

201324033A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業

混合性結合組織病の病態解明、早期診断と治療法の確立  
に関する研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 吉田 俊治

平成 26 年(2014)年 3 月

## 目次

|   |    |
|---|----|
| I. 総括研究報告   |    |
| 混合性結合組織病の病態解明、早期診断と治療法の確立に関する研究                     | 1  |
| (吉田 俊治)   |    |
| II. 分担研究報告  |    |
| 1. 混合性結合組織病に合併する PAH の早期診断マーカーの確立                   | 7  |
| (川口 鎮司)   |    |
| 2. 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に関する研究 | 11 |
| (大村 浩一郎)  |    |
| 3. 混合性結合組織病の肺動脈性肺高血圧症治療ガイドラインに関する研究                 |    |
| -症例調査-  | 13 |
| -免疫抑制療法に対する医師の考え方-                                  | 16 |
| (深谷 修作)   |    |
| 4. NPSLE 患者脳脊髄液中における自己抗体と IL-6/BAFF/APRIL に関する研究    | 19 |
| (藤井 隆夫)   |    |
| 5. MCTD の病態における単球の役割に関する研究                          | 21 |
| (桑名 正隆)   |    |
| 6. CSP-ELISA の開発と MCTD 患者血清中の抗血管内皮細胞抗体の測定に関する研究     | 24 |
| (三浦 恵二、吉田 俊治)                                       |    |
| 7. 混合性結合組織病における自己抗体産生機序の検討                          | 27 |
| (川畑 仁人)   |    |
| 8. 混合性結合組織病 (MCTD) における unmet needs と新規治療薬の開発に関する研究 | 31 |
| (岡本 尚)  |    |
| 9. 混合性結合組織病における心拍変動の周波数領域解析に関する研究                   | 33 |
| (田中 住明)   |    |
| 10. 慢性低酸素曝露肺高血圧ラットにおけるイソフラボノイド Genistein の効果に関する研究  | 36 |
| (松下 雅和)   |    |
| 11. 混合性結合組織病の予防に関する研究                               | 38 |
| (鷲尾 昌一)   |    |
| 12. 肺高血圧先行型膠原病の臨床的検討に関する研究                          | 47 |
| 結合組織病性肺動脈性肺高血圧症における肺静脈閉塞性病変の合併に関する研究                | 50 |
| (中西 宣文)   |    |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表                                 | 53 |
| IV. 構成員名簿   | 59 |

# I . 総括研究報告

総括研究報告書

混合性結合組織病の病態解明、早期診断と治療法の確立に関する研究

研究代表者 吉田 俊治 藤田保健衛生大学 リウマチ・感染症内科（教授）

研究要旨

混合性結合組織病(MCTD)は、複数の膠原病の要素を持ち抗U1-RNP抗体陽性という特徴を持つ予後良好な疾患として提唱された。しかし一般には非常に稀な肺高血圧症(PH)が最大の死因になるなど、難治性病態の存在も明らかとなった。

3年間の研究により診断については、ゲノム解析によりハイリスク群を抽出して早期診断に役立つ可能性が考えられた。また特に予後に大きく関与するPHについてもNOS2の多型などの遺伝子解析やその他の種々のマーカーの解析からハイリスク群を抽出し、PHの診断がより早期にできる可能性が考えられた。実際、前の班で改訂されたPH診断の手引きの有用性も検証できた。

治療に関しては、予後に大きく関連する肺動脈性PHについてステロイドや免疫抑制薬の使用現状が明らかとなり専門医の考えも明確となった。またやはり難治性の中樞神経症状についても自己抗体の面から分けられる可能性が判明した。さらに長期的には抗U1-RNP抗体の病原性の検討やモデル動物による単球の関与の検討から新しい薬剤の開発につながる可能性が期待できる。

A. 研究目的

混合性結合組織病(MCTD)は、複数の膠原病の要素を持ち抗U1-RNP抗体陽性という特徴を持つ予後良好な疾患として提唱された。しかし一般には非常に稀な肺高血圧症が最大の死因になるなど、難治性病態の存在も明らかとなった。残された課題としては、抗U1-RNP抗体自身の病原性の解明、難治性病態の中で特に肺動脈性肺高血圧症(PAH)の病態解明と診断・治療法の確立があげられる。これらの解明を目的とする。以下に具体的な目標を掲げる。

1. MCTDの病態形成機序解明
2. MCTD-PAHのハイリスク群の把握
3. MCTD-PAH改訂診断の手引きの検証
4. MCTD-PAHの治療法の確立

B. 研究方法

【研究班全体の方法】

原則的に全員で行うプロジェクト研究を中心とし、各個研究としては、診断と治療に有用性のある病態解析から迫るものと特に喫緊の課題である肺高血圧症に関するものに焦点をしばって研究を行う。

【各分担研究項目の研究方法】

I MCTDの疾患としての病態の解明と新規治療薬開発

(1) MCTDにおけるunet needsと新規治療薬の開発に関する研究(岡本)

MCTDなどの免疫学的基礎過程に「非古典的」NF- $\kappa$ Bの活性化カスケードの関与が知られている。これに対する特異的阻害剤の開発を行った。

(2) 発症リスク要因の解明(鷲尾昌一研究協力者)

MCTD 患者、全身性エリテマトーデ(SLE)患者、強皮症患者、多発性筋炎患者を症例とし、非膠原病患者を対照とした症例対照研究を行い、他の膠原病と比較して、MCTD に特有な発症リスクがあるかどうかを検討する。

#### (3) 抗 U1RNP 抗体の産生機序の検討(川畑仁人)

抗 U1RNP 抗体産生マウスモデルを通して、本抗体の産生に関連する follicular helper T 細胞(fhT 細胞)の性状を明らかにする。実際にヒトにおける本細胞群の動態を検討し、MCTD の病態形成への関与についても検討する。また腸内細菌の関与を検討するため、抗菌薬を投与してから CD4T 細胞を移入して自己抗体や fhT 細胞分化を検討する。

#### (4) 生体試料バンクを用いた疾患関連遺伝子検索(大村浩一郎研究協力者)

現在の研究班で構築された生体試料バンクの DNA を用いて DNA チップによる全ゲノム SNP タイピングを行う。これをタイピング済みの健常人を対照に用いて関連解析を行う。

#### (5) 抗細胞表面抗体の検索(三浦恵二研究協力者)

新たな抗血管内皮細胞抗体の測定法を用いて MCTD を中心とした膠原病の患者血清を調べ、その意義を調べる。

### II 肺高血圧症—病態解明とそれによる早期診断—

#### (6) 単球の役割の解明(桑名正隆)

患者末梢血より分離した単球より AP-1 構成蛋白の遺伝子発現と蛋白発現をみて、健常人との差を見る。さらに患者肺の組織での Fra-1 蛋白の発現を見る。また Fra-1 を高発現するトランスジェニックマウス(Fra-1 TG マウス)の肺組織や浸潤炎症細胞、特に単球について検討する。

#### (7) 一酸化窒素合成酵素 2 (NOS2) の遺伝子多型に関する研究(川口鎮司)

血管拡張因子である一酸化窒素(NO)の合成酵素である NOS2 の遺伝子多型(CCTTT microsatellite)について、2つの染色体上の CCTTT 繰り返し配列の総和が 23 未満の患者は 23

以上の症例の 20 倍の PAH 発症 relative risk を持っていた。班の生体試料バンクの DNA も加えて多数例で検証する。

#### (8) 生体試料バンクを用いた疾患関連遺伝子検索(大村浩一郎研究協力者)

I(4)と同様の方法で検索を行う。

#### (9) 膠原病性 PAH における肺静脈病変および PH 先行型膠原病の検討(中西宣文)

膠原病性 PAH の剖検肺を用いて合併する肺静脈病変の有無に関する病理組織学的検討を行う。また肺高血圧先行型膠原病について多数例で検討する。

#### (10) 慢性低酸素曝露肺高血圧ラットにおけるイソフラボノイド Genistein の効果に関する研究(松下雅和)

慢性低酸素曝露肺高血圧ラットに Genistein を投与し、その血管拡張作用と NO や PI3K/Akt 阻害薬の影響を調べた。

### III 肺高血圧症—臨床的指標による早期診断—

#### (11) レイノー現象に伴う指尖血管内皮機能評価法の確立と PH 早期診断への応用(田中住明)

指尖動脈の血管内皮機能や心拍変動の異常を評価する方法を確立し、レイノー現象に伴う自律神経機能を評価する。これを用いて PH の早期診断や評価に応用する。

### IV PH—治療反応性の検討—

#### (12) MCTD-PAH 治療における免疫抑制療法の実態と専門医の意識調査(全員)

分担研究者の施設における MCTD-PAH 治療における免疫抑制療法の実態を明らかにし、各施設の専門医の免疫抑制療法への意識について調査する。

### V PH 以外の重要臓器病変

#### (13) 膠原病に合併する中枢神経症状の病態に関する研究(藤井隆夫)

SLE や MCTD で中枢神経症状を合併した患者の血

清と髄液を用いて、自己抗体と髄液中の IL-6 や BAFF を測定する。

#### ○倫理面への配慮

(2)については、無記名のアンケートであり、必要な施設でのみ倫理委員会の承認を得る。

(3) (6) マウスに関しては動物愛護管理法を遵守する。

(3) (6) (10) 患者検体を用いる場合には該当施設での倫理委員会の承認を得るとともにインフォームドコンセントの上で本人から文書による同意を得る。

(4) (5) (7) (8) 生体試料バンクは各施設での倫理委員会で承認を受けた後に集積されている。その使用に関しても連結可能匿名化がなされており、倫理的に問題ないと思われる。

(9) (17) 該当施設の倫理規定を遵守する。

(11) 該当施設での倫理委員会の承認を得るとともにインフォームドコンセントの上で本人から文書による同意を得る。

(12) 診療録を用いた後ろ向き調査であり、倫理的な問題は少ないと思われる。

主任研究者の施設における倫理委員会の承認状況は下記のごとくである。

(4) (7) (8) に関して

混合性結合組織病の関連遺伝子検索に関する研究：本学のヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会で承認(平成 24 年 8 月 18 日)

(2) に関して

本学の疫学・臨床研究倫理審査委員会で承認

#### C. 研究結果

「2. 研究方法」の項の(1)から(17)にしたがって記載する。

(1) 「非古典的」NF- $\kappa$ B の活性化カスケードに重要な IKK  $\alpha$  の特異的阻害薬を見いだした。関節炎のモデルマウスにも有効に作用し、治療標的になりうると考えられた。

(2) MCTD の発症と関連したのは、1 日 30 分以上の歩行、食生活の欧米化、手術の既往が統計学的に有意なものとしてあげられた。

(3) 抗 U1RNP 抗体の産生には CXCR5 陰性 follicular helper T 細胞という新規細胞群が関与することを見だし、さらに同様の細胞群がヒト末梢血に存在することも明らかにした。また TLR9 および腸内細菌が fhT 細胞分化や自己抗体産生に関与していた。

(4) (8) 生体試料バンクとして抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病 516 例(うち MCTD197 例)を収集し、臨床情報も充実させ、世界最大級のバンクを作成した。抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病の関連遺伝子解析では GWAS で STAT4 が有意水準を満たした。MCTD でも sema6D が suggestive な関連を示した。

(5) MCTD 患者血清中に存在することが知られている抗血管内皮細胞抗体(AECA)を、新たに開発した CSP-ELISA 法で測定した。MCTD 生体試料バンクの 200 検体を CSP-ELISA で測定したところ、IgG-AECA が 97%、IgA-AECA が 20% の陽性を示した。IgG-AECA、IgA-AECA が結合している自己抗原を同定すること、また自己抗体価と病態との関連を見つめることで、MCTD の診断に利用できる可能性を示すことができた。

(6) MCTD/強皮症の末梢血単球では AP-1 を構成する蛋白のうち、Fra-1 のみが mRNA でも蛋白レベルでも高発現していた。肺組織における Fra-1 の発現は、健常人や特発性 PAH では検出できないが、MCTD/強皮症では浸潤する単核球と繊維芽細胞で発現を認めた。Fra-1 TG マウスでは M2 にシフトした単球の浸潤が先行し、間質性肺炎/PAH に類似した病態がみられた。

(7) 一酸化窒素(NO)合成酵素である NOS2 の遺伝子多型について CCTTT 繰り返し配列が 2 つの染色体上で 23 未満の者は 23 以上の症例の 20 倍の PAH 発症リスクがあることを少数例の検討で見いだしていた。今回、生体試料バンクの検体も加え、154 例で再検討した。MCTD の PAH 発症例では健常人に比しては有意に繰り返し配列の回数が少なかった。

(9) 膠原病性 PAH の剖検例 10 例のうち 9 例に肺静脈閉塞性病変を認め、狭窄率は平均 74%であった、そして肺静脈閉塞性病変型、特発性 PAH 型、混合型に分類可能であった。また IPAH と診断された症例のうち、約 6%が遠隔期に膠原病となっている。

(10) 慢性低酸素曝露肺高血圧ラットにイソフラボノイド Genistein を投与したところ NO 経路の活性化が認められ、治療・予防的効果を有している可能性が示唆された。

(11) MCTD 患者のレイノー現象に NO 依存性血管拡張障害が関与しており、また恒常的に交感神経活動の亢進がみられた

(12) 膠原病性肺高血圧症 (CTD-PAH) に対する免疫抑制療法実施率は基礎疾患が全身性エリテマトーデス (SLE) 78%、混合性結合組織病 (MCTD) 50%、全身性硬化症 (SSc) 17%の順であった。すなわち比較的適切に免疫抑制療法が実施されていると判断した。

さらに肺動脈性肺高血圧症 (PAH) の治療の 1 つとして記載されている免疫抑制療法 (IST) に関して、その診療に携わる本研究班の臨床系班員が所属する施設の医師がどのように考えているかを調査した。SLE-PAH、MCTD-PAH に対する IST に期待する医師は 94.3%以上を占めていた。一方、SSc-PAH に対する IST に期待する医師も 26.1%存在し、さらなる啓発活動の必要性が示唆された。また、CTD-PAH 治療の当初より IST を実施する医師が 73%を占めており、多くの医師が CTD-PAH 治療における IST を評価していると考えられた。

(13) 抗 NR2 抗体陽性例では陰性例に比し、髄液中の IL-6 が高値であり、髄液 BAFF も高濃度の傾向にあった。抗 U1-RNP 抗体陽性例ではこのような傾向は見られなかった。

#### D. 考察

MCTD を自己抗体と遺伝子の面からとらえる努力を続けている。

MCTD の血清学的特徴である抗 U1-RNP 抗体産生への関与が考えられる細胞亜群をモデル動物から見

いだしている。さらによりすぐれた細胞表面蛋白の精製により抗 U1-RNP 抗体以外の自己抗体を見いだしている。

遺伝子においても、全ゲノムに対する疾患関連遺伝子の検索を行っている。世界的に見ても抗 U1-RNP 抗体陽性患者でこれだけ多数の DNA を集めているところは稀と思われる。関連が見いだされた遺伝子の中には他の膠原病で報告のないものもあるため、MCTD を特徴づける遺伝子の可能性もあり、疾患独立性や診断への寄与についても検証が必要であろう。

最も重要な合併症である PH について、遺伝子面の検討と各種バイオマーカー、さらに生体検査に収穫が得られた。つまり単球の Fra-1 や NOS2 の CCTTT 繰り返し配列の数と PH との関連が示唆される。これがさらに検証できれば、MCTD における PH を来すハイリスク群が同定でき、早期診断が可能となることが期待される。

臨床的に運動負荷心エコー検査や指尖動脈の血管内皮機能の検査により、PAH をはじめとする血管内皮機能障害を早期に診断できる可能性が示唆された。

各施設からの症例の集積により前の MCTD 班が改訂した MCTD-PAH 診断の手引きの高い有用性が検証された。さらに CTD-PAH の治療に関しては、免疫抑制療法が SLE で高率になされ、強皮症では低率であること、MCTD はその中間に位置することが、班内の多数の集積例でも確認され、班内の施設の専門医の考えでも裏付けされた。今後は、MCTD において SLE 様病態と強皮症様病態のどちらに基づく PAH であるかの評価により免疫抑制療法など治療法の選択が異なっていく可能性が考えられる。

#### E. 結論

診断については、ゲノム解析によりハイリスク群を抽出して早期診断に役立つ可能性が考えられた。また特に予後に大きく関与する肺高血圧症 (PH) についても NOS2 の多型などの遺伝子分析やその他

の種々のマーカーの解析からハイリスク群を抽出し、PHの診断がより早期にできる可能性が考えられた。実際、前の班で改訂されたPH診断の手引きの有用性を検証できた。

治療に関しては、予後に大きく関連するPAHについてステロイドや免疫抑制薬の使用現状が明らかとなり専門医の考えも明確となった。またやはり難治性の中樞神経症状についても自己抗体の面から分けられる可能性が判明した。さらに長期的には抗U1-RNP抗体の病原性の検討やモデル動物による単球の関与の検討から新しい薬剤の開発につながる可能性が期待できる。



## Ⅱ. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

混合性結合組織病に合併する PAH の早期診断マーカーの確立

研究分担者 川口鎮司 東京女子医科大学リウマチ科 臨床教授  
研究協力者 高木香恵 東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター 講師

## 研究要旨

混合性結合組織病(MCTD)は、全身性エリテマトーデス(SLE)、炎症性筋症、全身性強皮症(SSc)の症状を併せもち、抗 U1-RNP 抗体が陽性となる膠原病の1疾患である。MCTD は、比較的予後良好な疾患と位置づけられてきたが、肺動脈性肺高血圧症(PAH)を高頻度（約 15%）に合併することがわかってきた。PAH は、膠原病の合併症のなかでも最も予後不良であり、早期での診断が重要と考えられている。PAH の発症予測の指標として、我々は一酸化窒素合成酵素(NOS)-2 の遺伝子多型を研究してきた。多施設での 154 症例での検討にて、1 施設での検討と同様に、NOS2 遺伝子多型と PAH 合併に有意な関連があることが示された。PAH を合併する可能性が高い症例では、早期から NO あるいは cGMP 増強効果を有する治療が進行を抑制する可能性があると考えられる。

## A.研究目的

肺動脈性肺高血圧症(PAH)は、混合性結合組織(MCTD)の生命予後を決定する重要な病態である。

MCTD では、血管の異常収縮・攣縮が生じており、その病態にエンドセリン-1 (ET-1)が重要な働きをしている。近年、エンドセリン受容体拮抗薬がこの病態に有効であることがわかってきており、ET-1 の病態形成におよぼす重要性が再確認されている。同様に、PAH 合併 MCTD 患者でも、血漿中 ET-1 濃度が著明に高値であった。一方、血管拡張因子である一酸化窒素(NO)は、ET-1 により誘導されることがわかっている。つまり、ET-1 により血管収縮が生じるとその刺激が NO 合成酵素(NOS-2)の誘導を介して NO 合成を増加させる。この結果に一致して、レイノー現象を有する MCTD 患者では、NO の血清中での上昇が認められた。しかし、我々の研究では、PAH を併発した症例においては、ET-1 の亢進にもかかわらず、血清中 NO 濃度は、健常人と差が認められなかった。この結果から、我々は PAH 合併 MCTD 患者では ET-1 による NOS-2 を介した NO 合成過程に異常があると仮定した。そこで、本研究班において、NOS2 遺伝子多型と PAH 発症との関連を検討してきた。その結果、昨年までに、NOS2 遺伝子多型が、将来において、PAH を発症するかどうかの予測因子として有用であることをみつけた。今回の研究では、多施設の症例を用いて、我々がみつけた NOS2 遺伝子の PAH 発症予測因子としての有用性を検証した。

## B.研究方法

### 1) 対象患者

MCTD 研究班の多施設にて集積した genomic DNA を用いた。患者は、厚生労働省研究班による混合性結合組織病診断の手引き（1996 年改訂）により MCTD と診断できた症例 154 例を対象とした。すべての施設にて倫理委員会の承認を得て、患者から文書にて同意をえて集積した。

### 2) 肺動脈性肺高血圧症 (PAH)患者の診断

PAH の診断は、右心カテーテル検査を行い、平均肺動脈圧が 25 mmHg 以上で、肺動脈楔入圧が 15 mmHg 以下とした。さらに、重度の肺線維症や心疾患、肺動脈血栓塞栓症による 2 次性の PH が否定された症例とした。

### 3) マイクロサテライト (CCTTT repeat) の繰り返し回数

東京女子医大倫理委員会の承認を経て、informed consent を行い、患者より末梢血を採血し、genomic DNA を抽出した。NOS2 遺伝子の-2.5 kb 近傍に存在する CCTTT repeat microsatellite を解析するため、蛍光ラベルしたプライマーを用い genomic DNA を鋳型として PCR を行い、PCR 産物を ABI 7900 を用いて泳動し、GeneScan 法にて繰り返し回数を決定した。

### (倫理面への配慮)

東京女子医科大学の倫理委員会にて審議し、承認を得て行っており、患者からの DNA 取得には、文書で同意を取得している。DNA は、匿名化番号を付記して、検査を行い、最後に、患者臨床データと連結を行っている。患者のデータの漏洩はない。

## C. 研究結果

### 1) 症例

MCTD 症例 154 例のうち、PAH と診断された症例は、20 例であった。患者集積時の臨床症状からは、約 13% の症例が PAH 合併例であった。頻度は本邦で報告されているものと一致している。

### 2) NOS2 遺伝子多型の検討

表 1 に 154 例の MCTD の CCTTT 繰り返し配列の 2 本の染色体の総和を示した。PAH を合併した 20 例の MCTD と 95 名の健常人の結果も示した。PAH 合併例では、CCTTT 繰り返し配列が少ないことがわかる。繰り返し配列が 23 未満と 23 以上に分けて表 2 に示した。MCTD と健常人との比較では、CCTTT 繰り返し配列が健常人に比較し MCTD で有意に少なかった。また、その相関は、PAH を合併した MCTD においてより強い相関係数を示した。

MCTD 症例において、PAH 合併例と非合併例に分けて CCTTT 繰り返し配列の関連を検討した。表 3 に示すように、CCTTT 繰り返し配列が 23 未満の症例は、23 以上の症例と比較して 3.52 倍 PAH を発症する危険性があることがわかった。

## D. 考察

154 例の MCTD 症例での検討では、MCTD において、NOS2 遺伝子多型の偏りがみとめられた。MCTD においては、NOS2 遺伝子との関連があり、MCTD の疾患感受性遺伝子であることが示唆された。また、CCTTT 繰り返し配列が、23 未満であれば、有意に PAH 発症の危険性が増加することが示された。このことは、NOS2 遺伝子多型により、PAH 発症の危険性を予測することが可能であることを示していると考えられる。

NOS2 遺伝子の CCTTT 繰り返し配列が少ないほど、炎症性液性因子（エンドセリン、IL-1, IL-6, TNF など）による NOS2 遺伝子の転写効率が低下することがわかっている。このことより、炎症性液性因子により、本来、NOS2 遺伝子発現が生じ、その結果、血管拡張因子である NO が誘導されるわけであるが、その発現の低下が MCTD あるいは PAH 発症に関連していることが推測される。

現在、NO 増強効果のある PAH 治療薬として、ホスホジエステラーゼ 5 (PDE5) 阻害薬が使用可能である。今後、CCTTT 繰り返し配列が 23 未満の症例では、早期から PDE5 阻害薬を投与することにより、PAH の発症あるいは進展を抑制することができる可能性がある。

## E. 結論

154 例の MCTD 患者での検討において、NOS2 遺伝子多型は、MCTD 発症に関連する可能性が示唆された。また、大規模な多施設検討においても、我々の 1 施設での結果と同様、CCTTT 繰り返し配列が少ないほど、

PAH 発症の危険性は高くなることが明らかとなった。今後、CCTTT 繰り返し配列の検索により、より早期に PAH 発症を予測することが可能となる。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Sugiura T, Kawaguchi Y, Goto K, Hayashi Y, Gono T, Furuya T, Nishino I, Yamanaka H. Positive association between *C8orf13-BLK* polymorphisms and polymyositis/dermatomyositis in the Japanese population. **PLOS One** in press
2. Ichida H, Kawaguchi Y, Sugiura T, Takagi K, Katsumata Y, Gono T, Ota Y, Kataoka S, Kawasumi H, Yamanaka H. Clinical Manifestations of Adult-Onset Still's Disease Presenting with Erosive Arthritis: Association with Low Levels of Ferritin and IL-18. **Arthritis Care Res** in press
3. Gono T, Kaneko H, Kawaguchi Y, Hanaoka M, Kataoka S, Kuwana M, Takagi K, Katsumata Y, Ota Y, Kawasumi H, Yamanaka H. Cytokine profiles in polymyositis and dermatomyositis complicated with rapidly progressive or chronic interstitial lung disease. **Rheumatology** in press
4. Hanaoka M, Gono T, Kawaguchi Y, Uchida K, Koseki Y, Katsumata Y, Kaneko H, Takagi K, Ichida H, Nitta K, Yamanaka H. Urinary free light chain is a potential biomarker for ISN/RPS class III/IV lupus nephritis. **Rheumatology** 52:2149-2157, 2013
5. Ota Y, Kawaguchi Y, Takagi K, Ichida H, Gono T, Hanaoka M, Higuchi T, Yamanaka H. Ghrelin attenuates collagen production in lesional fibroblasts from patients with systemic sclerosis. **Clin Immunol** 147:71-78, 2013
6. 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** 65:472-480, 2013
7. Katsumata Y, Kawaguchi Y, Baba S, Hattori S, Tahara K, Ito K, Iwasaki T, Yamaguchi N, Hattori H, Nagata K, Okamoto Y, Yamanaka H, Hara M. Serum antibodies against the 70kD polypeptides of the U1 ribonucleoprotein complex are associated with psychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus: a retrospective study. **Mod Rheumatol** 23:71-80, 2013
8. Suzuki T, Ikari K, Kawaguchi Y, Yano K,

Iwamoto T, Kawamoto M, Toyama Y,  
Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S.  
Non-synonymous variant (Gly307Ser) in  
CD226 is associated with susceptibility in  
Japanese rheumatoid arthritis patients. **Mod  
Rheumatol** 23:200-202, 2013

## 2. 学会発表

1. 川口鎮司。膠原病に伴う肺高血圧症における多剤併用療法 第57回に本リウマチ学会総会・学術集会

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

### 1. 特許取得

特になし

### 2. 実用新案登録

特になし

### 3. その他

特になし

表1 MCTDにおけるNOS2遺伝子多型の解析

| CCTTT 総和 | MCTD            |                    | 健常人<br>(N = 95) |
|----------|-----------------|--------------------|-----------------|
|          | 全体<br>(N = 154) | PAH 合併<br>(N = 20) |                 |
| 17       | 1               | 1                  |                 |
| 18       | 3               | 1                  | 2               |
| 19       | 3               | 2                  | 1               |
| 20       | 14              | 1                  | 3               |
| 21       | 16              | 2                  | 7               |
| 22       | 15              | 5                  | 4               |
| 23       | 14              | 2                  | 11              |
| 24       | 17              | 1                  | 13              |
| 25       | 23              | 2                  | 16              |
| 26       | 16              | 3                  | 15              |
| 27       | 4               |                    | 5               |
| 28       | 8               |                    | 3               |
| 29       | 8               |                    | 3               |
| 30       | 7               |                    | 6               |
| 31       | 3               |                    | 2               |
| 32       | 1               |                    | 2               |
| 33       | 0               |                    | 1               |
| 34       | 0               |                    | 1               |
| 35       | 1               |                    |                 |

表2 MCTD と健常人におけるNOS2遺伝子多型の関連

|               | MCTD |         | 健常人 |
|---------------|------|---------|-----|
|               | 全体   | PAH 合併例 |     |
| CCTTT 総和 < 23 | 52   | 12      | 17  |
| CCTTT 総和 ≥ 23 | 102  | 8       | 78  |

MCTD と健常人との比較検定： P = 0.008, OR: 2.34, 95%CI: 1.26-4.36

PAH 合併 MCTD と健常人との比較検定： P = 0.0003, OR: 6.88, 95%CI: 2.44-19.41

表3 PAH 合併例と非合併例のMCTDにおけるNOS2遺伝子多型の関連

|               | MCTD    |          |
|---------------|---------|----------|
|               | PAH 合併例 | PAH 非合併例 |
| CCTTT 総和 < 23 | 12      | 40       |
| CCTTT 総和 ≥ 23 | 8       | 94       |

P = 0.011, OR: 3.52, 95%CI: 1.39-9.28

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

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

研究協力者 大村 浩一郎 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学 講師

### 研究要旨

混合性結合組織病（MCTD）の生体試料バンクは抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病として 516 例（うち MCTD197 例）を収集し、臨床情報も充実させ、世界最大級のバンクとなった。抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病の関連遺伝子解析は GWAS で上位の 2 遺伝子の追認試験を行い、STAT4 が有意水準を満たした。HLA-DRA, BLK に続いて 3 つめの関連遺伝子となった。MCTD の関連遺伝子解析は同様に GWAS 上位の 2 遺伝子の追認試験を行い、GWAS 有意水準には至らないが sema6D が suggestive な関連を示した。

### A. 研究目的

混合性結合組織病（MCTD）は全国に 10,000 人程度の有病率とされる希少難病であり、その原因、治療法の確立のためには全国の専門施設が協力して研究を行う必要がある。そのために必要な生体試料および詳細な臨床情報をバンクとして整備し、必要な研究者に配布することを第 1 の目的としている。次に全ゲノム関連解析（GWAS）により、未知の遺伝子も含めて網羅的に解析を行うことで、MCTD および抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病の発症に関連する遺伝子を探索し、病態解明を行うことを第 2 の目的としている。

### B. 研究方法

バンクには抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病の検体収集を続け、臨床情報も引き続き収集した。

286 例の抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病患者 vs 657 例の健常人で GWAS を行い、DNA を用い、DNA チップ（Infinium HumanExome+ BeadChip Kit）を用いて全ゲノム SNP タイピングを行った。候補遺伝子を 4 つ選び 217 例の抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病患者 vs 1405 例の健常人に関して TaqMan 法による追認解析を行った。

#### （倫理面への配慮）

本研究は遺伝子情報を扱う臨床研究であることから「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「臨床研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言（2004 年改訂）を遵守する。本研究は京都大学医学部医の倫理委員会の承認を受けて進めており、各研究協力施設においても倫理委員会で協議、承認されている。

試料は京都大学大学院医学研究科臨床免疫学の専用の冷凍庫に保管し、管理者が施錠する。臨床データは匿名化し、患者の個人情報と匿名番号を結びつける対照表は各施設で厳重に管理する。匿名番号と遺伝情報、臨床情報に関しては京都大学で一括管理し、個人情報と遺伝情報は同じコンピュータや同じファイルで管理しない。

### C. 研究結果

バンクのサンプル数は平成 26 年 1 月 25 日現在、MCTD 患者および抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病患者の試料（DNA および血清/血漿）がそれぞれ 197 例と 319 例収集された。計 516 例の検体となった。肺高血圧症合併患者は确实 9 例、疑い 21 例の計 30 例となった。各患者がどの膠原病の診断基準を満たすかの臨床情報が収集されつつある。

GWAS で挙げた抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病関連候補遺伝子は上位から HLA-DRA, BLK, STAT4, ZNF835 の順であり、上位 2 つは GWAS 有意水準を満たしていたため、STAT4 と ZNF835 に関して追認試験を行った。217 例の抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病患者 vs 1405 例の健常人を TaqMan によるタイピングを行い、 $p=0.003$ , OR 1.54 (1.15 - 2.11) となり、GWAS とのメタ解析を Mantel-Haenszel 法によって行うと  $p=1.07 \times 10^{-7}$ , OR 1.81 (1.46 - 2.24) となり、GWAS 有意水準 ( $p=2.04 \times 10^{-6}$ ) を超えた。ZNF835 は追認解析で  $p=0.219$ , OR 1.13 (0.92 - 1.40) となりメタ解析でも  $p=0.029$ , OR 1.14 (0.99-1.32) と関連は否定的となった。

一方、サブ解析として MCTD の診断基準を満たす 96 例 vs 健常人 657 例の GWAS 結果では上位から HLA-DRA, CCDC8, SEMA6D となり、2 位、3 位の遺伝子に関して MCTD 80 例 vs 健常人 1405 例による追認試験を行った。CCDC8 は  $p=0.769$ , OR 1.05 (0.75-1.46) となり関連は否定的。SEMA6D に関しては  $p=0.033$ , OR 1.44 (1.01 - 2.04) となり、メタ解析では  $p=2.30 \times 10^{-5}$ , OR 1.66 (1.31 - 2.10) と suggestive な関連を示した。

### D. 考察

MCTD 生体試料バンクの検体数は 500 を超え、詳細な臨床情報を含んだ DNA および血清であり、他に例を見ない貴重な試料である。おそらく世界でも最大で最も

臨床情報が豊富なバンクであろうと考えられる。

抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病の関連遺伝子として、他の膠原病でも関連が認められている HLA、BLK、STAT4 が関係することが示された。一方、MCTD 関連遺伝子としては SEMA6D が追認試験にても suggestive な関連を示し、さらなる追認試験により、MCTD の特異的関連遺伝子となるかもしれない。この分子は Plexin-A1 をリガンドとする膜蛋白であり、Plexin-A1 欠損マウスでは抗原特異的 T 細胞活性化の低下を認めており、自己免疫との関連も示唆される。

## E. 結論

MCTD および抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病の生体試料バンクが充実しつつあり、ほぼ当初の目標に達した。

抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病の関連遺伝子として新たに STAT4 が加わり、MCTD 特異的関連遺伝子として sema6D が suggestive な関連を示した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Terao C, Ohmura K, Kawaguchi Y, Nishimoto T, Kawasaki A, et al., PLD4 as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population. **Arthritis Rheum.** 2013 Feb; 65(2): 472-80.
2. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, et al., Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. **Nat Genet.** 2012, 44(5): 511-6
3. Terao C, Ohmura K, Ikari K, Kochi Y, Maruya E, et al., ACPA-negative RA consists of two genetically distinct subsets based on RF positivity in Japanese. **PLoS One.** 2012;7(7): e40067
4. Ohmura K, Terao C, Mimori T. Recent advances on the genetics of rheumatoid arthritis: current topics and the future. **Inflamm Regen** 2012, 32 (3): 90- 98.

### 2. 学会発表

中坊周一郎ほか：混合性結合組織病（MCTD）および抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病のゲノムワイド関連解析（GWAS）。第 41 回日本臨床免疫学会，下関，2013 年 11 月

## H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む）

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
分担研究報告書

混合性結合組織病の肺動脈性肺高血圧症治療ガイドラインに関する研究  
-症例調査-

|       |       |                             |       |
|-------|-------|-----------------------------|-------|
| 研究分担者 | 深谷 修作 | 藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科       | 臨床准教授 |
| 研究協力者 | 芦原このみ | 藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内        | 助手    |
| 研究分担者 | 川口 鎮司 | 東京女子医科大学リウマチ科               | 臨床教授  |
| 研究分担者 | 川畑 仁人 | 東京大学医学部附属病院アレルギーリウマチ内科      | 講師    |
| 研究分担者 | 桑名 正隆 | 慶應大学医学部内科学教室                | 准教授   |
| 研究分担者 | 田中 住明 | 北里大学医学部膠原病感染症内科学            | 診療准教授 |
| 研究分担者 | 中西 宣文 | 国立循環器病研究センター研究所肺高血圧先端医療学研究部 | 部長    |
| 研究分担者 | 藤井 隆夫 | 京都大学大学院医学研究科リウマチ性疾患制御学講座    | 准教授   |
| 研究分担者 | 松下 雅和 | 順天堂大学膠原病内科                  | 助教    |
| 研究代表者 | 吉田 俊治 | 藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科       | 教授    |

## 研究要旨

【目的および方法】混合性結合組織病（MCTD）の診療ガイドラインにおいて、肺動脈性肺高血圧症（PAH）の治療の1つとして記載されている免疫抑制療法（IST）に関して、その診療に携わる本研究班の臨床系班員が所属する施設において実際にどのように行われているかを調査した。【結果】膠原病性肺高血圧症（CTD-PAH）に対するIST実施率やIST対象病態は基礎疾患により異なった。IST実施率は基礎疾患が全身性エリテマトーデス（SLE）78%、混合性結合組織病（MCTD）50%、全身性硬化症（SSc）17%の順で、SLEはMCTD、SScに比し高率で、MCTDはSScに比し高率であった。また、PAHに対してISTが実施されていたのはSLEでは8例（57%）、MCTDでは6例（43%）、SScでは1例（13%）であった。全体で10例がPAHのみを対象にISTが実施され、6例ではPAHのためにISTが強化されていた。肺血管拡張療法は121例中113例に実施され、68例で肺血管拡張薬の併用が行われ、27例で系統の異なる3種類の肺血管拡張薬が投与されていた。また、基礎疾患がSLEの患者では53%でPAH治療当初よりISTが実施され、ISTが実施されなかったのは29%、MCTDではそれぞれ31%、54%、SScではそれぞれ14%、75%であった。【考案およびまとめ】基礎疾患毎のIST実施率、CTD-PAH治療当初よりのIST実施率、あるいはIST未実施率からは比較的適切にISTが実施されていることがうかがえた。

## A. 研究目的

膠原病性肺動脈性肺高血圧症（CTD-PAH）では、基礎疾患である膠原病（CTD）の種類によっては免疫抑制療法（IST）が有効であることが報告されている<sup>1-3)</sup>。また、平成22年度の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（MCTD）の病態解明と治療法に関する研究」班にて作成されたMCTDの診療ガイドライン<sup>4)</sup>においても、肺動脈性肺高血圧症（PAH）に対する治療法としてISTが含まれている。そこで、この診療ガイドライン検証の一部として、実際の症例にISTがどのように実施されているか確認することを目的とした。

## B. 研究方法

調査票を用いて症例の情報を収集した。対象はCTD-PAHの診療経験を有する医師が多数所属していることが予想される、厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）「MCTDの病態解明、早期診断と

治療法の確立に関する研究」班の臨床系班員が所属する施設で、最近治療されたCTD-PAH例を優先とし、各施設20例を目安とした。調査内容は、膠原病基礎疾患、性別、年齢、WHO機能分類、肺動脈平均圧、肺動脈楔入圧、推定三尖弁圧較差、PAH以外のISTを必要とする病態の有無およびその病態、IST実施の有無およびその対象病態、実施したISTの内容、PAHがなかった場合の治療内容、肺血管拡張療法の有無およびその薬剤、肺血管拡張療法とISTとの実施タイミングである。（倫理面への配慮）

患者個人情報保護のため、個人が特定される可能性のある患者番号、生年月日などの調査票への記載は求めている。

## C. 研究結果

8施設より121例のCTD-PAH例が収集された。ISTの実態に関しては重複症候群（シェーグレン症候群の合併は重複とはしない）を除いた104例、ISTと肺血管拡



張療法との実施タイミングの検討には121例全例を用いた。重複例を除いた患者背景は表1、2の如くであった。4例以上の症例数がある全身性エリテマトーデス(SLE)に伴うPAH(SLE-PAH)、MCTDに伴うPAH(MCTD-PAH)、全身性硬化症(SSc)に伴うPAH(SSc-PAH)、原発性シェーグレン症候群(pSS)に伴うPAH(pSS-PAH)をこれ以降の検討疾患とした。

表1. 患者背景-1

| 疾患                 | 症例数 | 男/女 (不明) | 平均年齢 (不明)     |
|--------------------|-----|----------|---------------|
| 全体                 | 104 | 9/93 (2) | 52.1±16.6 (3) |
| 全身性エリテマトーデス (SLE)  | 18  | 1/17     | 36.3±14.1     |
| 全身性硬化症 (SSc)       | 47  | 4/43     | 61.6±12.7 (2) |
| 混合性結合組織病 (MCTD)    | 28  | 3/24 (1) | 50.5±15.5 (1) |
| 多発性筋炎 (PM)         | 1   | 0/0 (1)  | 47.0          |
| 原発性シェーグレン症候群 (pSS) | 4   | 0/4      | 46±13.7       |
| 高安静脈炎              | 2   | 0/2      | 38.0          |
| ANCA関連血管炎 (AAV)    | 2   | 1/1      | 48.0          |
| 関節リウマチ (RA)        | 1   | 0/1      | 35.0          |
| 成人発症Still病         | 1   | 0/1      | 39.0          |

年齢 SSc vs SLE: p<0.0001, SSc vs MCTD: p=0.0014, SSc vs pSS: p=0.0341, SLE vs MCTD: p=0.0011

表2. 患者背景-2 (PAHの状態)

| 疾患             | WHO機能分類 (不明) I/II/III/IV | mPAP (不明)     | TRPG (不明)      | 楔入圧 (不明)     |
|----------------|--------------------------|---------------|----------------|--------------|
| 全体 (104)       | 7/40/38/8 (11)           | 38.6±9.9 (28) | 52.2±17.5 (22) | 7.9±4.3 (35) |
| SLE (18)       | 0/7/9/1 (1)              | 41.3±11.5 (1) | 53.8±17.0 (4)  | 7.4±4.2 (3)  |
| SSc (47)       | 2/20/16/4 (5)            | 34.2±7.7 (9)  | 48.3±14.6 (8)  | 9.0±4.5 (12) |
| MCTD (28)      | 4/11/11/1 (1)            | 43.4±8.1 (13) | 55.0±20.7 (7)  | 6.8±3.5 (15) |
| PM (1)         | 0/0/0/0 (1)              | -- (1)        | 55             | -- (1)       |
| pSS (4)        | 0/1/0/2 (1)              | 50.3±8.3      | 90 (3)         | 4.5±3.7      |
| 高安静脈炎 (2)      | 1/0/0/0 (1)              | -- (2)        | 69.9           | -- (2)       |
| AAV (2)        | 0/1/1/0                  | 52.0 (1)      | 48.5           | 8.0 (1)      |
| RA (1)         | 0/0/1/0                  | 31.0          | 40             | 5.0          |
| 成人発症Still病 (1) | 0/0/0/0 (1)              | -- (1)        | 66             | -- (1)       |

mPAP SSc vs SLE: p=0.0074, SSc vs MCTD: p=0.0009, SSc vs pSS: p=0.0009, pSS vs SLE: p=0.0696, 楔入圧 SSc vs pSS: p=0.0504

表3. 基礎疾患別あるいは免疫抑制療法対象病態別免疫抑制療法実施状況

| 基礎疾患 | 免疫抑制療法 |    | 原病  |    | PAH |    | PAHのみ |
|------|--------|----|-----|----|-----|----|-------|
|      | あり     | なし | Yes | No | Yes | No |       |
| SLE  | 14     | 4  | 12  | 2  | 8   | 6  | 2     |
| SSc  | 8      | 39 | 7   | 1  | 1   | 7  | 1     |
| MCTD | 14     | 14 | 10  | 4  | 6   | 8  | 4     |
| pSS  | 3      | 1  | 0   | 3  | 3   | 0  | 3     |

免疫抑制療法 SSc vs SLE: p=0.0001, SSc vs MCTD: p=0.0026, SSc vs pSS: p=0.0277, SLE vs MCTD: p=0.0723, 原病 pSS vs SLE: p=0.0147, pSS vs SSc: p=0.0242, pSS vs MCTD: p=0.0515, PAH SSc vs SLE: p=0.0743, SSc vs pSS: p=0.0242

(いずれもFisherの直接確率計算法)

基礎疾患別のIST実施の有無、ISTの対象病態(原病あるいはPAH)を表3に示す。SSc-PAHでは他の3疾患に比し、ISTの実施率は有意に低かった。また、MCTD-PAHではSLE-PAHに比し、IST実施率は低い傾向を認めた。pSS-PAHでは原病に対するISTの実施率が他の3疾患に比し、有意に低いあるいは低い傾向を認めた。また、SSc-PAHではPAHに対するIST実施率がpSS-PAHに比し有意に低い、SLE-PAHに比し低い傾向を認めた。SLE-PAHでは2例、SSc-PAHでは1例、MCTD-PAHでは4例、pSS-PAHでは3例にPAHのみを対象としてISTが実施されてい

た。

IST実施患者における疾患別のISTの実際を表4に示す。ステロイド薬投与量はSLE-PAH、pSS-PAH、MCTD-PAH、SSc-PAHの順で、SSc-PAHはSLE-PAH、pSS-PAHに比し有意に低量であった。MCTD-PAHはSLE-PAHに比し有意に低量であった。

内服の免疫抑制薬使用については各疾患において差を認めなかった。

シクロホスファミド(CPM)パルス療法はSLE-PAH、SSc-PAHでMCTD-PAHに比し高率に実施されていた。しかし、SSc-PAHにおいてはCPMパルス療法の対象病態はPAHではなく、間質性肺炎にであった。

表4. 疾患別免疫抑制療法の実態

| 疾患       | 免疫抑制療法実施患者数 | PSL投与量 (mg/日) | ステロイドパルス |    | 免疫抑制薬 (内服) |    | シクロホスファミド (CPM) パルス |    |
|----------|-------------|---------------|----------|----|------------|----|---------------------|----|
|          |             |               | あり       | なし | あり         | なし | あり                  | なし |
| SLE-PAH  | 14          | 51.3±17.6     | 10       | 7  | 4          | 13 | 9                   | 8  |
| SSc-PAH  | 8           | 21.9±19.3     | 3        | 15 | 3          | 14 | 8                   | 10 |
| MCTD-PAH | 14          | 32.5±10.5     | 8        | 25 | 1          | 16 | 3                   | 14 |
| pSS-PAH  | 3           | 45.0±5.0      | 3        | 0  | 1          | 2  | 1                   | 2  |

PSL投与量 SSc vs SLE: p=0.0001, SSc vs pSS: p=0.0313, MCTD vs SLE: p=0.0025, ステロイドパルスの有無 SSc vs SLE: p=0.0609, SSc vs pSS: p=0.0667, MCTD vs SLE: p=0.0768, MCTD vs pSS: p=0.0632, CPMパルスの有無 MCTD vs SLE: p=0.0461, MCTD vs SSc: p=0.0173

(いずれもFisherの直接確率計算法)

PAHの存在がISTの強化につながった症例は重複症候群を含めた121例中16例に認めた。この中、10例はISTの対象病態がCTD-PAHのみであり、他の6例はPAH以外の活動性病態に必要な治療以上のISTが実施されていた。

肺血管拡張療法は重複症候群を含む121例で検討した。肺血管拡張療法実施患者は113例、未実施7例、不明1例であった。肺血管拡張療法併用療法実施患者68例で、3剤併用は27例、2剤併用は41例であった。2剤併用例中、プロスタグランジンI2製剤(PGI2)とエンドセリン受容体拮抗薬(ERA)の併用は17例、PGI2とホスフォジエステラーゼ-5阻害薬(PDE-5I)の併用は9例、ERAとPDE-5Iの併用は15例であった。

肺血管拡張療法とISTとの実施タイミングについて表5に示す。IST先行が10例、同時が18例、肺血管拡張療法先行が12例、肺血管拡張療法のみが58例、不明が15例であった。しかし、基礎疾患によりこの分布は異なっていた。基礎疾患にSLEを有する患者では、IST先行が3例、同時が6例、肺血管拡張療法先行が3例、肺血管拡張療法のみが5例、不明が2例、SScを基礎疾患に有する患者では、IST先行が2例、同時が5例、肺血管拡張療法先行が6例、肺血管拡張療法のみが38例、不明が5例、MCTDを基礎疾患に有する患者では、IST先行が3例、同時が5例、肺血管拡張療法先行が6例、肺血管拡張療法のみが14例、不明が4例であった。すなわち、SLEを基礎疾患に有する患者では53%でPAH治療当初にISTが行われ、ISTが実施されていないのは29%、SScを基礎疾患に有する患者ではそれぞれ14%、75%、MCTDを基礎疾患に有する患者ではそれぞれ31%、

54%であった（いずれも不明を除く）。

表5. 免疫抑制療法と肺血管拡張療法との実施タイミング

| 基礎疾患 | 免疫抑制療法先行 | 同時 | 肺血管拡張療法先行 | 肺血管拡張療法のみ |
|------|----------|----|-----------|-----------|
| 全体   | 10       | 18 | 12        | 58        |
| SLE  | 3        | 6  | 3         | 5         |
| SSc  | 2        | 5  | 6         | 38        |
| MCTD | 3        | 5  | 4         | 14        |

## D. 考察

IST実施率は基礎疾患がSLEでは78%、MCTDでは50%、SScでは17%であった。SLEはMCTD、SScに比し高率で、MCTDはSScに比し高率であった。その中、ISTの対象病態がPAHであったのはSLEでは8例（57%）、MCTDでは6例（43%）、SScでは1例（13%）であり、適切にISTが選択実施されていた。

肺血管拡張療法と同時あるいは肺血管拡張療法に先行してISTが実施されていたのは基礎疾患がSLEの患者では53%、MCTDでは31%、SScでは14%であった。反対にISTが実施されなかったのはSLEで29%、MCTDでは54%、SScでは75%であり、基礎疾患によるISTへの期待度の違いを反映していた。

これらの結果からは、MCTD-PAHに対してももう少し積極的にISTを実施しても良いようにも思われるが、ISTの有効性はSLE>MCTD>SScであろうとの考え方に概ね合致し、適切にISTが選択されているものと考えられた。

## E. 結論

基礎疾患別のIST実施率やCTD-PAH治療当初よりのIST実施率はSLE、MCTD、SScの順であり、IST未実施率はSSc、MCTD、SLEの順であった。これらからはSLE-PAHではISTの有効性への期待が大きく、次にMCTD-PAHが続き、SSc-PAHでは低いと考えられていることに合致するものであった。この現状は、比較的適切にISTが実施されていることを示すものと考えられた。

## 文献

- 1) Sanchez O., Sitbon O., Jais X., et al. Immunosuppressive therapy in connective tissue diseases-associated pulmonary arterial hypertension. *Chest* 130(1): 182-189, 2006.
- 2) Jais X., Launay D., Yaici A., et al. Immunosuppressive therapy in lupus- and mixed connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension: a retrospective analysis of twenty-three cases. *Arthritis Rheum* 58(2): 521-531, 2008.
- 3) Miyamichi-Yamamoto S., Fukumoto Y., Sugimura K., et al. Intensive immunosuppressive therapy improves

pulmonary hemodynamics and long-term prognosis in patients with pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease. *Circ J* 75(11): 2668-2674, 2011

- 4) 吉田俊治. 肺高血圧症. 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班 研究代表者: 三森経世・編. 混合性結合組織病の診療ガイドライン (改訂第3版) 27-32, 2011年.

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kuhara T., Watanabe D., Ishida N., et al. Quantitative analysis of shedding of Epstein-Barr virus in saliva from patients with connective tissue diseases: a pilot study. *Int J Dermatol.* 50(7): 887-890, 2013
- 2) Otake T., Ashihara M., Nishino J., et al. Stressors and rheumatoid arthritis: changes in stressors with advances in therapeutic agents. *Rheumatol Int.* 33(4): 887-891, 2013.
- 3) 深谷修作, 芦原このみ, 胡桃沢芽久美. PGI2経口薬をベースとした併用療法 軽症肺動脈性肺高血圧症 (PAH) 患者におけるPGI2経口薬の長期使用経験 (第2報) 混合性結合組織病の2例. *Therapeutic Research* 34巻9号: 1198-1200, 2013.
- 4) 胡桃沢芽久美, 深谷修作. 混合性結合組織病の予後. *リウマチ科* 49巻6号: 691-698, 2013.

### 2. 学会発表

- 1) 深谷修作, 田中住明, 藤井隆夫, 桑名正隆, 松下雅和, 川口鎮司, 吉田俊治. 混合性結合組織病の肺動脈性肺高血圧症診断の改訂手引きの検証. 第1回日本肺高血圧学会.
- 2) 深谷修作, 胡桃沢芽久美, 高桑蓉子, 伊藤義浩, 加藤靖周, 吉田俊治. 膠原病にともなう肺動脈性肺高血圧症の診断・病態. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2013.
- 3) 胡桃沢芽久美, 深谷修作, 芦原このみ, 吉田晃子, 金森里美, 水野正巳, 平野大介, 登坂信子, 小野田寛, 西野譲, 加藤賢一, 吉田俊治. 強皮症患者のPH早期診断における運動負荷心エコー検査の有用性に関する検討. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2013.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
分担研究報告書

混合性結合組織病の肺動脈性肺高血圧症治療ガイドラインに関する研究  
—免疫抑制療法に対する医師の考え方—

研究分担者 深谷 修作 藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科 臨床准教授  
研究協力者 芦原このみ 藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科 助手  
研究代表者 吉田 俊治 藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科 教授

### 研究要旨

【目的および方法】混合性結合組織病（MCTD）の診療ガイドラインにおいて、肺動脈性肺高血圧症（PAH）の治療の1つとして記載されている免疫抑制療法（IST）に関して、その診療に携わる本研究班の臨床系班員が所属する施設の医師がどのように考えているかを調査した。【結果】全身性エリテマトーデス（SLE）に伴う PAH（SLE-PAH）や MCTD に伴う PAH（MCTD-PAH）に対する IST に期待する医師は 66 名（94.3%）、全身性硬化症（SSc）に伴う PAH（SSc-PAH）では 18 名（26.1%）であった。膠原病自体の活動性を伴わない膠原病性 PAH（CTD-PAH）に対する IST に期待する医師は 14 名（20%）であった。IST と肺血管拡張療法との関連では、肺血管拡張療法に IST を先行させる医師は 17 名、両者同時に開始する医師は 30 名、肺血管拡張療法を IST に先行して実施する医師は 17 名であった。【考察およびまとめ】SLE-PAH、MCTD-PAH に対する IST に期待する医師は 94.3%以上を占めていた。一方、SSc-PAH に対する IST に期待する医師も 26.1%存在し、さらなる啓蒙活動の必要性が示唆された。また、CTD-PAH 治療の当初より IST を実施する医師が 73%を占めており、多くの医師が CTD-PAH 治療における IST を評価していると考えられた。

### A. 研究目的

膠原病性肺動脈性肺高血圧症（CTD-PAH）では、基礎疾患である膠原病（CTD）の種類によっては免疫抑制療法（IST）が有効であることが報告されている。また、平成 22 年度の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（MCTD）の病態解明と治療法に関する研究」班にて作成された MCTD の診療ガイドライン<sup>1)</sup>においても、肺動脈性肺高血圧症（PAH）に対する治療法として免疫抑制療法（IST）が含まれている。そこで、この診療ガイドライン検証の一部として、IST に対する医師の考え方を調査し、診療ガイドラインの浸透度を評価することとした。

### B. 研究方法

CTD-PAH の診療経験を有する医師が多数所属していることが予想される、厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）「MCTD の病態解明、早期診断と治療法の確立に関する研究」班の臨床系班員が所属する施設で PAH 診療に従事している医師を対象とした。調査には質問紙法を用い、調査内容は①診療科、医師経験年数、PAH 診療年数、②全身性エリテマトーデス（SLE）、MCTD、全身性硬化症（SSc）に伴う PAH に対する IST の有効性に期待するか否か、③CTD 自体の活動性を伴わない CTD-PAH 例に対する IST の有効性に期待するか否か、④CTD 自体の活動性を伴わない CTD-PAH 例への IST 実施可否および実施していればその時期、⑤CTD-PAH への IST を考慮し始めた時期、⑥IST と肺血

管拡張療法開始のタイミングである。

（倫理面への配慮）

本研究では倫理的配慮が求められる患者情報は扱っていない。

### C. 研究結果

8 施設 70 名の医師から回答を得た。リウマチ内科医が 64 名、循環器内科医が 5 名、診療科未記入が 1 名であった。

表1. 基礎疾患ごとの肺動脈性肺高血圧症に対する免疫抑制療法への期待

|                   | 期待する        | 期待しない | 計   |
|-------------------|-------------|-------|-----|
| 全身性エリテマトーデス (SLE) | 66名 (94.3%) | 4名    | 70名 |
| 混合性結合組織病 (MCTD)   | 66名 (94.3%) | 4名    | 70名 |
| 全身性硬化症 (SSc)      | 18名 (26.1%) | 51名   | 69名 |

SLE に伴う PAH（SLE-PAH）に対する IST に期待するとの回答は 66 名（94.3%）、期待しないとの回答は 4 名であった。MCTD に伴う PAH（MCTD-PAH）に対してはそれぞれ 66 名（94.3%）、4 名、SSc に伴う PAH（SSc-PAH）ではそれぞれ 18 名（26.1%）、51 名であった（表 1）。

SLE-PAH に対する IST に期待しないと回答した医師 4 名で全員リウマチ内科医であった。その中 2 名は

MCTD-PAH、SSc-PAH への IST にも期待せず CTD-PAH に対する IST に否定的な意見を持っていた。残りの 2 名は MCTD-PAH への IST には期待するとの回答で、SSc-PAH に対する IST については期待する、期待しないがそれぞれ 1 名であった。

MCTD-PAH に対する IST に期待しないと回答した医師は 4 名で全員リウマチ内科医であった、前述の如くその中 2 名は CTD-PAH に対する IST に否定的な意見であり、残りの 2 名は SLE-PAH に対する IST には期待し、SSc-PAH に対する IST には期待しないとの回答であった。

表2. 膠原病の活動性を持たない肺動脈性肺高血圧症への免疫抑制療法に期待する医師の背景

| 医師経験年数 | PAH診療経験年数 | 診療科    | SLE-PAH | MCTD-PAH | SSc-PAH |
|--------|-----------|--------|---------|----------|---------|
| 34     | 10        | リウマチ内科 | ○       | ○        | ×       |
| 28     | 15        | リウマチ内科 | ○       | ○        | ×       |
| 25     | 25        | リウマチ内科 | ○       | ○        | ×       |
| 20     | 20        | リウマチ内科 | ○       | ○        | ×       |
| 14     | 9         | 未記入    | ○       | ○        | ×       |
| 8      | 5         | リウマチ内科 | ○       | ○        | ×       |
| 8      | 3         | リウマチ内科 | ○       | ○        | ×       |
| 10     | 4         | リウマチ内科 | ○       | ○        | ○       |
| 10     | 6         | 循環器内科  | ○       | ○        | ×       |
| 15     | 5         | リウマチ内科 | ○       | ○        | ×       |
| 25     | 23        | リウマチ内科 | ○       | ○        | ×       |
| 13     | 5         | 循環器内科  | ○       | ○        | ×       |
| 35     | 未記入       | 循環器内科  | ○       | ○        | ×       |
| 11     | 8         | リウマチ内科 | ○       | ○        | ×       |

CTD 自体の活動性を伴わない CTD-PAH 例に対する IST に期待するとの回答は 14 名で、リウマチ内科医が 10 名、循環器内科医が 3 名、診療科未記入が 1 名であった。全員が SLE-PAH、MCTD-PAH に対する IST に期待をし、SSc-PAH に対する IST に期待するのは 1 名のみであった (表 2)。また、CTD 自体の活動性を伴わない PAH 例に対する IST に期待すると答えた医師は期待しないと答えた医師に比し、医師経験年数が有意に長かった (図 1)。PAH 診療経験年数では有意差は認めなかったが同様の傾向を認めた。

CTD の活動性を伴わない例への IST は 2000 年以前より行われてはいるが、2005 年以降増加していることが判明した (図 2)。

CTD の活動性を伴わない CTD-PAH 例への IST を考え始めた時期としては、2000 年以降が多くを占めていた。また、医師経験年数や PAH 診療経験が短い程、これらの例に IST を考慮するまでの年数が短くなってきていることが判明した (図 3)。

循環器内科医 5 名は全員、SLE-PAH、MCTD-PAH に対する IST に期待し、SSc-PAH に対する IST には期待しないとの回答であった。CTD 自体の活動性を伴わない PAH 例に対する IST に期待すると 3 名が回答した。

IST と肺血管拡張療法との関連では、肺血管拡張療法に IST を先行させる医師は 17 名、両者同時に開始する医師は 30 名、肺血管拡張療法を IST に先行して実施する医師は 17 名、その他および未記入が 6 名であった。

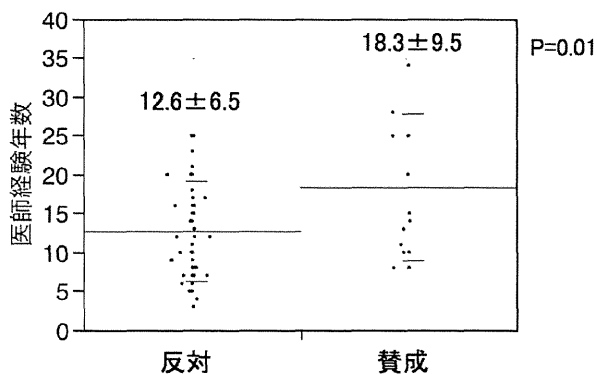


図1. 膠原病の活動性を持たない肺動脈性肺高血圧症への免疫抑制療法の賛否による医師経験年数

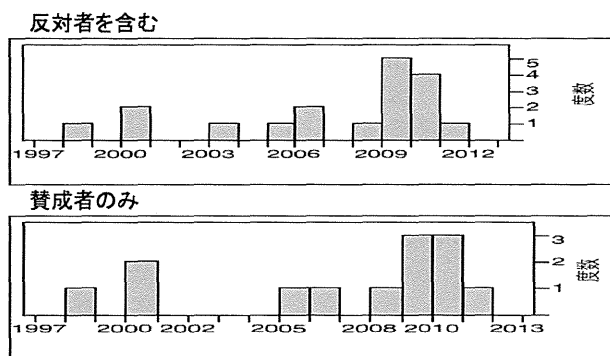
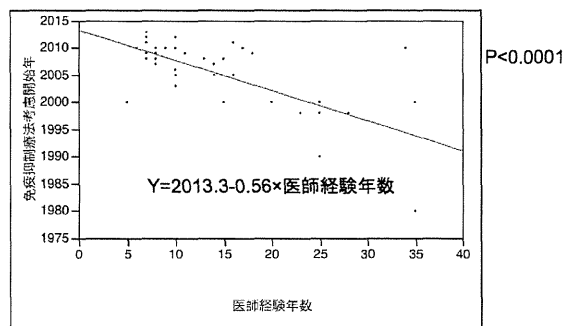


図2. 膠原病の活動性を持たない肺動脈性肺高血圧症に対する免疫抑制療法の実施時期



経験年数が長い医師ほど免疫抑制療法を考え始めた時期が早いのはもちろんであるが、傾きは-0.56と経験年数が短い医師ほど免疫抑制療法を考え始めるまでの期間が短くなっていることがわかる。

図3. 医師経験年数と免疫抑制療法を考え始めた時期との関連

## D. 考察

CTD-PAH の中でも SLE-PAH や MCTD-PAH では IST の有用性が報告されてきた<sup>2-4)</sup>。一方、SSc-PAH での IST の効果は否定的とされている<sup>2), 4)</sup>。CTD-PAH に対する診療経験が豊富であることが予想される施設における調査であるにもかかわらず、SSc-PAH に対する IST に 25% 以上の医師が期待すると答えており、さらなる啓蒙活動が必要と考えられた。CTD 自体の活動性を伴わない CTD-PAH に対し、2005 年以降 IST の実施症例が増加していた。また、CTD-PAH への IST を考え始めた時期とし