

- 2008; 13: 863-70.
- 5 Chiquet-Ehrismann R. Tenascins. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 986-90.
 - 6 Ogawa K, Ito M, Takeuchi K et al. Tenascin-C is up-regulated in the skin lesions of patients with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2005; 40: 35-41.
 - 7 Burchardt ER, Hein R, Bosserhoff AK et al. Laminin, hyaluronan, tenascin-C and type VI collagen levels in sera from patients with malignant melanoma. *Clin Exp Dermatol* 2003; 28: 515-20.
 - 8 Brinckmann J, Hunzelmann N, Kahle B et al. Enhanced fibrillin-2 expression is a general feature of wound healing and sclerosis: potential alteration of cell attachment and storage of TGF- β . *Lab Invest* 2010; 90: 739-52.
 - 9 Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581-90.
 - 10 Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
 - 11 LeRoy E, Black C, Fleischmajer R et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15: 202-5.
 - 12 Ihn H, Sato S, Tamaki T et al. Clinical evaluation of scleroderma spectrum disorders using a points system. *Arch Dermatol Res* 1992; 284: 391-5.
 - 13 Mizutani H, Taniguchi H, Sakakura T et al. Nodular scleroderma: focally increased tenascin expression differing from that in the surrounding scleroderma skin. *J Dermatol* 1995; 22: 267-71.
 - 14 Varga J, Rudnicka L, Uitto J et al. Connective tissue alterations in systemic sclerosis. *Clin Dermatol* 1994; 12: 387-96.
 - 15 Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med* 1975; 292: 344-7.
 - 16 Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N Engl J Med* 1975; 292: 403-7.
 - 17 Hisatomi K, Sakamoto N, Mukae H et al. Elevated levels of tenascin-C in patients with cryptogenic organizing pneumonia. *Intern Med* 2009; 48: 1501-7.
 - 18 Korn, JH. Immunologic aspects of scleroderma. *Curr Opin Rheumatol*.1989; 1: 479-84.
 - 19 Mauch C, Krieg T. Fibroblast-matrix interactions and their role in the pathogenesis of fibrosis. *Rheum Dis Clin North Am*. 1990; 16: 93-107.
 - 20 Yamane K, Ihn H, Asano Y et al. Clinical and laboratory features of scleroderma patients with pulmonary hypertension. *Rheumatology* 2000; 39: 1269-71.
 - 21 Lacour JP, Vitetta A, Chiquet-Ehrismann R et al. Increased expression of tenascin in the dermis in scleroderma. *Br J Dermatol* 1992; 127: 328-34.

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

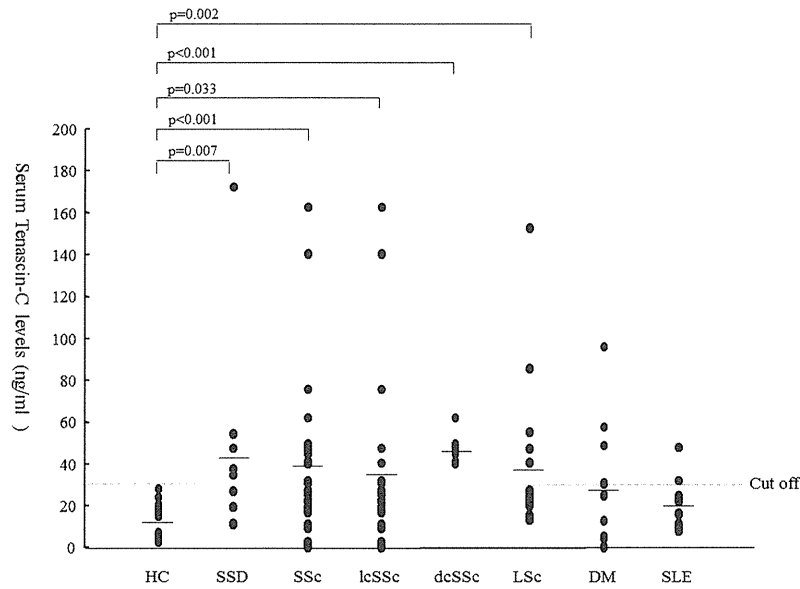


図1：ELISAで測定した scleroderma spectrum disorder (SSD、n=10)、全身性強皮症 (SSc、n=33)、限局性強皮症 (LSc、n=15)、皮膚筋炎 (DM、n=12)、全身性エリテマトーデス (SLE、n=10)、健常人 (HC、n=15) の血清 tenascin-C 濃度を示す。点線はカットオフ値、バーは平均値を示す。P 値は Mann-Whitney test で算出した。dcSSc, diffuse cutaneous SSc; lcSSc, limited cutaneous SSc.

表1. SSc患者における血清 tenascin-C 濃度と臨床症状および血液所見の相関

Clinical and serological Features	Patients with elevated tenascin-C levels (n=20)	Patients with normal tenascin-C levels (n=13)
Age at onset (years)	58.4	61.5
Duration of disease (years)	4.3	6.6
Type (diffuse/limited)	14 : 6**	0 : 13
MRSS	16.9**	2.8
Clinical features		
Pitting scars/ ulcers	66.7*	16.7
Nailfold bleeding	44.4	0.0
Raynoud's phenomenon	94.1	92.3
Telangiectasia	17.6	18.1
Contracture of phalanges	92.3	100
Calcinosis	0.0	0
Diffuse pigmentation	53.8*	0
Short SF	92.3	71.4
Sicca symptoms	35.7	85.7
Organ involvement		
Pulmonary fibrosis	52.9*	7.7
Mean %VC	94.6	101.4
Mean %DLCO	83.6	82.9
Elevated RVSP (>30 mmHg)	36.8	8.3
Oesophagus	29.4	16.7
Heart	31.6	25
Kidney	0	0
Joint	44.4	66.7
Thrombosis	0	0
ANA specificity		
Antitopo I	41.2	63.6
Anticentromere	47.1	18.2
Anti-U1 RNP	17.6	18.2

特に記載のない数値は、パーセンテージを表す。

MRSS, modified Rodnan total skin thickness score; SF, short sublingual frenulum; VC, vital capacity; DLco, diffusion capacity for carbon monooxidase; RVSP, Right ventricular systolic pressure; ANA, 抗核抗体
tenascin-C 上昇群と非上昇群間の比較は、Fisher の正確確立検定もしくは Mann-whitney test を用いて行った。

全身性強皮症における FGF19 subfamily 測定に意義に関する検討

研究分担者 遠藤平仁 東邦大学医学部医学科内科学講座膠原病分野 准教授

協力者 楠 芳恵 東邦大学医学部医学科内科学講座膠原病分野 助教

協力者 川合眞一 東邦大学医学部医学科内科学講座膠原病分野 教授

研究要旨

全身性強皮症 SSc35 例の血清中 Fibroblast Growth Factor: FGF19superfamily FGF19, FGF21, FGF23 そして可溶性受容体分子 soluble α Klotho を測定した。FGF19 は SSc 患者 140.9 ± 92.6 pg/ml、健常人 211.3 ± 78.8 pg/ml と有意に SSc 患者では低値を示した。また消化管重症度分類に並行して低値を示した。特に中心静脈栄養を必要とする重症 Grade IV では 8.8 ± 13.9 pg/ml と極めて低い値を呈した。食後の上昇はなく日内変動は認めなかった、SSc 消化管病変の重症度の評価に有用な検査であると考えられた。また FGF21 は GI 合併症例では高く脂肪吸収障害に対する反応性に肝臓からの誘導が示唆された。また FGF23 は腎障害例で高い。一方可溶性受容体 α Klotho は健常人より低く特に皮膚硬化の程度、年齢、腎機能障害と関連し低値を呈していた。

A. 研究目的

全身性強皮症 (SSc) は消化管病変や腎機能障害など多様な臓器合併症を示している。血清学的に線維化による臓器病変を評価する血清学的指標はない。

Fibroblast Growth Factor (FGF) 19superfamily は FGF サブタイプの中で唯一消化管ホルモンとしての作用を有し FGF19 は回腸から産生され肝細胞から胆汁合成を制御する作用を示し作用が欠損した場合 Bile acid diarrhea syndrome を惹起する¹⁾。また FGF21 は肝臓から産生されるが脂質代謝に関係している²⁾。FGF23 は骨から産生されリン代謝に関係し腎臓の尿細管細胞に存在する受容体 α Klotho に作用しリンの再吸収を阻害しまたビタミン D の活性化を抑制する³⁾。 α Klotho は細胞膜より Shedding され血中に測定できる⁴⁾。血清 FGF23 測定値は Klotho 測定値と逆相関を示し、血清 FGF23 測定は慢性腎臓病 (CKD) の早期診断に有用であることが報告されている⁵⁾。しかし可溶性 α Klotho の臨床的意義についてはいまだに不明な点が多い。SSc は臨床像と

FGF19superfamily (Klotho family) の関連性及び各 FGF19、21、23、 α Klotho の相互関係について検討することを目的とした。

B. 研究方法

対象は SSc 35 例 (男/女: 5/30) 平均 60.1 ± 15.4 歳 (29 歳~84 歳) 平均罹病期間 8.9 ± 6.3 年、Diffuse 型 16、Limited 型 19 例、平均 modified Rodnan Total Skin Score 12.2 ± 8.4 を対象として FGF19、FGF21、FGF23、 α Klotho 値を ELISA Kit (R&D system, CA)、FGF21 ELISA Kit (R&D system, CA)、FGF23 (BML, Tokyo)、 α Klotho ELISA Kit (Kaynos, Tokyo) を用いて測定した。また臨床像、BMI、検査所見、腎機能 eGFR、自己抗体との各血清 FGF19superfamily subtype との関係が多変量解析をおこなった。

C. 結果

健常人 16 例 (女性平均年齢 49 ± 18 歳) の FGF19 値は 211.3 ± 78.8 pg/ml、SSc の平均値は 140.9 ± 92.6

pg/ml と有意に低値であった。また腸管病変の重症度分類と並行して測定値は低下を示した。また日内変動が消失していた。また以上より SSc の消化管病変による吸収不良を含む重症度の指標として ^{13}C -脂肪酸吸収呼吸気試験を測定し得た 11 例の 8 時間累積 $^{13}\text{CO}_2$ 回収率を測定し血清 FGF19 値は正の相関を示していた。以上より脂肪吸収の制御の障害が SSc の消化管障害の主なる病態であり血清 FGF-19 測定値の測定はその推測に有用であった。多変量解析において下部消化管腸管病変の障害が関連性を認めた。

また FGF21 は腸管合併症例が非合併症例より高値を呈していた。一方 FGF23 は SSc 例では低く特に CKD 合併症例は非合併症例より高値を呈していた。 αKlotho 値は健常人の値より低かった。多変量解析において血清 αKlotho 測定値は年齢、MRSS、eGFR に逆相関を示した (表 1)。 αKlotho は dcSSc において健常人や LcSSc より低い値であった。また血清 FGF19、FGF21、FGF23 は相互に相関関係を認めなかった。一方 FGF23 は腎障害との関連が認められ腎機能低下に相関し上昇していた。

D. 考 察

SSc は呼吸器病変や腸管病変など多彩な臓器病変を合併する。しかし各臓器の病変形成機序は不明である。FGF19subfamily は FGF としては endocrine hormone としての作用を有する特異なサブグループを形成している¹⁾。また FGF19superfamily は加齢抑制遺伝子産物 Klotho を有し Klotho family とも称される。

FGF19 は腸管から分泌され肝細胞における bile acid 合成を制御する作用を有している。腸管病変の評価に有用な指標になると考えられる²⁾。一方他の FGF21 は脂肪代謝と関係するが腸管病変で上昇し

ていた⁴⁾。腸管病変を有している患者は抗生剤や腸管機能改善薬などの治療薬の投与がなされているが腸管機能は低下していると想定できた。FGF19 測定は SSc 腸管病変スクリーニングに有用な検査と考えられた。

FGF23 は急性、慢性腎不全の早期診断指標として近年精力的に検討されている。また受容体 αKlotho は逆相関し腎不全では低下することが報告されている。しかし SSc では相関せず αKlotho が低値を呈し特に dcSSc では極度に低く αKlotho が抗加齢遺伝子産物であり遺伝子欠損マウスでは異所性石灰化や皮膚萎縮など老化現象を呈する⁵⁾ ことから興味深い結果と考える。

E. 結 論

SSc 腸管病変は蠕動低下と腸内細菌の過剰増殖により吸収不良症候群を呈する。血清 FGF19 はその病態を定量的に評価しうる検査法であり、経過を追って治療薬の効果や治療方針の決定に非観血的に簡易に施行しうる指標と考えられた。また FGF23/ αKlotho システムは腎機能障害及び腎性骨粗鬆症のみならず SSc の皮膚硬化、臓器障害の形成に関与している可能性が示唆された。

F. 文 献

- ① Wu X, Li Y. Therapeutic utilities of fibroblast growth factor 19. *Expert Opin Ther Targets*. 2011; 15: 1307-16.
- ② Long YC, Kharitononkov A. Hormone-like fibroblast growth factors and metabolic regulation. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Jul; 1812: 791-5.
- ③ Walters JR, Pattni SS. Managing bile acid diarrhoea. *Therap Adv Gastroenterol*. 2010; 3: 349-57.
- ④ Yamazaki Y, Imura A, Urakawa I, Shimada T, Mura-

kami J, Aono Y, Hasegawa H, Yamashita T, Nakatani K, Saito Y, Okamoto N, Kurumatani N, Namba N, Kitaoka T, Ozono K, Sakai T, Hataya H, Ichikawa S, Imel EA, Econs MJ, Nabeshima Y. Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement: Age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Jul 30; 398(3): 513-8.

- ⑤ Kuro-o M. Klotho in health and disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.*; 21(4): 362-8. 2012
- ⑥ Shimamura Y, Hamada K, Inoue K, Ogata K, Ishihara M, Kagawa T, Inoue M, Fujimoto S, Ikebe M, Yuasa K, Yamanaka S, Sugiura T, Terada Y. Serum levels of soluble secreted α -Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis. *Clin Exp Nephrol.* 16: 722-9. 2012.

G. 研究発表

学会発表

- ① 山本竜大、遠藤平仁、川合眞一：¹³C 脂肪酸吸

収呼吸試験を用いた全身性強皮症に合併した腸管病変の評価；日本リウマチ学会、9月、2010.

- ② Yamamoto T, Endo H, Kawai S.: Quantitative analysis by ¹³C- absorption breath tests of Intestinal Involvement in patients with Systemic sclerosis, *ACR*, 11 2011.

論文発表

- ① Hashimoto A, Tejima S, Tono T, Suzuki M, Tanaka S, Matsui T, Tohma S, Endo H, Hirohata S. Predictors of survival and causes of death in Japanese patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2011; 38: 1931-9.
- ② Hashimoto A, Endo H, Kondo H, Hirohata S. Clinical features of 405 Japanese patients with systemic sclerosis. *Mod Rheumatol.* 2011.

H. 知的所有権の出願・登録状況

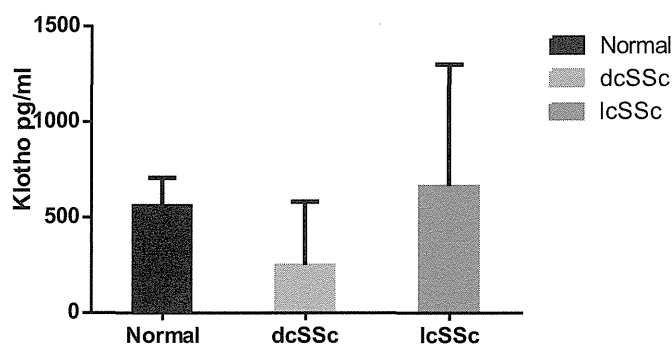
なし

表 1. 強皮症における血清 soluble α -Klotho と臨床所見の関連

Characteristic	aklotho						
	Univariate		R2	Multivariate (complex)		Multivariate (simplified)	
	β	p		β	p	β	p
				79.97		34.68	
Age	2.444	0.769	0.052	-0.068	0.65	-0.092	0.003
Female	1.423	-2.687	0.242	-0.187	0.977	-2.469	0.17
MRSS	-1.235	0.007	0.205	1.444	0.335	-2.135	0.001
eGFR	-0.426	0.245	0.052	-0.692	0.082	-0.137	0.071
Uric acid	-0.323	-0.245	0.042	-0.456	0.876	-3.258	0.002
R ²				0.85			

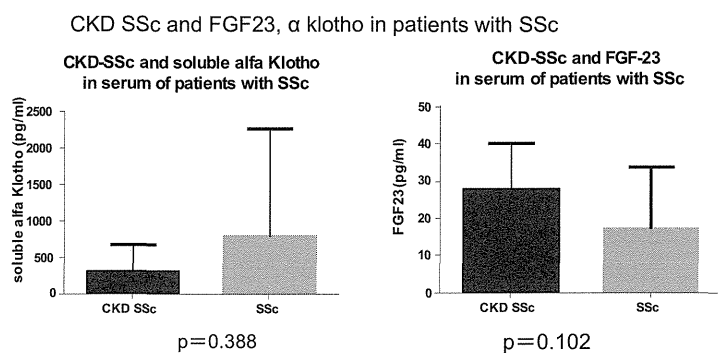
表2. 強皮症における血清 FGF23 と臨床所見の関連

Characteristic	FGF23						
	Univariate			Multivariate (complex)		Multivariate (simplified)	
	β	p	R ²	β	p	β	p
Age	1.876	0.178	0.067	0.024	0.085	-0.035	0.179
Female	3.491	0.031	0.137	5.131	0.288	4.372	0.001
Lung eGFR	-1.234	0.109	0.906	-1.981	0.52	-1.449	0.096
Uric acid	-0.149	0.024	0.151	-0.086	0.816	3.876	0.046
antiScl70ab	3.284	0.002	0.346	3.345	0.104	3.845	0.001
R ²	1.876	0	0.068	0.259	0.945	-2.32	0.057
				0.873		0.652	



Normal data (239-1366pg/ml) $P=0.042$
 mean age 61
 143 healthy volunteers
 Yamazaki et al.BBRC,513-518,2010(文献4)

図1：強皮症における α Klotho と皮膚硬化との関係
 $P=0.042$ (Kruskal-Wallis test with post hoc test)



CKD : eGFR <60/min/1.73m² or Proteinuria

図2：強皮症における CKD 合併症例と SSc
 Mann-Whitney U-test

日本人全身性強皮症患者における *IL-12RB2* 遺伝子多型の検討

研究分担者 川口鎮司 東京女子医科大学リウマチ科・膠原病学 臨床教授
協力者 大田ゆう子 東京女子医科大学リウマチ科・膠原病学 医員
協力者 高木香恵 東京女子医科大学リウマチ科・膠原病学 助教

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。近年、STAT4、IRF5、CD247 といった種々の遺伝子が SSc の発症に関連があることが報告されている。今回我々は、日本人 SSc において、*IL-12RB2* 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 254 名を対象に、*IL-12RB2* 遺伝子の 3SNPs (rs1495965、rs924080、rs3790567) を検討した。SSc 患者において rs1495965 C allele の頻度は健常人に比べて有意に高い結果であった (P=0.008、odds ratio、1.37; 95% confidence interval、1.1-1.7)。白人において関連が認められた rs3790567 については、SSc との関連は認められなかった。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 C allele の頻度が有意に高い結果であった。以上の結果より、*IL-12RB2* 遺伝子は、日本人において、SSc の疾患感受性遺伝子であり、rs1495965 SNP の C 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、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^[1]。

近年、STAT4、IRF5、CD247 といった種々の遺伝子が SSc の発症に関連があることが報告されている^[2-4]。

IL-12 は IL-12 受容体に結合することにより IFN γ 産生を誘導し、helper T 細胞の Th1 分化を誘導する^[5]。さらに、IL-12 および IFN γ が自己免疫に関連していることが報告されている。IL-12 受容体は、IL-12R β 1 および IL-12R β 2 の 2 つのサブユニットからなる^[6]。IL-12 の細胞内へのシグナル伝達は、IL-12R β 1 に結合した Tyk2 と IL-12R β 2 に結合した Jak2 の活性化が必須である。IL-12 の結合により Tyk2 と Jak2 が活性化されると、IL-12R β 2 の細胞質領域のチロシンリン酸化と、それに引き続く STAT4

のリクルートが引き起こされる。IL-12R β 2 によりリクルートされた STAT4 はチロシンリン酸化を受け、STAT4/STAT4 ホモダイマーを形成した上で核内へと移行し、各種標的遺伝子の発現を誘導する。*IL-12RB2* 遺伝子は IL-12R β 2 をコードしており、*IL-12RB2* 遺伝子およびその上流における遺伝子多型が、乾癬、原発性胆汁性肝硬変、ベーチェット病、巨細胞性血管炎といった自己免疫疾患との関連が報告されている^[7-11]。

2012 年に Bossini-Castillo らは白人強皮症における *IL-12RB2* の遺伝子多型を報告した^[12]。今回我々は、日本人における全身性強皮症発症と *IL-12RB2* の遺伝子多型について検討した。

B. 研究方法

1) 対象患者

対象患者は SSc 患者 254 人、健常人 322 名である。全ての患者は日本人である。SSc 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 の年齢中央値は 56 歳、男性 21 人、女性 233 人、病型別では diffuse cutaneous SSc (dsSSc) が 145 人、limited cutaneous SSc (lcSSc) が 109 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)、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) を調べた。詳細は表 1 に記載した。

2) 遺伝子タイピング

IL-12RB2 遺伝子の 3SNPs (rs1495965、rs924080、rs3790567) を TaqMan SNP Genotyping Assay kit (Applied Biosystem) を用いて検討した。

3) 統計

各 SNP 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。(倫理面への配慮)

C. 研究結果

1) *IL-12RB2* 遺伝子の SNP と強皮症発症の関連 (表 2)

rs1495965 C allele の頻度は健常人で 0.38 であり、SSc 患者では 0.45 (P=0.008; odds ratio、1.37; 95% confidence interval、1.1-1.7) と有意に上昇していた。rs924080 および以前白人において相関が認められた rs3790567 については、有意差は認められなかった。

2) *IL12-RB2* 遺伝子の SNP 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 SSc と相関の認められた rs1495965 C/T

SNP と臨床症状の関連性を検討した。Bonferroni 補正を行い、Allele において dcSSc と ILD のみで有意な相関が認められた。

3) *IL12-RB2* 遺伝子の SNP と自己抗体の関連 (表 3)
rs1495965 の C allele の頻度は Topo I 有する SSc において有意に高かった (P=0.0024、odds ratio 1.66、95% CI 1.2-2.3)。

D. 考案

今回の研究で、我々は *IL-12RB2* 遺伝子の rs1495965 SNP が日本人 SSc において疾患感受性遺伝子となりうることを明らかにした。Bossini-Castillo らの報告では、rs3790567 において白人 SSc と関連が認められたが、今回の我々の検討では、同 SNP に関連性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 Bossini-Castillo 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、Bossini-Castillo らの研究対象はヨーロッパおよびアメリカの白人であることが考えられた。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^[13-15]、*IL-12RB2* 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。

さらに、我々は日本人 SSc と関連が認められた *IL-12RB2* 遺伝子 rs1495965 と臨床症状および自己抗体との関連について検討した。臨床症状の検討においては、Bonferroni 補正を行った結果 dcSSc、ILD、Topo I において C allele との有意な相関が認められた。一方、PAH や DU といった血管内皮障害を示唆する病態と rs1495965 C allele との相関は認められなかった。以上より、*IL-12RB2* 遺伝子 rs1495965 は SSc における線維化病変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。

SSc 患者の血清中および SSc-ILD 患者の BALF 液中の IL-12 濃度は上昇している^[16, 17]。また、IL-12 には抗線維化作用があることが知られており、IL-12 を産生するプラスミッドを組み込んだ tight skin mouse model では皮膚におけるコラーゲンの蓄積が抑制されたという報告がある^[18]。また、IL-12R シグナルは主に STAT4 を介することが知られている。STAT4 遺伝子多型についてはすでに SSc の疾患感受性遺伝子として知られており、IL-12R および STAT4 経路における遺伝子多型がなんらかの SSc の病態に影響を与えている可能性が考えられる。

今回の検討により *IL-12RB2* 遺伝子 rs1495965 SNP 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考えられた。

E. 結 論

日本人において *IL-12RB2* 遺伝子が全身性強皮症の疾患感受性遺伝子であり、線維化病変との関連が示唆された。

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. Rueda B, Broen J, Simeon C, Hesselstrand R, Diaz B, et al. The STAT4 gene influences the genetic predisposition to systemic sclerosis phenotype. Hum Mol Genet 2009; 18: 2071-7
3. Dieude P, Guedj M, Wipff J, Avouac J, Fajardy I, et al. Association between the IRF5 re2004640 functional polymorphism and systemic sclerosis: a new perspective for pulmonary fibrosis. Arthritis Rheum 2009; 60: 225-33
4. Radstake TR, Gorlova O, Rueda B, Martin JE, Alizadeh BZ, et al. Genome-wide association study of systemic sclerosis identifies CD247 as a new susceptibility locus. Nat Genet 2010; 42: 426-9
5. Paunovic V, Carroll HP, Paunovic V, Vandembroek K, and Gadina M. Signaling, inflammation and arthritis: cross signalings: the role of interleukin (IL) -12, -17, -23, and -27 in autoimmunity. Rheumatology 2008; 47: 771-6
6. Trinchieri G. Interleukin-12 and regulation of innate resistance and adaptive immunity. Nat Rev Immunol 2003; 3: 133-46
7. Liu Y, Helms C, Liao W, Zaba LC, Duan S, et al. A genome-wide association study of psoriasis and psoriatic arthritis identifies new disease loci. PLoS Genet 2008; 28: e1000041
8. Hirschfield GM, Liu X, Xu C, Lu Y, Xie G, et al. Primary biliary cirrhosis associated with HLA, IL-12A and IL-12RB2 variants. N Engl J Med 2009; 360: 2544-2555
9. Remmers EF, Cosan F, Kirino Y, Ombrello MJ, Abaci N, et al. Genome-wide association study identifies variants in the MHC class 1, IL-10, and IL-23R-IL-12RB2 regions associated with Behcet's disease. Nat Genet 2010; 42: 698-702
10. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, et al. Genome-wide association studies identify IL23R-IL-12RB2 and IL-10 as Behcet's disease susceptibility loci. Nat Genet 2010; 42: 703-706
11. Rodriguez L, Carmona FD, Castaneda S, Miranda-Filloy JA, Morado IC, et al. Role of rs1343151

- IL23R and re3790567 IL12RB2 polymorphisms in biopsy-proven giant cell arteritis. *J Rheumatol* 2011; 38: 889-892
12. Bossini-Castillo L, Martin JE, Broen J, Gorlova O, Simeon CP, et al. A GWAS follow-up study reveals the association of the IL12RB2 gene with systemic sclerosis in Caucasian populations. *Hum Mol Genet* 2012; 21: 926-933
 13. 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.
 14. 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.
 15. 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.
 16. Sato S, Hanakawa H, Hasegawa M, Nagaoka T, Hamaguchi Y, et al. Levels of interleukin 12, a cytokine of type 1 helper T cells, are elevated in sera from patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2000; 27: 2838-42
 17. Meloni F, Caporali R, Marone Bianco A, Paschetto E, Morosini M, et al. BAL cytokine profile in different interstitial lung diseases: a focus on systemic sclerosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis* 2004; 21: 111-8
 18. Tsuji-Yamada J, Nakazawa M, Takahashi K, Iijima K, Hattori S, et al. Effect of IL-12 encoding plasmid administration on tight-skin mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 707-12

G. 研究発表

日本リウマチ学会（2013）にて発表予定。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

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

	SSc	HC
Numbers	254	322
Age		
median (range), years	56 (20-87)	35 (20-74)
Gender		
Female : Male	233 : 21	306 : 16
Disease subsets		
Limited : Diffuse	109 : 145	
Clinical features		
ILD, no (%)	150 (59)	
PAH, no (%)	33 (13)	
DU, no (%)	51 (20)	
Autoantibodies		
ANA, no (%)	247 (97)	ND
Topo I, no (%)	93 (37)	ND
CENP, no (%)	56 (22)	ND

SSc, systemic sclerosis; HC, healthy controls; ILD, interstitial lung disease; PAH, pulmonary arterial hypertension; DU, digital ulcer; ANA, anti-nuclear antibody; Topo I, anti-topoisomerase I antibody; CENP, anti-centromere antibody;

表 2. Distribution of alleles and genotypes of the single nucleotide polymorphism at IL12RB2.

SNP	1/2	HC			MAF	SSc			MAF	OR	95%CI	P
		1/1 (n)	1/2 (n)	2/2 (n)		1/1 (n)	1/2 (n)	2/2 (n)				
rs1495965	C/T	0.15 (49)	0.45 (144)	0.40 (129)	0.38	0.18 (47)	0.54 (136)	0.28 (71)	0.45	1.37	1.1-1.7	0.008
rs924080	C/T	0.13 (42)	0.47 (151)	0.40 (129)	0.36	0.08 (21)	0.43 (108)	0.49 (125)	0.30	0.73	0.6-1.0	0.013
rs3790567	A/G	0.07 (21)	0.32 (105)	0.61 (196)	0.23	0.04 (11)	0.34 (85)	0.62 (158)	0.21	0.9	0.7-1.2	0.47

SSc, systemic sclerosis; HC, healthy controls; MAF, minor allele frequency; OR, odds ratio; CI, confidence interval; 1/2, minor allele/major allele;

表 3. Association of the single nucleotide polymorphism at rs1495965 with clinical features and autoantibodies.

Variable	No	rs1495965							
		Allele, n (%)			OR (95% CI)	Genotype, n (%)			P
		C	T	P		CC	CT	TT	
dcSSc	145	138 (48)	152 (52)	0.0039	1.51 (1.1-2.0)	30 (21)	78 (54)	37 (25)	0.0076
lcSSc	109	92 (42)	126 (58)	0.23	1.21 (0.9-1.7)	17 (15)	59 (54)	34 (31)	0.20
ILD	150	141 (47)	159 (53)	0.0060	1.47 (1.1-1.9)	32 (21)	77 (51)	41 (27)	0.019
PAH	33	36 (55)	30 (45)	0.0072	1.99 (1.2-3.3)	9 (27)	18 (55)	6 (18)	0.021
DU	51	52 (51)	50 (49)	0.010	1.73 (1.1-2.6)	13 (25)	26 (51)	12 (24)	0.039
Topo I	93	93 (50)	93 (50)	0.0024	1.66 (1.2-2.3)	25 (27)	43 (46)	25 (27)	0.013
CENP	56	47 (42)	65 (58)	0.38	1.20 (0.8-1.8)	10 (18)	27 (48)	19 (34)	0.67
HC	322	242 (38)	402 (62)			49 (15)	144 (45)	129 (40)	

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

CI, confidence interval; dcSSc, diffuse cutaneous systemic sclerosis; DU, digital ulcer; HC, healthy controls; ILD, interstitial lung disease; lcSSc, limited cutaneous systemic sclerosis; OR, odds ratio; PAH, pulmonary arterial hypertension

全身性強皮症と *NLRP3* 遺伝子多型の関連研究

研究協力者	土屋尚之	筑波大学医学医療系分子遺伝疫学 教授
協力者	青木真志	筑波大学医学医療系分子遺伝疫学 大学院生
協力者	川崎 綾	筑波大学医学医療系分子遺伝疫学 研究員
研究協力者	長谷川稔	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学 講師
研究分担者	藤本 学	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学 准教授
協力者	古川 宏	国立病院機構相模原病院臨床研究センター 室長
協力者	當間重人	国立病院機構相模原病院臨床研究センター 部長
協力者	住田孝之	筑波大学医学医療系内科膠原病・リウマチ・アレルギー 教授
研究代表者	佐藤伸一	東京大学医学部附属病院皮膚科 教授
研究分担者	川口鎮司	東京女子医科大学リウマチ科・膠原病学 臨床教授
協力者	竹原和彦	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学 教授

研究要旨

NLRP3 (*NLR family, pyrin domain containing 3*) は inflammasome の主たる構成要素であるとともに、全身性強皮症をはじめとする膠原病の環境因子として確立しているシリカに応答する分子である。本研究では、*NLRP3* を候補遺伝子として、全身性強皮症との関連を検討した。我々自身の先行研究により全身性エリテマトーデスとの関連が示唆された2個所の単一塩基多型 (rs4925650, rs1539019) と日本人全身性強皮症426例、健常対照群912例の関連を検討したところ、rs4925650A アリル保有者が、抗セントロメア抗体陽性強皮症群において、オッズ比0.66 (95%信頼区間0.45-0.98)、 $P=0.038$ で有意に減少していることが検出された。

A. 研究目的

NLRP3 (*NLR family, pyrin domain containing 3*, *NALP3*) は、inflammasome の主要構成要素であり、PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) などの病原微生物や、尿酸、ATP などの DAMPs (damage-associated molecular patterns)、さらには、シリカ、アスベスト、コレステロール結晶などにより活性化し、caspase-1 活性化を誘導し、pro IL-1 β 、pro IL-18 を切断し、IL-1、IL-18 として細胞外に放出するとともに、pyroptosis による細胞死を誘導する。

また、*NLRP3* 活性化を誘導する物質の一つであるシリカは、全身性強皮症 (systemic sclerosis, SSc)、ANCA 関連血管炎をはじめとする各種膠原病にお

いて確立した環境因子である。

以上の背景により、我々は、*NLRP3* 多型が全身性強皮症をはじめとする膠原病の疾患感受性に関連する可能性を考えた。*NLRP3* の稀な変異は、単一遺伝子疾患である自己炎症性症候群 cryopyrin-associated periodic syndrome (CAPS) の原因となること、*NLRP3* 多型が、Crohn 病、アスピリン喘息、食物アレルギーなどの疾患と関連することがこれまでに報告されているが、膠原病との関連に関する報告はほとんどない。

本研究では、我々の先行研究により、全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus, SLE) との関連が示唆された (青木ら、第56回日本リウ

マチ学会) 2 個所の単一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) と日本人 SSc との関連を検討した。

B. 研究方法

First set では、金沢大学皮膚科、国立病院機構相模原病院通院中の SSc 患者 178 例と、金沢大学、筑波大学、国立病院機構相模原病院にて研究参加の同意を得た健常対照群 663 例を対象とした。Second set では、東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター通院中の SSc 248 例、ヒューマンサイエンス研究資源バンクより分譲を受けた健常者 DNA 249 例を対象とし、ケース・コントロール関連解析を行った。

TaqMan SNP genotyping assay により rs4925650, rs1539019 の遺伝子型を決定し、関連研究を施行した。有意水準は 0.05 とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、筑波大学、東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター、金沢大学、国立病院機構相模原病院における倫理委員会において審議され、承認を受けた研究計画に従い、遺伝子解析に関する参加者のインフォームドコンセントを得、匿名化した試料を用いて施行されたため、研究の施行に倫理面の問題はないと判断された。

C. 研究結果

First set において、抗セントロメア抗体陽性群における rs4925650A アリル保有者の減少傾向が観察された (A アリル優性モデル、オッズ比 [odds ratio, OR] 0.64、95% 信頼区間 [confidence interval, CI] 0.39-1.05、 $P=0.078$) (表 1)。この傾向は、Second set においても同様に観察された (OR 0.70、95%CI 0.35-1.39、 $P=0.305$) (表 2)。First set と second set には均質性が確認されたため、両者を統合して解析した

ところ、この関連は統計学的有意差に到達した (OR 0.66、95%CI 0.45-0.98、 $P=0.038$) (表 3)。

一方、rs1539019 では関連は検出されなかった (表 4)。

D. 考案

本研究において関連が観察された rs4925650 は、イントロンに位置し、これまでに、A アリルが NLRP3 発現上昇に関連し、食物アナフィラキシー患者に増加していることが、日本人集団において報告されている⁽¹⁾。本研究では、この報告と逆に、G/G アリルが抗セントロメア抗体陽性 SSc 群に増加していることが観察された。

この関連の機序については推測の域を出ないが、NLRP3 により活性化を受ける caspase-1 により切断され、活性型として分泌される IL-1 β 、IL-18 とは逆に、IL-33 では、caspase-1 による切断により不活化されるとの報告がある⁽²⁾。

IL-33 は線維化に促進的に作用し⁽³⁾、SSc 患者血清においても増加しているとの報告がある⁽⁴⁾。従って、rs4925650 遺伝子型による NLRP3 発現低下が IL-33 の活性上昇に結びつき、線維化等に促進的に作用する可能性も考えられる。

今後、NLRP3 のほかの tag SNP も含めた検討を行い、SSc における NLRP3 の役割を包括的に検討する必要と考えられる。

E. 結論

抗セントロメア抗体陽性 SSc 群において、NLRP3 rs4925650G/G 遺伝子型の有意な増加が検出された。

F. 文献

1. Hitomi Y et al.: Associations of functional NLRP3 polymorphisms with susceptibility to food-induced

anaphylaxis and aspirin induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 779-85.

2. Cayrol C, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 9021-6.
3. Rankin AL, et al. IL-33 induces IL-13-dependent cutaneous fibrosis. *J Immunol* 2010; 184: 1526-35.
4. Yanaba K, et al. Serum IL-33 levels are raised in patients with systemic sclerosis: association with extent of skin sclerosis and severity of pulmonary fibrosis. *Clin Rheumatol* 2011; 30: 825-30

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hasebe N, Kawasaki A, Ito I, Kawamoto M, Hasegawa M, Fujimoto M, Furukawa H, Tohma S, Sumida T, Takehara K, Sato S, Kawaguchi Y, Tsuchiya N. Association of *UBE2L3* polymorphisms with diffuse cutaneous systemic sclerosis in a Japanese population. *Ann Rheum Dis* 2012; 71(7): 1259-1260.
2. Terao C, Ohmura K, Kawaguchi Y, Nishimoto T, Kawasaki A, Takehara K, Furukawa H, Kochi Y, Ota Y, Ikari K, Sato S, Tohma S, Yamada R, Yamamoto K, Kubo M, Yamanaka H, Kuwana M, Tsuchiya N, Matsuda F, Mimori T. *PLD4* as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum* in press.

2. 学会発表

1. 土屋尚之：膠原病の候補遺伝子解析（シンポジウム指定演者）。第56回日本リウマチ学会総会・学術集会。平成24年4月27日、東京。
2. 長谷部成美、川崎綾、伊東郁恵、川本学、長谷川稔、藤本学、古川宏、當間重人、住田孝之、

竹原和彦、佐藤伸一、川口鎮司、土屋尚之：全身性強皮症と *UBE2L3* 遺伝子多型の関連。第56回日本リウマチ学会総会・学術集会。平成24年4月28日、東京。

3. 青木真志、川崎綾、古川宏、近藤裕也、伊藤聡、林太智、草生真規雄、瀬戸口京吾、永井立夫、河野肇、松本功、廣畑俊成、當間重人、高崎芳成、橋本博史、住田孝之、土屋尚之：*NLRP3* 多型と全身性エリテマトーデスとの関連。第56回日本リウマチ学会総会・学術集会。平成24年4月27日、東京。
4. 土屋尚之：膠原病のゲノム解析から明らかになったことと今後の課題。第7回長崎皮膚・膠原病フォーラム（特別講演）、平成24年6月14日、長崎。
5. 土屋尚之：膠原病のゲノム解析研究。第53回湘南免疫疾患カンファランス（特別講演）、平成24年6月23日、横浜。
6. 土屋尚之：リウマチ・膠原病のゲノム解析。都立駒込病院総合カンファランス（特別講演）、平成24年8月29日、東京。
7. 土屋尚之、青木真志、川崎綾、長谷川稔、藤本学、古川宏、當間重人、住田孝之、佐藤伸一、川口鎮司、竹原和彦：*NLRP3* (*NALP3*) 多型と全身性強皮症の関連研究。第16回強皮症研究会議。平成25年1月19日、東京。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他

表 1. 全身性強皮症と NLRP3 rs4925650 の関連 : First set

	遺伝子型頻度				A アリル頻度	A アリル優性モデル	
	A/A	A/G	G/G	Total		OR (95% CI)	P
SSc	51 (28.8)	78 (44.1)	48 (27.1)	177	50.8	1.30 (0.89-1.88)	0.169
dcSSc	21 (34.4)	26 (42.6)	14 (23.0)	61	55.7	1.21 (0.65-2.25)	0.545
lcSSc	30 (27.0)	48 (43.2)	33 (29.7)	111	48.7	0.85 (0.55-1.33)	0.480
ATA+	9 (22.5)	20 (50.0)	11 (27.5)	40	47.5	1.20 (0.73-1.97)	0.470
ACA+	22 (25.6)	33 (38.4)	31 (36.1)	86	44.8	0.64 (0.39-1.05)	0.078
ILD	13 (21.0)	34 (54.8)	15 (24.2)	62	48.4	0.90 (0.60-1.35)	0.604
健常対照群	157 (23.8)	328 (49.7)	175 (26.5)	660	48.6	referent	

遺伝子型頻度は n(%) で、アリル頻度は % で示す。

dcSSc: diffuse cutaneous SSc, lcSSc: limited cutaneous SSc, ATA: antitopoisomerase I antibody, ACA: anticentromere antibody, ILD: interstitial lung disease, OR: odds ratio, CI: confidence interval.

表 2~表 4 においても同様。

表 2. 全身性強皮症と NLRP3 rs4925650 の関連 : second set

	遺伝子型頻度				A アリル頻度	A アリル優性モデル	
	A/A	A/G	G/G	Total		OR (95% CI)	P
SSc	55 (22.5)	125 (51.0)	65 (26.5)	245	48.0	0.90 (0.60-1.35)	0.604
dcSSc	29 (20.6)	82 (58.2)	30 (21.3)	141	49.7	1.20 (0.73-1.97)	0.470
lcSSc	26 (27.0)	43 (43.2)	35 (29.7)	104	45.7	0.64 (0.39-1.05)	0.078
ATA+	19 (25.0)	46 (50.0)	20 (27.5)	85	49.4	1.05 (0.59-1.88)	0.857
ACA+	12 (27.3)	18 (40.9)	14 (31.8)	44	47.7	0.70 (0.35-1.39)	0.305
ILD	27 (20.0)	78 (57.8)	30 (22.2)	135	48.9	1.14 (0.69-1.87)	0.617
健常対照群	64 (25.7)	124 (49.8)	61 (24.5)	249	50.6	referent	

表 3. 全身性強皮症と NLRP3 rs4925650 の関連 : combined

	遺伝子型頻度				A アリル頻度	A アリル優性モデル	
	A/A	A/G	G/G	Total		OR (95% CI)	P
SSc	106 (25.1)	203 (48.1)	113 (26.8)	422	49.2	0.96 (0.74-1.25)	0.753
dcSSc	50 (24.8)	108 (53.5)	44 (21.8)	202	51.5	1.26 (0.87-1.81)	0.216
lcSSc	56 (26.1)	91 (42.3)	68 (31.6)	215	47.2	0.76 (0.55-1.05)	0.093
ATA+	28 (22.4)	66 (52.8)	31 (24.8)	125	48.8	1.06 (0.69-1.64)	0.781
ACA+	34 (26.2)	51 (39.2)	45 (34.6)	130	45.7	0.66 (0.45-0.98)	0.038
ILD	40 (20.3)	112 (56.9)	45 (22.8)	197	48.7	1.18 (0.82-1.70)	0.362
健常対照群	221 (24.3)	452 (49.7)	236 (26.0)	909	49.2	referent	

表 4. 全身性強皮症と NLRP3 r 1539019 の関連 : combined

	遺伝子型頻度				A アリル頻度	A アリル優性モデル	
	A/A	A/G	G/G	Total		OR (95% CI)	P
SSc	73 (17.1)	203 (47.7)	150 (35.2)	426	41.0	1.03 (0.87-1.22)	0.723
dcSSc	35 (17.2)	95 (46.8)	73 (36.0)	203	40.6	1.02 (0.82-1.27)	0.882
lcSSc	38 (17.5)	108 (49.8)	71 (32.7)	217	42.4	1.09 (0.88-1.35)	0.411
ATA+	18 (14.3)	60 (47.6)	48 (38.1)	126	38.1	0.91 (0.70-1.20)	0.514
ACA+	19 (14.5)	68 (51.9)	44 (33.6)	131	40.5	1.01 (0.77-1.31)	0.947
ILD	36 (18.0)	92 (46.0)	72 (36.0)	200	41.0	1.03 (0.83-1.29)	0.779
健常対照群	147 (16.1)	440 (48.3)	32 (35.6)	912	40.2	referent	

抗セントリオール抗体陽性全身性強皮症の臨床的特徴についての検討

研究分担者 藤本 学 金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学 准教授
協力者 濱口儒人 金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学 講師
研究協力者 長谷川稔 金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学 講師
協力者 竹原和彦 金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学 教授
研究代表者 佐藤伸一 東京大学医学部附属病院皮膚科 教授

研究要旨

全身性強皮症 (systemic sclerosis: SSc) では複数の疾患特異的自己抗体が検出され、それぞれの自己抗体は特徴的な臨床像と関連しているため、SSc 特異的自己抗体の同定は重要である。抗セントリオール抗体はセントリオール (中心体) に対する自己抗体で、これまでに 10 数例の報告があり、強皮症に比較的特異性が高いことが知られている。しかしながら、抗セントリオール抗体陽性患者の臨床的特徴について十分に明らかにされているとはいえない。そこで、本研究では抗セントリオール抗体陽性患者の臨床的特徴を明らかにすることを目的とした。1984 年から 2011 年までに金沢大学皮膚科を受診した SSc420 例、多発性筋炎/皮膚筋炎 149 例、間質性肺炎 123 例、全身性エリテマトーデス 38 例、重複症候群 10 例を対象とした。抗セントリオール抗体は SSc420 例中 5 例 (1%) に検出されたが、他の疾患では検出されなかった。抗セントリオール抗体陽性 SSc5 例は全例女性で、指端潰瘍あるいは指端壊疽を伴っていた。また、5 例中 4 例 (80%) で肺動脈性肺高血圧症を認めた。一方、活動性を有する間質性肺炎を合併していた症例はなく、強皮症腎クリーゼを発症した症例もなかった。以上の結果から、抗セントリオール抗体は SSc に特異性が高いこと、肺動脈性肺高血圧症と末梢循環障害の危険因子となり得ることが示唆された。

A. 研究目的

全身性強皮症 (systemic sclerosis: SSc) は皮膚のみならず全身の諸臓器に線維化をきたす疾患であり、抗核抗体が高率に検出されることから自己免疫疾患に位置づけられる¹。SSc では複数の疾患特異的自己抗体が検出されるが、これらの自己抗体と合併症や経過、予後は密接に関連しているため、SSc 特異的自己抗体の検出は重要である。代表的な SSc 特異的自己抗体として、抗トポイソメラーゼ I 抗体と抗セントロメア抗体の 2 つが知られており、それぞれびまん型 SSc (diffuse cutaneous SSc; dcSSc)、限局型 SSc (limited cutaneous SSc; lcSSc) と相関して

いる。その他の SSc 特異的自己抗体として、抗 RNA ポリメラーゼ抗体、抗 U3RNP 抗体、抗 Th/To 抗体などが知られている。

中心体 (セントリオール) は細胞分裂の際にみられる紡錘糸の形成に重要な役割を果たす細胞小器官である。中心体に対する自己抗体 (抗セントリオール抗体) は、1980 年に Brenner らによって初めて報告された²。その後、抗セントリオール抗体は SSc あるいはその早期病変に特異的に検出されることが報告された³⁻⁵。しかしながら、これまでの報告例は少数にとどまり、抗セントリオール抗体陽性 SSc 患者の臨床的特徴は明らかではない。

そこで今回われわれは、金沢大学皮膚科で経験した抗セントリオール抗体陽性 SSc 5 例について、その臨床的特徴について検討した。

B. 研究方法

1) 対象患者

対象患者は 1984 年から 2011 年までに当科を受診した SSc 患者 420 例で、抗トポイソメラーゼ I 抗体 128 例、抗セントロメア抗体 168 例、抗 RNA ポリメラーゼ抗体 11 例だった。149 例の多発性筋炎/皮膚筋炎、123 例の間質性肺炎、38 例の全身性エリテマトーデス、10 例の重複症候群を疾患コントロールとして用いた。

2) 抗セントリオール抗体の検出

抗セントリオール抗体はフルオロヘパキット® (MBL 社製) を用いて検出した。抗セントリオール抗体は、分裂期の紡錘体の両極に 1 つあるいは 2 つのドット状に染色される特徴的な染色像から判断した。

3) 臨床症状と検査成績の検討

抗セントリオール抗体が陽性だった 5 例 (抗セントリオール抗体陽性群) と、陰性だった 415 例 (抗セントリオール抗体陰性群) について、臨床症状や検査成績を比較した。

4) 統計学的検討

2 群間の比較には Mann-Whitney's U test あるいは χ 検定を用いた。有意水準を $p < 0.05$ とした。

C. 研究結果

1) 抗セントリオール抗体の頻度と臨床症状

対象とした SSc 患者 420 例の抗核抗体について HEp-2 細胞を用いた蛍光抗体間接法によりスクリーニングしたところ、抗セントリオール抗体は 5 例 (1%) に検出された。抗セントリオール抗体陽性

SSc 患者 5 例のまとめを表 1 に示す。5 例全てが女性で、レイノー症状と爪上皮出血点を有していた。スキンスコアは 0~26 点だった。SSc の病型分類では、2 例が lcSSc (患者 1 と 4)、2 例が limited SSc (lSSc) (患者 2 と 5)、1 例が dcSSc (患者 3) だった。1 例 (患者 3) で抗トポイソメラーゼ I 抗体、1 例 (患者 5) で MPO-ANCA が共存していた。3 例で間質性肺炎を認めたが、いずれも活動性はなく治療対象にはならなかった。一方、5 例中 4 例 (80%) で肺高血圧症を認めた。経過中に腎クリーゼを生じた症例はなかった。

2) 抗セントリオール抗体陽性群と陰性群における比較

次に、抗セントリオール抗体陽性群 (5 例) と陰性群 (415 例) の臨床症状について比較した (表 2)。抗体陽性群と陰性群で、発症年齢、性別、罹病期間、スキンスコアに有意差は認めなかった。末梢循環障害を反映する指尖陥凹性癬痕/肢端潰瘍の頻度は抗セントリオール群で有意に高率だった ($p = 0.0080$)。臓器病変では、抗セントリオール抗体陽性群は陰性群に比較し、高率に肺動脈性高血圧症を合併していた ($p < 0.0001$)。他の臓器症状に有意差は認めなかった。

D. 考案

これまでに報告された抗セントリオール抗体陽性例は少数にとどまるため、その臨床像は十分に解明されていない。本研究では、抗セントリオール抗体は SSc でのみ検出された。5 例の陽性患者の臨床診断は、lcSSc が 2 例、lSSc が 2 例、dcSSc が 1 例だった。1998 年に LeRoy らは lcSSc と dcSSc の病型分類を発表した⁶。この分類は SSc の病態を理解し合併症や予後を予測する上で有用な分類であるが、LeRoy と Medsger は早期の SSc 患者では lcSSc の基

準を満たさない症例があることに気づき、lcSScとdcSScの分類を補完することを目的に2001年に病型分類としてのISScを提案した⁷。ISScの診断基準では、レイノー症状を有した上で、強皮症に特徴的な爪上皮の毛細血管変化あるいは強皮症特異的自己抗体のどちらかあるいは両方を有することが診断の条件となっており、皮膚硬化は必須ではない。ISScがSScの早期病変であるかについては検討の余地があるが、SScの早期例では皮膚硬化が出現する前に医療機関を受診することがあり、それらの症例の一部は後にlcSScあるいはdcSScに進展することがあるため、ISScの概念を理解することは重要であると考えられる。本研究での症例2と5はどちらも皮膚硬化を有していなかったが、レイノー症状と爪上皮の毛細血管変化を有しており、LeRoyとMedsgerが提案するISScの診断基準を満たす。また、指尖潰瘍/壊疽はSScの代表的な皮膚症状であり、症例2と5をISScと診断することは妥当であると考えられた。

Brennerらが⁸1980年に初めて抗セントリオール抗体を報告して以来、これまでに10数例の報告がある。Moroiらは2例(1例は抗トポイソメラーゼI抗体が共存するdcSSc、もう1例はレイノー症状+関節症状)⁸、Tuffanelliらは4例(1例がlcSSc、2例がdcSSc、1例がレイノー症状+毛細血管拡張)⁴、Osbornらは1例のdcSSc⁹、Rattnerらは2例(1例はレイノー症状のみでもう1例は甲状腺機能低下症)¹⁰、Satoらはレイノー症状のみの1例⁵を報告している。これまでに報告された10例中5例(50%)がSScと診断されている。残りの5例中4例はレイノー症状を有していたものの皮膚硬化を認めなかったためSScとは診断されていないが、ISScの診断基準を満たす可能性はある。本研究でも抗セントリオール抗体が検出された5例は全例がSScであ

り、抗セントリオール抗体はSSc特異的自己抗体であることが示唆された。

本研究における最も重要な所見は、抗セントリオール抗体と肺動脈性肺高血圧症の相関である。肺動脈性肺高血圧症はSSc患者の予後を規定する重要な合併症であり、これまでの報告では抗セントロメア抗体、抗Th/To抗体、抗U3RNP抗体との関連が指摘されてきた¹¹。なかでも、抗セントロメア抗体はlcSSc、指尖潰瘍、食道病変と相関し、間質性肺炎と強皮症腎クリーゼとは逆相関する。本研究において、抗セントリオール抗体陽性SSc5例のうち、抗トポイソメラーゼI抗体が共存した1例はdcSScと診断された。しかし、残りの4例の皮膚硬化は四肢末端にとどまり、指尖潰瘍と肺動脈性肺高血圧症以外の重篤な内臓病変は伴っていなかった。これらの臨床的特徴は抗セントロメア抗体の臨床的特徴と類似している。抗セントロメア抗体と抗セントリオール抗体はともに細胞分裂に関わる核内抗原に対する自己抗体であり、共通の臨床的特徴を有していることは興味深い。

E. 結 論

抗セントリオール抗体はSScに特異性が高いことが示された。また、抗セントリオール抗体陽性SScでは皮膚潰瘍/壊疽と肺動脈性肺高血圧症の頻度が高く、重度の血管障害と相関している可能性があると考えられた。しかしながら、本研究でも陽性例は5例にとどまるため、抗セントリオール抗体陽性SSc患者における臨床的特徴を明らかにするためには、さらなる症例の蓄積が必要と考えられた。

F. 文 献

1. Hamaguchi Y, Hasegawa M, Fujimoto M, et al. The clinical relevance of serum antinuclear antibodies in

- Japanese patients with systemic sclerosis. *Br J Dermatol.* 2008; 158: 487-495.
2. Brenner S, Pepper DA, Turner DS, Boyd AE, Brinkley BR. Autoantibodies in human serum selectively bind to the centriole region in cultured cells. *J Cell Biol.* 1980; 87: MI240.
 3. Osborn TG, Patel NJ, Ross SC, Bauer NE. Antinuclear antibody staining only centrioles in a patient with scleroderma. *N Engl J Med.* 1982; 307: 253-254.
 4. Tuffanelli DL, McKeon F, Kleinsmith DM, Burnham TK, Kirschner M. Anticentromere and anticentriole antibodies in the scleroderma spectrum. *Arch Dermatol.* 1983; 119: 560-566.
 5. Sato S, Fujimoto M, Ihn H, Takehara K. Antibodies to centromere and centriole in scleroderma spectrum disorders. *Dermatology.* 1994; 189: 23-26.
 6. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets, and pathogenesis. *J Rheumatol.* 1988; 15: 202-205.
 7. LeRoy EC, Medsger TA, Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2001; 28: 1573-1576.
 8. Moroi Y, Murata I, Takeuchi A, Kamatani N, Tanimoto K, Yokohari R. Human anticentriole autoantibody in patients with scleroderma and Raynaud's phenomenon. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1983; 29: 381.
 9. Osborn TG, Patel NJ, Ross SC, Bauer NE. Osborn TG, Ryerse JS, Bauer NE, Urhahn JM, Blair D, Moore TL. Antinuclear antibody staining only centrioles in a patient with scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1986; 29: 142-146.
 10. Rattner JB, Martin L, Waisman DM, Johnstone SA, Fritzler MJ. Autoantibodies to the centrosome (centriole) react with determinants present in the glycolytic enzyme enolase. *J Immunol.* 1991; 146: 2341-2344.
 11. Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2005; 35: 35-42.

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の出願・登録状況

なし

表 1. 抗セントリオール抗体陽性患者の 5 例の臨床的特徴

	患者 1	患者 2	患者 3	患者 4	患者 5
発症年齢/受診時年齢 (歳)	31/46	44/54	50/63	43/44	20/48
SSc 病型分類	lcSSc	ISSc	dcSSc	lcSSc	ISSc
他の自己抗体	なし	なし	Topo I	なし	MPO-ANCA
Modified Rodnan TSS	5	0	26	2	0
レイノー症状	あり	あり	あり	あり	あり
爪上皮出血点	あり	あり	あり	あり	あり
指端潰瘍/壊疽	あり	あり	あり	あり	あり
手指屈曲拘縮	なし	なし	あり	なし	なし
肺線維症	なし	あり	あり	なし	あり
肺動脈性肺高血圧症	あり	あり	あり	なし	あり
食道病変	なし	なし	あり	あり	なし
心病変	あり	なし	あり	なし	なし
腎クラーゼ	なし	なし	なし	なし	なし

SSc, systemic sclerosis; lcSSc, limited cutaneous SSc; ISSc, limited SSc; dcSSc, diffuse cutaneous SSc; TopoI, anti-topoisomerase I antibody; TSS, total skin thickness score.

表 2. 抗セントリオール抗体陽性 SSc 患者と陰性 SSc 患者における臨床症状の比較

	抗セントリオール抗体陽性 (n=5)	抗セントリオール抗体陰性 (n=415)	P
発症年齢 (歳)、mean±SD	38±12	48±15	.0707
性別 (女性/男性)	5/0	355/60	.7829
罹病期間 (年)、mean±SD	14±10	7±9	.0552
Modified Rodnan TSS, mean±SD	7±11	10±10	.2077
皮膚病変			
指尖陥凹性癬痕/肢端潰瘍	100	33	.0080
手指屈曲拘縮	20	37	.7644
臓器病変			
肺線維症	60	41	.6759
肺動脈性肺高血圧症	80	3	<.0001
食道病変	40	45	.9410
心病変	40	12	.1849
腎病変	0	2	>.9999

* 特に記載のない限り数値は % を示す。TSS, total skin thickness score.