 $p < 0.05$ ）、MCP-1も高い傾向を認めた。

D. 考察

われわれは、抗U1RNP抗体陽性SLE/MCTD患者でCNS症状を呈した場合、CSF中の抗U1RNP抗体測定はCNS症状と原疾患との関連や活動性を知る上で有用で、CSF中の抗U1RNP抗体は血液脳関門透過性の亢進のみによるのではなくCNS局所でその産生が刺激されている可能性があることを2008年度の本学会で報告した。しかしそのCSF-抗U1RNP抗体の病因的意義は明らかでなかった。そこで今回、NPSLEに関連する液性因子として報告されているサイトカインやケモカインに注目した。特に、CSF中で測定されたIFN- α （Shiozawa S, *et al*, *Arthritis Rheum*, 1992）、IL-8（Fragoso-Loyo H, *et al*, *Arthritis Rheum*, 2007）、IP-10（Okamoto H, *et al*, *Arthritis Rheum*, 2004）、MCP-1（Iikuni N, *et al*, *Ann Rheum Dis*, 2006）、MIG（Fragoso-Loyo H, *et al*, *Arthritis Rheum*, 2007）、RANTES（Fragoso-Loyo H, *et al*, *Arthritis Rheum*, 2007）、fractalkine（Sato E, *et al*, *Ann Rheum Dis*, 2006）

が、NPSLE患者では有意に高いとされている。今回は測定する液性因子としてこれらを選択した。

本研究の成績から、CSF-抗U1RNP抗体陽性とIFN- α や多くのケモカインが関連する可能性が考えられた。なおNPSLEではないが、cognitive dysfunctionや早期のアルツハイマー病とCSF中のIP-10、MCP-1、IL-8が関連するとされているが（Galimberti D, *et al*, *Arch Neurol*, 2006）、血清-抗U1RNP抗体陽性cognitive dysfunction（NPSLE）では、MCP-1とともにfractalkineが関与する可能性がある。本研究では、CSF-抗U1RNP抗体の出現とIL-8に差がみられなかった。数多くの報告でCSF IL-8はNPSLEと関連するとされている（Trysberg E, *et al*, *Lupus*, 2000など）ため結果の乖離があるが、IL-8と相関がないことがむしろ抗U1RNP抗体陽性NPSLEの特徴かもしれない。

*in vitro*において、抗U1RNP抗体が形成する免疫複合体は、I型インターフェロンであるIFN- α のinducerとして注目されている（Savarese E, *et al*, *Blood*, 2006, Ehlers M, *et al*, *Trend Immunol*, 2006）。われわれがRNA-IPPで検出したCSF-抗U1RNP抗体（およびその免疫複合体）が髄腔内でいかなる細胞に作用し、IFN- α やケモカインを誘導するかは今後の課題である。しかし最近、NPSLE患者のCSFから精製されたIgGと、ヒト細胞核成分を混合して作成した免疫複合体により、ヒトPBMCからIFN- α 、IL-8、IP-10、MCP-1の分泌が刺激されることが示されている（Santer DM, *et al*, *J Immunol*, 2009）。この報告ではCSF中の抗核抗体の測定はされていないが、培養上清にRNaseを加えることでIFN- α の産生刺激が阻害されているため、抗U1RNP抗体や抗SS-A抗体などRNA-binding proteinに対する自己抗体が液性因子の産生に関与している可能性がある。

われわれの検討ではCSF-抗SS-A抗体とNPSLEとの関連は明らかでなかった。しかし抗SS-A抗体も同じ抗RNA-binding protein抗体であり、ケモカインとの相関が抗SS-A抗体とは認められないのかどうかは定かではない。今後、CSF-抗U1RNP抗体の病因的意義をより明確にするため、CSF中の他の抗核抗体とケモカインとの相関をしらべる必要がある。

E. 結論

CSF-抗 U1RNP 抗体は CSF 中の MCP-1 や fractalkine などのケモカインと相関する。しかし NPSLE の病態は多彩で、また臨床的にステロイド精神病（やその他の要因）との鑑別がきわめて難しい（あるいは混在する）症例が少なからず存在する。今後さらに検討症例数を増やし、均一の病態に対する CSF-抗 U1RNP 抗体の臨床的意義を明確にしたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Takeshi Sato, Takao Fujii, Tomoko Yokoyama, Yoshimasa Fujita, Yoshitaka Imura, Naoichiro Yukawa, Daisuke Kawabata, Takaki Nojima, Koichiro Ohmura, Takashi Usui, and Tsuneyo Mimori. Anti-U1 RNP

antibodies in cerebrospinal fluid are associated with central neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 3730-3740, 2010.

2. 学会発表

2) Naoichiro Yukawa, Takao Fujii, Daisuke Kawabata, Takaki Nojima, Koichiro Ohmura, Takashi Usui, and Tsuneyo Mimori. Correlation of antinuclear antibodies and anti-DNA antibodies with clinical response to infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *EULAR* 2010, Rome, Italy.

H. 知的財産権の出現・登録状況

なし

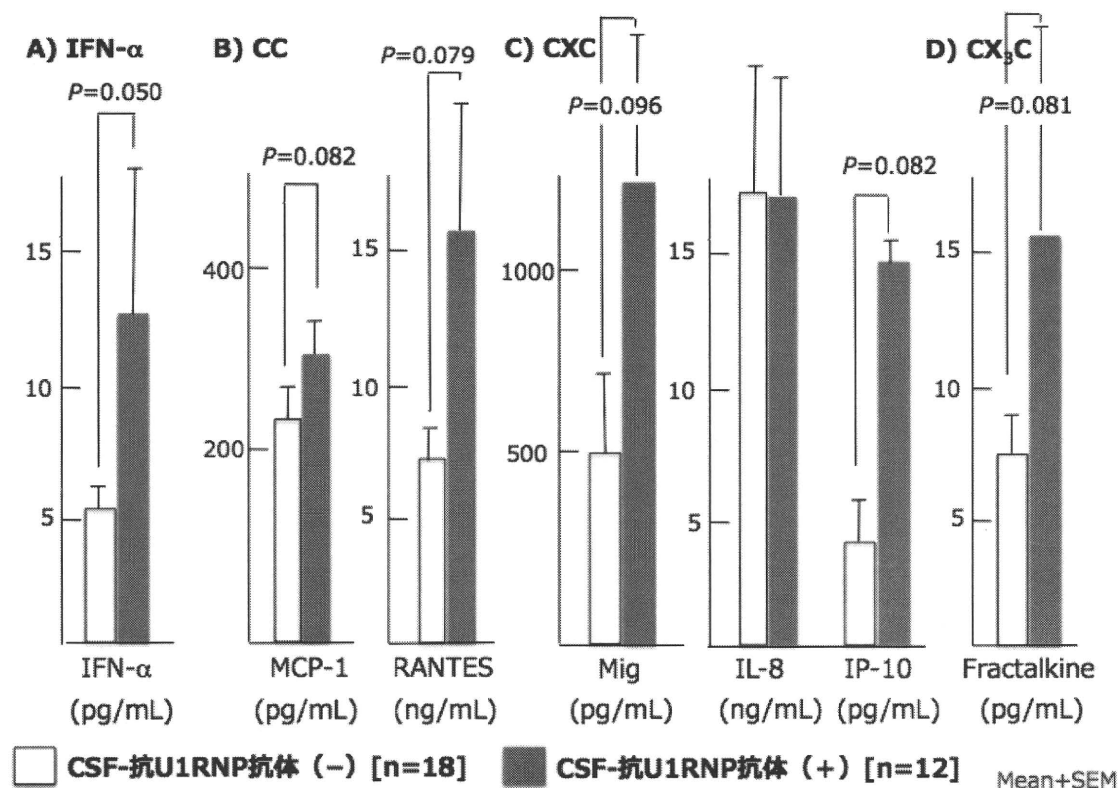


図 1. CSF-抗 U1RNP 抗体と CSF 中の液性因子

いずれも有意差は認めなかったが、RNA-免疫沈降法で検出した CSF-抗 U1RNP 抗体陽性患者で CSF 中 IFN- α や多くのケモカインが高い傾向を示した。しかし IL-8 は差が認められなかった。