

- 16)川畑 仁人, 治療薬剤の進歩 低分子免疫抑制薬, 内科 107 巻 p658-664, 2011
 17)川畑 仁人, 基本的診療技能(第4回) 神経学的所見のとり方, 分子リウマチ治療 3 巻 p210-218, 2011

2, 学会発表

- 1, 第 41 回日本臨床免疫学会総会
 1)道下 和也, 川畑 仁人, 神崎 健仁, 赤平 理紗, 江里 俊樹, 山本 一彦, 修飾自己抗原テトラマーを用いた特異的 B 細胞除去による関節炎モデルマウスの治療 日本臨床免疫学会誌(0911-4300)36 巻 5 号 Page399
 2)江里 俊樹, 川畑 仁人, 今村 充, 神崎 健仁, 赤平 理紗, 道下 和也, 土肥 眞, 徳久 剛史, 山本 一彦, 免疫疾患のホットトピック 基礎から臨床まで 腸内細菌は Lymphopenia-Induced Autoimmunityにおける抗核抗体産生を誘導する 日本臨床免疫学会誌(0911-4300)36 巻 5 号 Page331(2013. 10)
 2, 第 42 回日本免疫学会学術集会
 3) Kazuya Michishita, Kimito Kawahata, Lisa Akahira, Toshiki Eri, and Kazuhiko Yamamoto, Targeting therapy of citrullinated antigen-specific B cells ameliorates collagen-induced arthritis in mouse model of rheumatoid arthritis.
 4)Toshiki Eri, Kimito Kawahata, Mitsuru Imamura, Takeyuki Kanzaki, Lisa Akahira, Kazuya Michishita, Makoto Dohi, Takeshi Tokuhisa, and Kazuhiko Yamamoto, Intestinal Microbiota Plays A Critical Role In The Production Of Antinuclear Antibodies In Lymphopenia-Induced Autoimmunity
 3, 第 42 回日本リウマチ学会
 5)土田 優美, 庄田 宏文, 住友 秀次, 久保 かなえ, 川畑 仁人, 山本 一彦, トシリズマブが奏功した成人発症 Still 病の 4 例 日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 57 回・22 回 Page298(2013. 03)
 4, 2013 American College of Rheumatology Annual Meeting
 6)Kazuya Michishita, Kimito Kawahata, Lisa Akahira, Toshiki Eri, and Kazuhiko Yamamoto, Targeting therapy of citrullinated antigen-specific B cells attenuates collagen-induced arthritis in mouse model of rheumatoid arthritis.
 7)Toshiki Eri, Kimito Kawahata, Mitsuru Imamura, Takeyuki Kanzaki, Lisa Akahira, Kazuya Michishita, Makoto Dohi, Takeshi Tokuhisa, and Kazuhiko Yamamoto, Intestinal Microbiota Plays A Critical Role In The Production Of Antinuclear Antibodies In Lymphopenia-Induced Autoimmunity
 5, 第 40 回日本臨床免疫学会
 8)修飾自己抗原を用いた自己反応性 B 細胞を標的とする選択的免疫疾患治療法の開発: 道下 和也, 川畑

- 仁人, 神崎 健仁, 赤平 理紗, 江里 俊樹, 山本 一彦, 日本臨床免疫学会誌 35 巻 4 号 Page344(2012. 08)
 9)全身性自己免疫制御における自己反応性 T 細胞の新たな分化経路の解明: 赤平 理紗, 今村 充, 川畑 仁人, 神崎 健仁, 道下 和也, 江里 俊樹, 土肥 眞, 山本 一彦, 日本臨床免疫学会誌 35 巻 4 号 Page333(2012. 08)
 10)B 細胞・抗原提示細胞・自己抗体 リンパ球減少下誘導増殖(LIP)は、特有の個体発生を有する濾胞性ヘルパー T(TFH)細胞の分化と異常 B 細胞応答性において重要な役割をもたらす(Lymphopenia-induced proliferation (LIP) triggers the development of follicular helper T (TFH) cells which have a distinctive ontogeny and a critical role in aberrant B cell responses)(英語): 江里 俊樹, 今村 充, 神崎 健仁, 川畑 仁人, 赤平 理紗, 道下 和也, 土肥 眞, 徳久 剛史, 山本 一彦, 日本臨床免疫学会誌 35 巻 4 号 Page308(2012. 08)
 6, 第 41 回日本リウマチ学会
 11)トシリズマブ投与にて病勢が抑えられた難治性成人発症ステイル病の 1 例, 森田 薫, 庄田 宏文, 桑原 里佳, 岩崎 由希子, 神崎 健仁, 住友 秀次, 久保 かなえ, 藤尾 圭志, 川畑 仁人, 山本 一彦, 日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 56 回・21 回 Page690(2012. 03)
 12)全身性自己免疫制御における自己反応性 T 細胞の新たな分化経路の解明: 赤平 理紗, 今村 充, 川畑 仁人, 神崎 健仁, 道下 和也, 江里 俊樹, 土肥 眞, 山本 一彦, 日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 56 回・21 回 Page421(2012. 03)
 7, 第 40 回日本免疫学会総会・学術集(2011 年)
 13, Mitsuru Imamura, Kimito Kawahata, and Kazuhiko Yamamoto. Novel differential pathway of autoreactive T cell in the thymus
 8, 第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集(2011 年)
 14)今村充, 神崎健仁, 川畑仁人, 山本一彦; Critical role of TFH in antinuclear antibody production during lymphopenia
 9, 第 39 回日本臨床免疫学会(2011 年)
 15)今村充, 神崎健仁, 川畑仁人, 山本一彦; 自己反応性 T 細胞の新たな分化・制御経路についての検討

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）
平成 23 年～平成 25 年度分担研究総合報告書

混合性結合組織病 (MCTD) の全国調査結果より推定される発症要因解析と新しい治療法

研究分担者 岡本 尚 名古屋市立大学大学院医学研究科 教授

研究要旨

本研究計画では、厚労省の厚生労働科学研究費の使途は、近年特定疾患として全国の医療機関より疾患登録がされている症例データを用いた解析を行い、与えられる情報の中に潜む発症要因を推定するとともに、得られた解析結果をもとに更に望ましい治療法の開発を進めることを目的とした。この3年間の本研究班内での活動として、私たちは以上の課題を正面から捉え、以下の報告書に具体的に示す重要な結論を得、さらに今後の本研究計画の発展につながる薬剤候補の発見を行った。詳細は本文を参照されたし。

A. 研究目的

MCTD は膠原病三疾患、SLE, PSS および PM・DM の臨床病像を併せ持ち、しかも免疫学的に細胞核内の RNP (ribonucleoprotein) 抗原に対する自己抗体を持つことを特徴とするとされる新たな膠原病の疾患単位であり、長い間その独立性が議論され続けた。我が国は 1972 年の米国の Sharp らによる MCTD 提唱早期よりこれを認める立場にあり、特定疾患の一つとして厚労省による支援を受け、重要な臨床および基礎医学的研究が継続的に行われてきたという独自の歴史を持つ。しかし、近年に至るまで特に米国ではその疾患独自性に対して批判が強く、世界的に疾患概念として認められるまでに時間がかかっている。このことも MCTD を他の膠原病とは異なる独自のものにしている。

しかしながら、その免疫学的特徴は際立っており、本報告書（第 1 部）で後に論ずる様に臨床的にも独自の要素を含み、臨床経過や症例管理上の合併症の評価を効率的に進めるためにも独立した疾患として扱うことは当然と思われる。

本報告書では、全国からの登録症例データの解析をもとにした発症機構の考察（第 2 部）およびこれらの症例データから示される MCTD 治療のための unmet needs をもとにした創薬を目指した研究成果（第 3 部）までを連続的に論じ、近い将来に本研究事業が進むべき方向性を示すことを目的とする。

第 1 部 MCTD は独立疾患か？

B. 研究方法

患者症例は、慶応病院内科を受診し、膠原病 3 疾患、SLE, PSS, PM/DM のいずれかの確定診断を受けた症例のうちで少なくとも 1 年間以上の経過観察を行うことのできた 331 例とした。全ての患者に対して 56 項目の臨床症状、臨床所見および検査所見の有無と各種抗核抗体を調べた。臨床症状などの所見の有無は経過を通

して確実に確認されたものを採用した。

これらの症状の中から頻度の極めて低い症候や欠落データを除いた 44 項目を選択し、主成分分析を実行した。

（倫理面への配慮）

本研究は全て後ろ向き研究であり、カルテ情報のみに基づいてデータ採取を行ったものである。また、本研究の結果を元に治療もしくは検査などの介入は行わなかったため、インフォームドコンセントを取得しなかった。

C. 研究結果

図 1 に主成分分析の結果得られた第 1 主成分と第 2 主成分を元に 2 次元散布図を作成し、さらにそれぞれの細領域ごとに症例数の度数を縦軸に表した 2 次元ヒストグラムを示した。作成した全対象例は色分けしたように 4 群に分けられた。それぞれ、SLE, PSS, PM/DM および新たに得られた『第 4 群』である。

ついで、この『第 4 群』と Sharp の提唱する MCTD との異同を検証した。表 1 は MCTD の 10 項目の臨床特徴の出現頻度を Sharp et al (1972) の当初の症例と比較したものである。この表から明らかのように、『第 4 群』では Swollen hand と Myositis の頻度が低く、逆に腎障害が 10% に認められた。また、その RNP 抗体陽性率は 50% であり、RNP 抗体単独とすると 33.8% と Sharp らの報告に比べて明らかに低頻度であった。

D. 考察

膠原病 3 疾患を対象として RNP 抗体を除いた膠原病の臨床所見を多変量解析することによって Sharp らが提唱した MCTD と類似の臨床像（「第 4 群」）を示した。しかし、その際に RNP 抗体は必ずしも「単独陽性」とする必要はなかった。この点は、最初に米国で一つの疾患概念をまとめあげる際に必要であった論理的要請

に基づくものであり、不自然なことは判断されなかった。しかしながら、少なくとも膠原病の呈する多彩な臨床症状の組み合わせの中にはMCTDのような新しい疾患概念が含まれていることが今回の統計解析の結果から明らかとなった。その背後には臨床認識が単一性を指向するという論理形式の特質に由来する部分が多いと考えられた。

他方、RNP抗体が引き起こし得る臨床病変の詳細とその病態生理学の解明は今後の研究成果に待たなくてはならないが、少なくとも特定の自己抗体が特定の臨床病像を規定するというパラダイムを支持する結果であると考えられた。

RNP抗体の実態は明らかにされていないが、本抗体の存在は膠原病を成り立たせる未知の分子基盤の存在を示唆した。他の自己抗体についても同様な対応が考えられるか、特定病像との対応が見られない自己抗体は果たして病態生理学的特徴としては何が違うのか、など多くの重要な課題が残された。

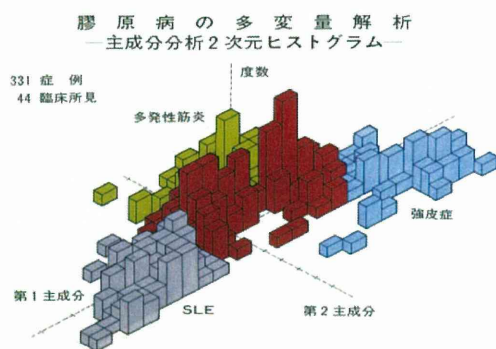


図1 膠原病3疾患の症例の主成分分析の結果の2次元散布図。全対象症例331例を第1および第2主成分の数値によってプロットし、縦軸上に度数分布として表した。第4群をこの中で赤で示した。表1に第4群に属す症例の呈した臨床像をSharpらの提唱したオリジナルのMCTD症例の臨床像と項目別に出現頻度を比較して示した。「手指の腫脹」および「筋炎症状」を除き著しい近縁性が示された。

表1 第4群とSharp MCTD症例の臨床所見の比較

	第4群	MCTD (Sharp)	%
多発性関節炎	71	96	
手指の腫脹 (swollen hand)	33	88	
Raynaud 現象	74	84	
筋炎症状	28	72	
リンパ腺腫脹	49	68	
発熱	63	32	
漿膜炎	10	24	
腎障害	10	0	
白血球減少症	49	52	
高γグロブリン血症	73	80	

E. 結論

膠原病3疾患の診断の確定した331例の呈した44項目（自己抗体のデータを含まない）に至る臨床所見を元に主成分分析を行って、多次元での臨床解析をおこなったところ、当初各症例が診断を受けた既存の膠原病の集団とは別に第4の集団が抽出された。この集団を構成する症例の臨床所見と自RNP抗体を中心とする自己抗体の出現を対比させたところ、RNP抗体単独陽性例は第4群の約1/3ほどに過ぎなかった。このことは、MCTDの概念は必ずしも自己抗体のみに規定される血清学的概念ではないことを強く示唆した。しかし、これと同時に、RNP抗体を持つことは明らかに臨床では複数の膠原病の症状を併せ持つという特質と強く関連していることを示した。また、このことはRNP抗体を出現させた病態生理学的背景に膠原病の本態に直結する要素の存在を示唆した。

第2部 MCTDの発症に関与する遺伝子(群)数の発症年齢分布解析からの推定

A. 研究目的

我が国で混合性結合組織病(MCTD)の疾患概念はほぼ確定され、その共通する病態の解析結果をもとに新しい治療的試みが進められている。そこで、この数年間の本疾患患者の厚労省特定疾患への登録情報を用いて、実際に行なわれているMCTDの治療法の実態調査と適用について調査することを第1の目的とした。MCTDを含む全身性自己免疫疾患の成因として、いわゆる「相加的ポリジーン」モデルが提唱されている。自己抗体は健康人でもエイジングによって低力価のものが検出されるが、症状発現に結びつくほどの高力価になるという量的形質については効果の小さな複数のポリジーンに支配される、と考えられている。しかし、この「複数」さのオーダーをあらかじめ知っておくことは、今後GWASなどを適用して遺伝子解析を進める際の「落としどころ」として極めて重要である。事実、多くの原因不明の疾患の発症機構の研究の中でどれほど多数の遺伝的要因が潜んでいるかを求めることがヒトゲノム解明以降の多くの臨床研究の課題でもある。そこで、今年度の全国調査の中で発症年齢の分布型を解析し、発症機構に関する情報の概略を得ることを第2の目的とした。

B. 研究方法

解析対象は、2006年から2011年の6年間に各年度で新規に登録された全国MCTD症例、総数3040例、とした。まず対象症例の記載疫学的項目を年度ごとに調べ、年度ごとのばらつきの有無を調べた後、実際に施行された治療法の実態を調べた。プレドニソロン一日投与量、各種免疫抑制剤およびPG製剤などの末梢血管

拡張療法、と臨床症状との関連を調査した。また、発症年齢分布の分布型を調べ、かかる発症過程を最も合理的に記述しうる分子機構を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は全て後ろ向き研究であり、カルテ情報のみに基づいてデータ採取を行ったものであり、本研究の結果を元に治療もしくは検査などの介入は行わなかったため、インフォームドコンセントを取得しなかった。

C. 研究結果

MCTD 患者に対するプレドニソロン (PSL) 治療の実態: 3040 例中 2102 例 (69.1%) が診断より 1 年以内に PSL が投与されていた。その内 58.3% は PSL 一日量が 20mg 以上であり、パルス療法を受けていた患者は全体の 6.5% であった。免疫抑制剤の使用頻度はこの数年間で毎年増加し、2011 年は 2006 年の 2.5 倍であった。特定の症状との関連はなかった。PG 製剤の使用頻度は 12% であった。

発症年齢分布は 2006-2008 の 3 年間と 2009-2011 の 3 年間で全国ほぼ同様であり、症例の偏りが少ないと判断され、以後の解析に耐えうることを示唆された。MCTD の発症年齢分布は、機械故障を解析するために広く用いられワイブル分布によって記載された (図 2)。

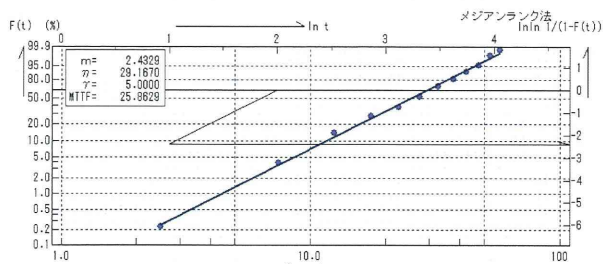


図 2 MCTD 全国登録症例 3040 例の年齢を取った際の累積発症分布のワイブルプロット。ここでは疾患発症から臨床的に把握されるまでの「潜伏期間」を 5 年間で仮定することによりワイブル機械故障モデルに従うことを示している。この結果より、MCTD 発症がおおよそ 2-3 段階の独立な事象によって引き起こされることが考えられた。

また、その解釈に多段階発症モデルを適用したところ、発症潜伏期を 5 年と推定した場合にはおおよそ 2-3 段階の過程で発症に至ると推定された (後述)。

D. 考察と結論

以上の結果は、MCTD に対する PSL 治療が単独で十分な場合と、肺高血圧症等を合併した場合あるいは強度のレーノー現象を伴った場合には局所循環改善療法を組み合わせる必要性のあること、さらに MCTD の治療には例え PSL に免疫抑制剤や肺高血圧症に対する対症療

法を組み合わせても治療効果は十分ではなく、新しい治療戦略を構築する必要性 (unmet needs) のあることが示唆された。

なお、発症年齢分布型の解析結果は、本疾患の発症が 2-3 つという比較的少数の独立事象から成ることを示唆した。これは必ずしも発症に関連する遺伝子の数を意味するものではなく、実際には 2-3 の独立した遺伝子ネットワークを担う個々の遺伝子のどこかでそれぞれ異常が蓄積された結果であることを示している、と解釈された。

E. 結論

以上、全国の MCTD 症例は比較的均質な集団であり、十分に統計学的解析に耐え得るものであると考えられた。また、MCTD の治療法は現行のものでは不十分であり、新しい治療法が必要である (unmet needs) ことが強調された。なお、今回行った全国登録患者の調査結果を用いた解析は十分に有用性が高く、さらにマクロの視点からの治療法の有効性評価にも耐え得るものであり、しかも発症機構の解明にも有用であると考えられた。

第 3 部 MCTD における unmet needs と新規治療薬の開発研究

A. 研究目的

MCTD や SLE などの全身性自己免疫疾患に対する治療薬の選択肢は極めて限られており、しかも PSL や免疫抑制剤など非選択的な薬剤が主体である。一方でこれらの疾患の複雑な病態の分子レベルの理解が進んだ。その中で免疫炎症応答における一連の遺伝子発現制御に関わる誘導型転写因子 NF- κ B の作用が病因解明の鍵としてのみならず治療の標的としても注目されるようになった。NF- κ B は、通常は発生の早い段階で除去される自己反応性リンパ球の生存にも関与することが示唆されている。NF- κ B は細胞内シグナル伝達系を介して活性化されるがその経路には「古典的」と「非古典的」経路の二つの独立なものが存在する。前者に対する阻害化合物は早くから開発が進んだが、その作用が普遍的であり、個体レベルで強い副作用が出現するため一部を除き薬剤開発には至っていない。他方、後者の経路に対する特異的阻害剤はこれまでになかった。我々は後者の経路で中心的な役割を担う IKK α に対する特異的阻害剤を初めて見出し報告した (Asamitsu et al, 2008; 特許申請中)。その IKK α 特異的阻害作用と小動物を用いた個体レベルでの生物活性を調べたので、その結果を報告する。

B. 研究方法

薬剤化合物はキナーゼが共通に使用する ATP に類似

するヌクレオシド化合物による NF- κ B 作用のスクリーニングによって見出した。阻害活性を認めた化合物の IKK α および β に対する直接の阻害活性は in vitro kinase assays, endogenous assay と exogenous assay によって行った。今回は化合物の生物活性をコラーゲン誘導関節炎 (CIA) を感受性マウスに誘導し、リウマチ類似関節炎の出現阻止効果と治療効果によって評価した。

(倫理面への配慮)

当研究課題は該当せず。

C. 研究結果

ATP の糖部分を炭素環に置換した NAM (noraristeromycin) は培養細胞における NF- κ B 依存性遺伝子発現を μ M オーダーで抑制した。次いで、細胞に内在する IKK 複合体を免疫沈降し精製した IKK α を加えて in vitro kinase assay を行ったところ、IKK α 複合体による作用を特異的に阻害した。この作用は細胞にタグ付き IKK α 遺伝子を共発現させて得た IKK α 複合体で再現性よく見られたが、IKK β 遺伝子を共発現させた場合には阻害活性は見られなかったことから IKK α に対する特異性が確認された。また、マウスを用いた collagen-induced arthritis (CIA) の実験系で調べたところ、比較的低容量で preventive にも therapeutic にも高い有効性が得られた (Ito et al., Mod Rheum. 2014, in press)。図 3 は発症予防効果を示すが、CIA の発症早期に投与した際の治療効果も有意に観察された。

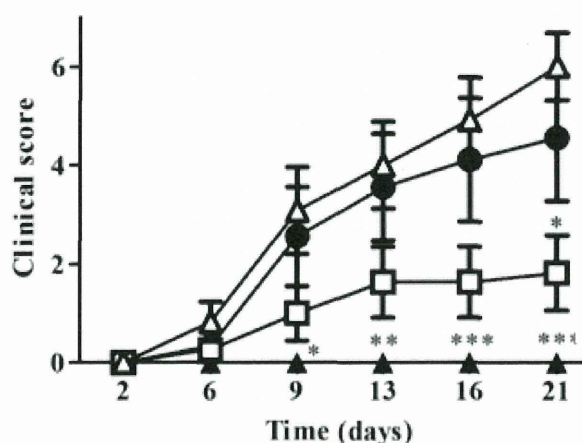


図 3 NAM 投与による CIA マウスモデルでの RA 様関節炎の発症予防効果。動物実験は一群あたり 9-12 頭で実施。NAM は 0, 0.03, 0.1, 0.3 mg/kg 投与した。縦軸は関節炎の臨床的所見のスコア、各点の偏差は SEM で示した。

D. 考察

IKK α を中核とする「非古典的」NF- κ B 活性化経路が自己免疫疾患と深く関わっていることを示唆する報告

は数多く存在する。また、上記の実験から NAM は IKK α に対する選択的で強い阻害効果を持ち、しかも生物学的にも高い有効性を示すことが明らかになった。現時点ではまだ affordable な MCTD の動物実験モデルもしくは細胞培養系モデルが存在しないために MCTD に対する治療効果については不明であるが、今年度の研究で CIA では個体レベルでの有効性が立証できた。また、MCTD に高頻度に合併する肺高血圧症の培養細胞実験モデルを構築中であるので、次年度以降にその効果を検討すべきであると考えている。

E. 結論

IKK α は「非古典的」NF- κ B 活性化経路の中核分子であり、MCTD を始めとする自己免疫疾患に対するより特異的な治療標的と考えられる。我々が見出した NAM およびその誘導体がその有力な候補化合物である可能性が実験的に示された。

F. 研究発表 (総括)

1. 論文発表

- Victoriano AFB, Imai K, Togami H, Ueno T, Asamitsu K, Suzuki T, Miyata N, Ochiai K, Okamoto T.: Novel histone deacetylase inhibitor NCH-51 activates latent HIV-1 gene expression. *FEBS Lett.* 2011; 585: 1103-1111.
- Asamitsu K, Hibi Y, Imai K, Victoriano AF, Kurimoto E, Kato K, Okamoto T.: Functional characterization of human cyclin T1 N-terminal region for human immunodeficiency virus-1 Tat transcriptional activation. *J. Mol. Biol.* 2011; 410: 887-895.
- Victoriano AF, Okamoto T.: Transcriptional control of HIV replication by multiple modulators and their implication for novel anti-viral therapy. <Review> *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011. 28:125-138.
- Tan Gana NH, Victoriano AF, Okamoto T.: Evaluation of online miRNA resources for biomedical applications. <Review> *Genes Cells.* 2011. 17:11-27.
- Imai K, Yamada K, Tamura M, Ochiai K, Okamoto T.: Reactivation of latent HIV-1 by a wide variety of butyric acid-producing bacteria. *Cell Mol Life Sci.* 2012. 69: 2583-2592.
- Cueno ME, Imai K, Ochiai K, Okamoto T.: Cytokinin dehydrogenase differentially regulates cytokinin and indirectly affects hydrogen peroxide accumulation in tomato leaf. *J Plant Physiol.* 2012. 169: 834-838.
- Tan Gana NH, Onuki T, Victoriano AFB, Okamoto T.: MicroRNAs in HIV-1 infection: an integration of viral and cellular interaction at the genomic level. <Review> *Frontiers in Microbiology,* 2012. 24;3:306.
- Imai K, Victoriano AF, Ochiai K, Okamoto T.: Microbial Interaction of Periodontopathic Bacterium rphyromonasgingivalis and HIV-Possible Causal Link of Periodontal Diseases to AIDS Progression.

- <Review> *Curr HIV Res.* 2012. 10:238-44.
- 9) Imai K, Ochiai K, Okamoto T.: Microbial interaction between HIV-1 and anaerobic bacteria producing butyric acid: its implication is AIDS progression. <Review> *Future Medicine* 2012. 7: 1005-1014
- 10) Cueno ME, Imai K, Okamoto T, Ochiai K.: Overlapping glycosylation sequon influences the glycosylation pattern of a chimeric protein expressed in tomato leaf and callus. *J Biotechnol.* 2013 Mar 10;164(1):9-12.
- 11) Okamoto T.: Dual Use in Pathogen Research. *JDR.* 2013. 8:714-716.
- 12) Victoriano AF, Imai K, Okamoto T.: Interaction between endogenous bacterial flora and latent HIV infection. *Clin Vaccine Immunol.* 2013. 20: 773-779.
- 13) Suzuki T, Kasuya Y, Itoh Y, Ota Y, Zhan P, Asamitsu K, Nakagawa H, Okamoto T, Miyata N.: Identification of highly selective and potent histone deacetylase 3 inhibitors using click chemistry-based combinatorial fragment assembly. *PLoS One.* 2013. 8: e68669
- 14) 岡本 尚: 2.病原体研究のデュアルユース (dual use) 問題について *ウイルス* 2013. 63(1): 89-92.
- 15) 日本学術会議基礎医学委員会病原体研究に関するデュアルユース問題分科会: 提言 病原体研究に関するデュアルユース問題 日本学術会議 2014.
- 16) Ito M, Hamano T, Komatsu T, Asamitsu K, Yamakawa T, Okamoto T.: A novel IKK α inhibitor, noraristeromycin, blocks the chronic inflammation associated with collagen-induced arthritis in mice. *Mod Rheumatol.* 2014 (in press)
2. 学会発表
- 1) Kaori Asamitsu and Takashi Okamoto
Involvement of the N-terminal region of human Cyclin T1 for the trans-activation of Human Immunodeficiency Virus-1 transcription by Tat
Transcription Elongation in Health and Disease Lucca(Italy) 2011Sep 11-16.
- 2) Kaori Asamitsu and Takashi Okamoto
Involvement of the N-terminal region of human Cyclin T1 for the trans-activation of Human Immunodeficiency Virus-1 transcription by Tat
6th GERMANY-JAPANESE HIV-Symposium Bochum(Germany), 2011 Nov 21-22.
- 3) Takashi Okamoto
Development of a novel anti-HIV compound against virus specific Tat transcriptional activator
38th Annual Convention PSBMB Manilla(Phillipines), 2011 Dec 6-9.
- 4) 金澤 智、岡本 尚
関節リウマチモデルマウス、D1CC マウスにおける早期間質性肺炎発症過程における異所性一次小節 第34回日本分子生物学会 横浜 2011年12月13日~12月16日
- 5) 金澤 智、岡本 尚 関節リウマチモデルマウス (D1CC マウス) における pirufenidone 投与による間質性肺炎抑制効果について 第56回日本リウマチ学会 総会・学術集会 東京 2012年4月26日~4月28日
- 6) Takaichi Hamano, Masumi Ito, Kaori Asamitsu, Keiichi Tozawa, Tomio Yamakawa and Takashi Okamoto
Noraristeromycin Inhibited the Cell Proliferation and motility, and LED to Apoptosis of Human Prosta TE Cancer Cell Lines
EFMC-ISMCM 2012 22nd International Symposium on Medicinal Chemistry Berlin(Germany), 2012 Sep 2-6.
- 7) 金澤 智、岡本 尚 関節リウマチモデル (D1CC マウス) における間質性肺炎と pirufenidone 投与による間質性肺炎抑制について 第33回日本炎症・再生医学会 福岡 2012年7月5日~6日
- 8) Neil H.Tan Gana, Ann Florence B.Victoriano, Yurina Hibi, Kaori Asamitsu, Hiroaki Uranishi, Takashi Okamoto: Interactions of Cellular microRNAs in HIV-1 latently infected cells, AIDS 2012. Washington DC(USA), 2012 Jul 22- 27.
- 9) Ann Florence B.Victoriano, yurina Hibi, Neil H.Tan Gana, Kaori Asamitsu and Takashi Okamoto: Role of UHRF1 in transcriptional regulation and maintenncance of HIV-1 latency. AIDS 2012, Washington DC(USA), 2012 Jul 22- 27.
- 10) Takashi Okamoto: Structural Bioinformatics of molecular recognition between HIV-1 Tat and host favtor Cyclin T1. UST Symposium, Manilla (Phillipines), 2013 Nov 26.
- 11) NH Tan Gana, T Onuki, AFV Victoriano, K Asamitsu and T Okamoto, Towards understanding the dynamics of cellular microRNAs targeting HIV-1 LTR and its proposed roles in antiretroviral therapy development Keystone Symposia Conference RNA Silencing Seattle (USA), 2014 Jan 31-Feb 5.
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

混合性結合組織病を対象とした指尖血管内皮機能評価法の確立と 非侵襲的な肺高血圧症早期診断への応用に関する研究

研究分担者 北里大学医学部 膠原病感染内科学 田中 住明 診療准教授
研究協力者 北里大学医学部 膠原病感染内科学 和田 達彦 助教
研究協力者 北里大学医学部 膠原病感染内科学 小川英佑 助教
研究協力者 北里大学医療衛生学部 リハビリテーション学科 増田 卓 教授
研究協力者 北里大学医学部 膠原病感染内科学 廣畑 俊成 教授

研究要旨

混合性結合組織病の代表的な臨床症状かつ肺動脈性肺高血圧症に関連性が知られているレイノー現象に注目した。その現象に伴う指尖動脈の血管内皮拡張機能と心拍変動の周波数領域解析から心肺自律神経機能を分析し、肺動脈性肺高血圧症などの心肺臓器病変に対する早期診断への可能性を探索した。End-PAD システムを用いた NO 依存性血管内皮拡張機能は、レイノー現象がみられる混合性結合組織病、全身性エリテマトーデス、および全身性強皮症患者で低下していた。これらの膠原病の中では、肺動脈性肺高血圧症を合併する場合にはさらに低下していた。レイノー現象誘発試験において、これら膠原病患者では正常健常者とは異なる自律神経活動が観察されたが、個人のばらつきが大きく定性および定量の基準の作成までには至らなかった。しかし、この試みよりレイノー現象がみられる膠原病患者では、恒常的な交感神経活動の亢進が推測された。この事を 24 時間ホルター心電図から得られた心拍変動で解析し、レイノー現象がみられた膠原病 3 疾患において常時の交感神経活動の亢進（全身性強皮症>混合性結合組織病>全身性エリテマトーデス）が認められた。一方、副交感神経活動には差は認められなかった。以上より、レイノー現象が認められる混合性結合組織病では、恒常的な交感神経活動亢進が認められ、レイノー現象に NO 依存性血管拡張障害が関与し End-PAD システムで評価できる事、レイノー現象と肺動脈性肺高血圧症 (PAH) との間に病態生理的な関連性が存在することが推察された。心拍変動の周波数領域解析から、混合性組織病患者の恒常的な交感神経活動の亢進を評価する非侵襲的アプローチは、レイノー現象の評価や治療への応用、PAH の早期診断に応用できる可能性があると考えられた。

A.研究目的

MCTD に合併する PAH の非侵襲的早期診断法・評価方法の確立のために、MCTD に特徴的な症状であるレイノー現象に伴う指尖動脈の血管内皮機能と心拍変動から解析する心肺自律神経機能との関連性を検討することを主目標とし、その心肺自律神経機能の特徴を臨床応用する可能性を検討することを副目標とした。

B.研究方法

① 指尖動脈の血管内皮機能評価

健常者 6 名と、MCTD 患者 11 名及びレイノー現象を有する全身性エリテマトーデス (SLE) 患者 4 名、全身性強皮症 (SSc) を対象とした。指尖動脈の血管内皮機能評価には Endo-PAT システムを利用した。指尖内皮機能を指標とする反応性充血指数 (RHI: Reactive Hyperemia Index) と、指尖動脈の硬化を指標とする Augmentation Index (AI) を測定した。

② レイノー現象における自律神経活動の評価

これらの患者でレイノー現象誘発試験を行った (安静常温 (5-10 分) → 冷水に両手を沈め (5 分) → 常温 (10 分))。心拍モニター (ホルター心電図) を装着して

行った。

③ 24 時間ホルター心電図

MCTD 患者 10 名、SSc 患者 4 名、SLE 患者 4 名の日常診療で行われた 24 時間ホルター心電図から収集した心拍を用いて心拍変動解析を行った。

④ 心拍変動解析

MemCalc™法を用いて周波数領域解析心拍変動解析を行い、高周波数成分 (HF: high frequency, 0.15-0.40Hz)、低周波数成分 (LF: low frequency, 0.05-0.15Hz)、エントロピーを求めた。

LF/HF、HF、エントロピーはそれぞれ、副交感神経活動の指標、交感神経活動の指標、状況変化への頑健さの指標となるが、これらと心拍数を用いて、レイノー現象誘発に伴う自律神経活動の記載を試みた。

⑤ 統計解析

周波数解析及び統計解析は、MemCalc、JMP 及び STATA を用いて行った。群間のパラメータ比較には分散分析を用いた。また、各疾患における自律神経活動指標の比較には、線形混合モデル (fixed effect: 疾患群、

random effect:患者)を用いて行った。

(倫理面への配慮)

Endo-PAT を用いた血管内皮機能評価、及びホルター心電図は、保険収載されている。本研究は探索的な要素が強いため、観察研究の手法を選択し診療記録を用いて行った。

C. 研究結果

① 指尖動脈の血管内皮機能評価

健常者コントロール群と、MCTD 及びレイノー現象を有する SLE の患者群の年齢(平均±標準偏差)には有意差はなかった(32.3±12.5 歳 vs. 40.0±13.2 歳, $p=0.016$)。

RHI は、コントロール群(のべ9測定)の 2.21 ± 0.15 に比べ、レイノー現象を有する患者群(のべ24測定)では 1.43 ± 0.08 と有意に低下していた($p < 0.001$)。次に、コントロール、MCTD 患者、SLE 患者、SSc 患者の群間比較において RHI を検討した(図 1-A)。SSc 患者群の RHI は他群のいずれに対しても有意に低下していた($F=13.41$, $p < 0.05$)。MCTD 患者と SLE 患者を対象とした場合、PAH を合併する患者の RHI は 1.75 ± 0.10 で、PAH を合併していない患者の 1.49 ± 0.06 に対して低い傾向が観察された($p=0.073$, 図 1-B)。ROC 解析によるカットオフ値は 1.57 であった(感度 0.88 、特異度 0.69)

年齢で調節した AI は、コントロール群の $-3.59 \pm 10.91\%$ に比べ患者群では $12.54 \pm 7.61\%$ と有意に高かった($p=0.0246$)。

② レイノー現象における自律神経活動の評価

レイノー現象前後における健常者コントロール4名及びMCTD患者8名を対象に14回レイノー現象誘発検査を行った(図2)。レイノー現象の出現は健常者では誘発されず、患者群では約20%で誘発された。MCTD患者ではベースラインの LF/HF が高値で、HF はとエントロピーは低下していた。冷水刺激時に伴う HR と LF/HF の上昇は、正常者コントロール群と MCTD 患者(レイノー現象陽性者)群との間に優位な差は認められなかった。しかし、HF とエントロピーの低下は両群間で有意に異なり、冷水刺激時には両群間でほぼ同じ値になった。この動態には個体間変動が大きく、定量的に記載することは不可能であった。

③ 24時間ホルター心電図による心拍変動の MemCalc 解析

平時の心肺自律神経活動の差異が②の観察より示唆された。このため、レイノー現象のある膠原病患者(肺高血圧症や心疾患を合併していないことを日常診療において鑑別さされている)に施行された24時間ホルター心電図の心拍変動データ(MCTD 10 シリーズ、SSc 5 シリーズ、SLE 4 シリーズ)を解析した。HF(対数変換)には疾患群間に有意差は認められなかった。LF/HF(対数変換)は、高い順から SSc(平均 0.686605 , $95\%CI$

$0.498072 - 0.875138$)、MCTD(平均 0.474485 , $95\%CI$: $0.385598 - 0.563372$)、SLE(0.255910 , $95\%CI$: $0.101954 - 0.409867$)であった。SSc、MCTD では、SLE より有意に高値であった(図3)。心臓超音波による推定肺動脈圧が 35mmHg を越える症例では、LF/HF(対数変換)が高値である傾向が認められた。

D. 考察

End-PAT による計測により、レイノー現象を合併している MCTD、SLE 及び SSc 患者の RHI が健常者コントロールと比べて有意な低下が確認された。RHI の低下は、NO 依存性血管拡張機能の低下を反映することが知られているので、レイノー現象には指尖動脈 NO 依存性血管拡張能の低下していることがわかった。今回の検討では、SSc 患者ではレイノー現象の有無とは関係なく正常者コントロールや MCTD、SLE 患者より RHI が低下していた。これは、End-PAT システムが指尖部の容積変化を感知するため、SSc 患者の指尖部の皮膚硬化が結果に影響したと推測した。レイノー現象を有する MCTD 及び SLE 患者の層別解析において、PAH を合併していた患者の RHI がさらに低い傾向が認められたことは、PAH と指尖動脈レベルの NO 依存性血管拡張障害に関連性があることを推測させた。

本研究では、指尖動脈の血管内皮機能(すなわち NO 依存性血管拡張能)と心肺自律神経活動の関連性を評価するために、レイノー現象誘発試験における心肺自律神経活動のダイナミズムを描写することを、心拍変動の周波数解析により試みた。レイノー現象を有する患者(本研究では MCTD 患者)では、平時の交感神経系機能(LF/HF)の亢進と、エントロピーの低値から自律神経活動の単調性が示された。しかし、そのダイナミズムのバリエーションは様々であり、今回の検討ではそのダイナミズムを代表するパラメータを定義するまでには到達することができなかった。

レイノー現象誘発試験において、ベースラインの交感神経系活動が亢進していたため24時間の心拍変動データを解析した。解析には、個人差に伴う変動を考慮するため10秒間隔集積されたパラメータ(8640測定/人)を線形混合モデルで解析した。レイノー現象を有する3つの膠原病で、交感神経活動の恒常的亢進状態が明らかにされた。さらに、その活動性は高い順に SSc、MCTD、SLE と疾患ごとに有意差があり、同じレイノー現象が観察される疾患での差が明らかにされた。また、推定肺動脈圧と交感神経活動の関連が認められたことは、肺高血圧症の診断や治療の指標に応用できる可能性を示唆した。

本研究により、End-PAT を用いた指尖動脈レベルの血管内皮機能検査を利用してレイノー現象を評価できることが示された。その応用は、レイノー現象の診断や治療効果判定に用いられることにできると考える。さらに、さらに MCTD における自律神経機能の特徴、すなわち恒

常的な自律神経活動の亢進及びレイノー現象出現時における自律神経活動のエントロピー低下が明らかにされた。これらの特徴が、肺高血圧症や推定肺動脈圧と関連した。これらの事実から、MCTDの治療に自律神経活動異常の是正も重要であり、介入ターゲットであると考えられる。

E. 結論

End-PAD システムにより、レイノー現象に伴う指動脈のNO依存性血管拡張能の低下が観察された。レイノー現象が認められるMCTDでは、恒常的な交感神経活動亢進が認められ、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いること、レイノー現象と肺動脈性肺高血圧症(PAH)との間に病態生理的な関連性が存在することが推察された。また、心拍変動の周波数領域解析から、MCTD患者の恒常的な交感神経活動の亢進が観察された。これらの非侵襲的検査によるアプローチは、レイノー現象の評価や治療への応用、PAHの早期診断に応用できる可能性があると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 田中住明, 星健太, 廣畑俊成. 【関節リウマチを疑ったら 診断・治療のUpdateと鑑別すべき膠原病】 関節リウマチと鑑別が必要な疾患とその特徴【若年～中年で多い疾患】 Behcet(ベーチェット)病. *Medicina* 2011; 48: 214-7.
2. 田中住明, 星健太. 【肺循環・肺高血圧を識る 診断・治療の現在】 治す 新規治療薬の Potential soluble guanylate cyclase 刺激薬. *Heart View* 2011; 15: 95-8.
3. 田中住明, 小川英佑. 【内科診療における論点】 膠原病・リウマチ 混合性結合組織病に合併する肺高血圧症にステロイド治療は有効か? *内科* 2011; 107: 1434-9.
4. 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.
5. Kelley JM, Monach PA, Ji C, Zhou Y, Wu J, Tanaka S, Mahr AD, Johnson S, McAlear C, Cuthbertson D, Carette S, Davis JC, Jr., Dellaripa PF, Hoffman GS, Khalidi N, Langford CA, Seo P, St Clair EW, Specks U, Stone JH, Spiera RF, Ytterberg SR, Merkel PA, Edberg JC, Kimberly RP. IgA and IgG antineutrophil cytoplasmic antibody engagement of Fc receptor genetic variants influences granulomatosis with polyangiitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011; 108: 20736-41.

6. 田中住明. 強皮症腎の診断と治療の進歩: 強皮症腎クリーゼ. *リウマチ科* 2012, 48(4): 417-421
7. Hashimoto A, Arinuma Y, Nagai T, **Tanaka S**, Matsui T, Tohma S, Endo H, Hirohata S. Incidence and the risk factor of malignancy in Japanese patients with systemic sclerosis. *Intern Med.* 2012, 51(13): 1683-8.
8. Hasegawa M, Asano Y, Endo H, Fujimoto M, Goto D, Ihn H, Inoue K, Ishikawa O, Kawaguchi Y, Kuwana M, Muro Y, Ogawa F, Sasaki T, Takahashi H, Tanaka S, Takehara K, Sato S. Investigation of prognostic factors for skin sclerosis and lung function in Japanese patients with early systemic sclerosis: a multicentre prospective observational study. *Rheumatology* 2012, 51(1): 129-33.
9. Hasegawa M, Asano Y, Endo H, Fujimoto M, Goto D, Ihn H, Inoue K, Ishikawa O, Kawaguchi Y, Kuwana M, Muro Y, Ogawa F, Sasaki T, Takahashi H, **Tanaka S**, Takehara K, Sato S. Serum chemokine levels as prognostic markers in patients with early systemic sclerosis: a multicenter, prospective, observational study. *Mod Rheumatol.* 2013. 23(6):1076-84
10. 田中住明. 我が国における肺高血圧症の最新治療の現状 膠原病性肺高血圧症の標準的治療の現状. *Therapeutic Research* 2013. 34(9) 1213-1215
11. 田中住明, 荘 信博. 【肺高血圧症の最新治療戦略】 膠原病に伴う肺高血圧症 治療の開始時期とゴール. *Circulation* 3(10) 2013, 44-52
12. 田中住明. 【リウマチ・膠原病における重要臓器障害と難治性病態・病態と治療の進歩】 トピックス 難治性の病態 肺高血圧症." *日本内科学会雑誌* 2013. 102(8) 2613-2620

2. 学会発表

1. 田中住明, 小川英佑, 星健太, 田中淳一, 和田達彦, 永井立夫, 岡田純, 廣畑俊成. リウマチ性疾患の肺病変 膠原病に合併する肺動脈性肺高血圧症の罹患率についての検討. 第55回日本リウマチ学会総会・第20国際リウマチシンポジウム 2011. 7 (神戸) (同抄録集336)
2. 田中住明. 膠原病診療における肺高血圧症のピットフォール. 55回日本リウマチ学会総会・20回国際リウマチシンポジウム 2011.7 (神戸) (同抄録集 678)
3. 田中住明, 小川英佑, 和田達彦, 広畑俊成. シンポジウム1: 「肺循環診療・研究の現状と今後の課題」 肺循環診療・研究の現状と今後の課題. 第1回日本肺循環学会学術総会 2012. 9 (東京)
4. Hoshi K, **Tanaka S**, Wada T, Tanaka J, Nagai T, Hirohata S. Retrospective Analysis of the

Efficacy of Tacrolimus in Rheumatoid Arthritis: Suggestive Synergistic Effects with Methotrexate. ACR/ARHP Annual Scientific Meeting 2011, Chicago IL USA, 2011(11) (Arthritis and Rheumatism 2011; 63(10supp): S499)

5. **Tanaka S**, Hoshi K, Tanaka J, Wada T, Okada J, Nagai T, Hirohata S. Serum Brain Natriuretic Peptide is a Reliable Marker for Survival of Pulmonary Arterial Hypertension Associated with Connective Tissue Diseases, Including Systemic Sclerosis, Mixed Connective Tissue Disease and Systemic Lupus Erythematosus. ACR/ARHP Annual Scientific Meeting 2011 Chicago IL USA, 2011(11) (Arthritis and Rheumatism 2011; 63(10supp) S577)
6. Hashimoto A, Endo H, Matsui T, Tohma S, **Tanaka S**, Hirohata S. The Risk of Cancer in Japanese Patients with Systemic Sclerosis. ACR/ARHP Annual Scientific Meeting 2011 Chicago IL USA, 2011(11) (Arthritis and Rheumatism 2011; 63(10supp): S600)
7. **Tanaka S**, Ogawa E, Wada T, Nagai T, Okada J and Hirohata S. Left Ventricular Diastolic Dysfunction may play a Role in Pathophysiology and Poor Prognosis of Pulmonary Arterial Hypertension Associated with Systemic Sclerosis. 76th ACR/ARHP Annual Scientific Meeting 2012.11(Washington DC)
8. **田中住明**. シンポジウム4: 「リウマチ膠原病諸疾患の薬効評価法: 進歩と問題点」第33回日本臨床薬理学会学術総会 2012.11 (沖縄)
9. **田中住明**. 長期治療成績から考察する膠原病性肺動脈性肺高血圧症の治療戦略. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会・第22回国際リウマチシンポジウム2013. 4 (京都) (同抄録集 711)
10. **田中住明**. 膠原病性肺高血圧症治療における免疫抑制薬・肺動脈性肺高血圧症治療薬の使用のポイント. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会・第22回国際リウマチシンポジウム2013. 4 (京都) (同抄録集 724)
11. **田中住明**, 小川英佑, 和田達彦, 永井立夫, 廣畑俊成. シンポジウム1 膠原病関連PAHの治療戦略「膠原病関連PAHの治療戦略」についての現状. 第2回日本肺循環学会学術総会 2013. 6 (東京)
12. **田中住明**, 松枝祐, 莊信博, 原亮祐, 和田達彦, 廣畑俊成. シンポジウム3 膠原病に伴う肺高血圧症の特殊性と最新知見「肺高血圧症臨床分類における膠原病合併肺高血圧症の特殊性」第1回日本肺高血圧症学会学術総会 2013. 10 (横浜)
13. **Tanaka S**, Arinuma Y, Wada T, Nagai T, Okada J and Hirohata S. Left Ventricular Dysfunction Reflected By Higher Serum Brain

Natriuretic Peptide Accounts For Poorer Prognosis of Pulmonary Arterial Hypertension Associated with Systemic Sclerosis. 77th ACR/ARHP Annual Scientific Meeting 2013.10(San Diego)

G. 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

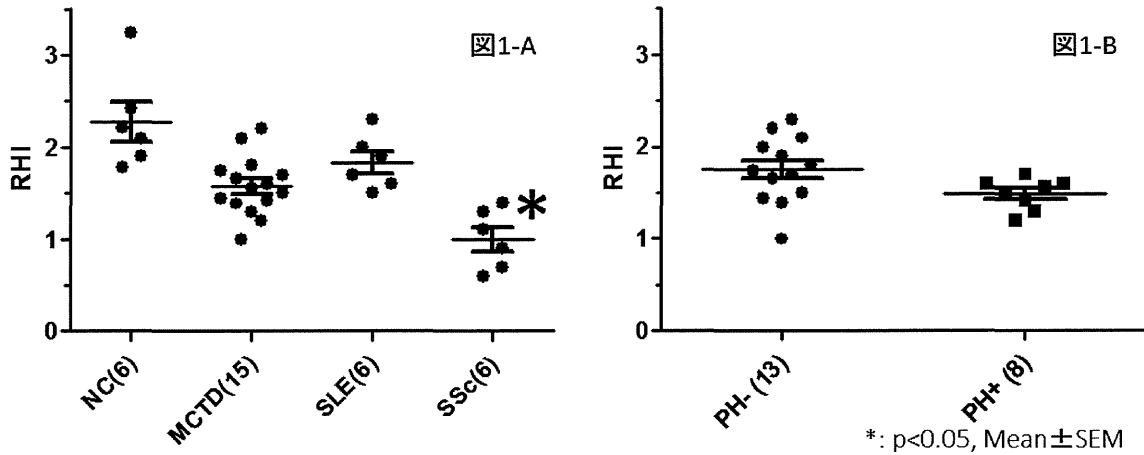


図1. レイノー現象を有する膠原病 (A) と PH(肺高血圧症) (B) における RHI (反応性充血指数) の差異
 Mean±SEM, *ANOVA F=13.41, Post hoc comparison (Bonferroni's) p<0.05

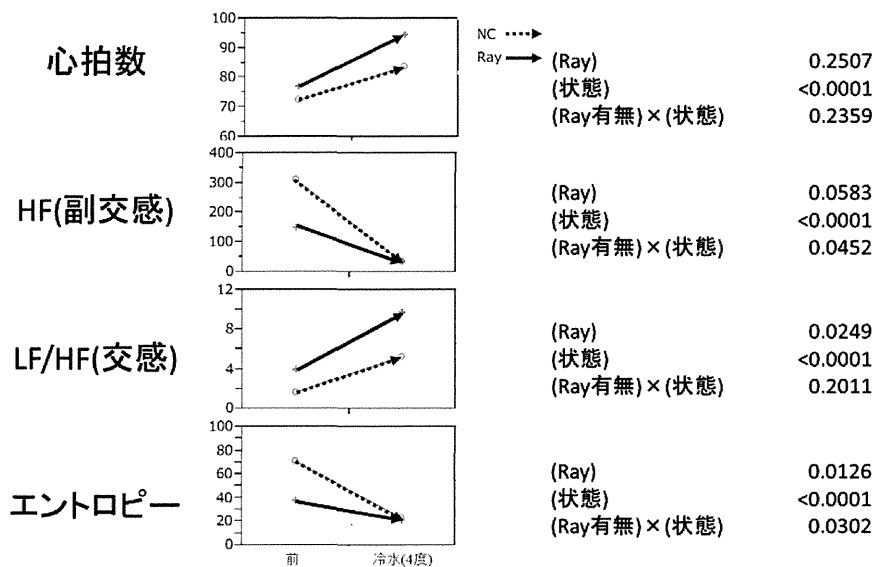


図2. レイノー現象誘発試験における心拍変動解析
 常温、冷水刺激下、回復期の状態間での変動を、レイノー現象患者群と非レイノー現象患者間で MANOVA 解析を用いて検討した

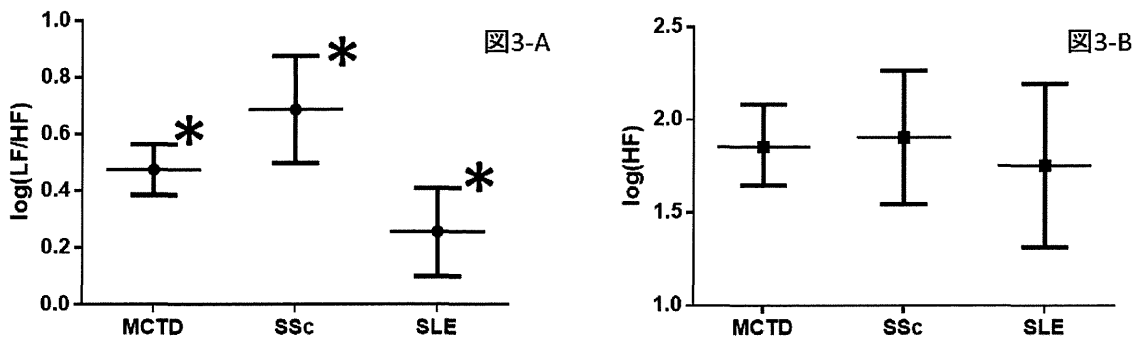


図3. 24時間心拍変動の解析
 MemCalc 法を用いた周波数解析で得た交感神経活動指標 (A), 副交感神経活動指標 (B) を線形混合モデルで解析した * : p<0.001 で各群間に有意差あり

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
平成 23 年～平成 25 年度分担研究総合報告書

膠原病に併発した肺高血圧症の非侵襲的検査法に関する研究

研究分担者 松下雅和 1)

研究協力者 小笠原倫大 1)、建部一夫 2)、天野浩文 3)、野澤和久 3)、多田久里守 1)、関谷文男 1)、今高之、草生真規雄 1)、仲野総一郎 1)、安藤誠一郎 1)、箕輪健太郎 1)、小田啓介 1)、山路 健 4)、田村直人 4)、高崎芳成 5)

1) 順天堂大学医学部膠原病内科 助教、 2) 順天堂大学医学教育研究室 准教授

3) 順天堂大学医学部膠原病内科 准教授、 4) 同 前任准教授、 5) 同 教授

研究要旨

混合性結合組織病(MCTD)は他の膠原病に比し、肺高血圧症(PH)の合併率が高く、日常生活動作(ADL)や生命予後を大きく左右する因子となる。PHの病態把握および確定診断には右心カテーテル(RHC)検査が必須であるが、MCTD症例の全てに施行することは困難であり、さらにPHの経過観察においても頻回に行う検査には向かない。本研究では、胸部CTスキャンや呼吸機能検査さらには患者血清を用いてPHの合併や評価、RHCを施行すべき対象の的確な指標になりうるバイオマーカーなどについて検討した。

A.研究目的

混合性結合組織病(MCTD)は全身の様々な臓器に障害を来しうる疾患である。なかでも肺高血圧症(PH)は患者の日常生活動作(ADL)や生命予後を大きく左右する合併症で、突然死の原因にもなりうる。近年、エンドセリン受容体拮抗剤(ERA)やホスフォジエステラーゼ5(PDE-5)阻害剤、プロスタグランジンI2(PGI2)製剤などPHに対して有効な治療薬が多数登場している。しかし、これらの薬剤を用いても、肺動脈がリモデリングを来した状態であればその有効性は限られることが多く、早期の治療介入が求められている。一方、PHの病態形成早期は無症候であり、特異的な自覚症状などがないことも診断が遅れる一因となっている。PHの早期診断および病態の把握に右心カテーテル検査(RHC)は必須であるが、RHCを全例に行うことは困難であり、さらに短期間かつ頻回の経過観察にも向かない検査法である。

本研究では呼吸機能検査や胸部CTスキャン、血液検査など日常の診療で簡便に施行可能な検査所見などから、非侵襲的に高い確率でPHの合併を予測する方法、さらには心臓

超音波検査(UCG)以外でPHの経過観察に適した非侵襲的検査法、RHCを行うべき症例を的確に選別しうる方法の確立を目的とした。

B.研究方法

当科に受診歴のあるMCTDを始めとした膠原病症例のうち、UCGにおいて推定右室圧が40mmHg以上またはRHCで平均肺動脈圧が25mmHg以上を示した症例を対象とした。

対象症例の呼吸機能検査における%VCや%DLCO、胸部CTスキャン上で測定した主肺動脈径、右肺動脈径や大動脈径などを利用し、UCGでの推定右室圧との関連を検討した。さらに心血管イベントのリスクファクターとして注目されている患者血清中のasymmetric dimethylarginine(ADMA)やLDL receptor relative with 11 binding repeats(LR11)値との相関関係を解析した。

ADMAは1992年Vallanceらにより内因性NO合成(eNOS,iNOS,nNOS)阻害物質として報告され、NOの生物学的活性が低下した病態で上昇が見られる。さらに活性酸素を過剰に産生し、内皮機能を低下させることが知られている。一方、LR11はLDLレセプタースー

パーファミリーに属する可溶性受容体として、1996年にクローニングされた。本レセプターは、細胞膜上のウロキナーゼ受容体と複合体を形成し、細胞外マトリックスの分解、細胞骨格の再構成を促進し、平滑筋細胞の遊走能を促すとされている。両者とも血管内皮の増殖や動脈硬化の指標となることが知られており、その機序からPHのバイオマーカーとなりうる可能性が示唆される。

PHが疑われた症例においてはその治療前、または治療開始から可能な限り早期の血清、さらには経時的に血清採取が可能であった症例に対しては、全てを測定対象とした。なお、結果的にPHを来たす原因として、肺動脈性肺高血圧症(PAH)か否かの確定に至らない症例が多数存在するため、本研究においてはPHとして示した。

(倫理面への配慮)

すべての症例は番号化して検体や検査結果など、個人の特定は不可能な状態で評価した。

C. 研究結果

主に平成23年度および24年度はMCTDをはじめとしたPHを併発した膠原病患者の呼吸機能検査所見や胸部CTスキャン所見、血清ADMA値、血清LR11値とUCGによる推定右室圧との相関について検討を行った。対象とした症例数はMCTDが23例(42.6%)、全身性エリテマトーデス(SLE)が14例(25.9%)、強皮症(SSc)が7例(13.0%)、血管炎症候群が4例(7.4%)、シェーグレン症候群(SjS)が3例(5.6%)、多発性筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)が2例(3.7%)、関節リウマチ(RA)が1例(1.9%)であった。男女比や年齢などは表1に示した如くである。

UCGによる推定右室圧はMCTDで平均40.2mmHgであり、このうち死亡例での平均は85.0mmHgと有意に高値であった。同様にMCTD以外の膠原病においては、それぞれ51.0mmHg、80.0mmHgであった(図1)。

次に、これらの症例の血清を用いてADMA、LR11、NT-pro BNP、尿酸値を測定した。ADMAはMCTD、SSc、SLE、PM/DM、RA、血管炎、SjSにおいてそれぞれ0.58μMol/l、

0.59μMol/l、0.58μMol/l、0.77μMol/l、0.71μMol/l、0.95μMol/l、0.61μMol/lであり、血管炎の症例で有意に高値であった。一方、LR11は同様に20.3ng/ml、12.8ng/ml、17.0ng/ml、18.8ng/ml、10.2ng/ml、11.7ng/ml、9.5ng/mlを示した(表2)。PHの合併が見られない膠原病症例(MCTD:40例、SLE:10例、SjS:9例、RA:8例)で検討したところ、ADMAは0.52μMol/lでLR11は10.6ng/mlであった。

PHの症例が多く見られたMCTD、SSc、SLEで呼吸機能検査結果から%VC/%DLCOおよび%FVC/%DLCOを計算した。MCTD、SSc、SLEで前者はそれぞれ1.63、1.86、1.87であり、後者は1.55、1.84、1.79であった。両者はUCGでの推定右室圧との相関は見られなかったが、PH合併・非合併膠原病症例で検討すると、間質性肺炎(IP)の有無にかかわらず有意差をもって高値であった(図2)。

次に、胸部CTスキャンが行われた症例で主肺動脈径(m-PA)および右肺動脈径(r-PA)を測定し、上行大動脈径(Ao)との比を計算した。図3に示したごとくMCTD、SSc、SLEではr-PA/Aoは0.75、0.78、0.77であった。これらもIPの併発にかかわらず一定した値であり膠原病を基礎疾患に有するPH症例で有意に高値であった。

平成25年度はPHの早期発見および経過観察として、主に血清ADMA値が有効であるか否かを検討した。対象症例の疾患、男女比、UCGによるスクリーニング時の推定右室圧、平均年齢およびPHに対する治療状況の内訳は表3に示した如くである。なお、本研究においてはPHの合併が見られないMCTD25例を比較対象群とした。

これらの症例の血清ADMA値を図4に示す。血清ADMA値はPHが疑われた症例では $0.55 \pm 0.15 \mu\text{mol/L}$ であり、PH非合併例の $0.47 \pm 0.07 \mu\text{mol/L}$ に対して統計学的に有意に高値であった。しかし図5に示したように、これらの値と推定右室圧に相関はみられず($p=0.12$)、血清ADMA値はPH合併の指標になりうるが、推定右室圧を反映する因子としては適さないことが示された。基礎疾患に膠

原病を有さない PAH 症例において、血清 ADMA は肺動脈圧と相関するとの報告も散見されるが、膠原病を基礎疾患に有する PH(CTD-PH)では、血清 ADMA 値から肺動脈圧を予測することは困難であること示唆された。

次に、血清 ADMA 値が内因性の NO 合成酵素阻害薬であることから、結果的に NO の代謝を阻害する PDE-5 阻害剤の投与が血清 ADMA 値に影響をおよぼすか否かを検討した。対象症例を ERA 治療群および PDE-5 阻害剤治療群の 2 群に分け、それぞれの群における推定右室圧と血清 ADMA 値の関係について考察した。

図 6 に示したように ERA 投与群、PDE-5 阻害剤投与群とも血清 ADMA 値と推定右室圧に相関は見られなかった ($p=0.99$ および $p=0.25$)。

D.考察

PH の分類として現在、臨床の場で最も頻用されているのがダナポイントの分類である。本分類において PAH は 1 群に位置しており、膠原病を基礎疾患に有する PAH も項目に列挙されている。しかしながら、MCTD をはじめとした膠原病患者は IP や心筋障害の併発、血液凝固機能異常などの合併も多くみられ、1 群に分類されうる PAH も心筋の拡張障害 (2 群) や間質性肺疾患 (3 群) を伴っている可能性があり、複数の要因で病態が形成されていることが予測される。

近年、ERA や PDE-5 阻害剤を始めとした様々な治療薬が CTD-PH 症例にも積極的に投与されており、患者の ADL や生命予後にも改善が見られている。しかし PH の早期発見、さらには経過中に PH を併発しうるか否かを予測することは困難であり、労作時呼吸苦などの自覚症状が出現した時点ではすでに病態は進行していることが多い。PH 症例の生命予後改善のためには早期に診断し、治療を開始することが必須である。RHC は肺動脈圧のみならず肺血管抵抗や肺動脈楔入圧を正確に知ることができ、PH の病態を詳細に把握することが可能である。MCTD や SSc 患者において PH の早期発見をするには、可能な限り

RHC を施行すべきであるが、全医療施設で簡便に行える検査ではなく、侵襲度もやや高い。したがって PH の合併が予測される症例を的確に選択して行うことが望ましいと考えられる。

本研究では非侵襲的に PH の併発を予測、または経過観察する方法として呼吸機能検査や胸部 CT スキャン、血清 ADMA 値、血清 LR-11 値などについて検討した。結果、一部は PH 合併のスクリーニングになりうることが示された。CTD-PH は基礎疾患にステロイド剤や免疫抑制剤、血管拡張剤などが PH 発症以前から投与されている症例が多く、さらに前述したように単純に 1 群のみの PH ではないことも予測された結果が得られなかった要因と思われる。今回、検討した症例は UCG での推定右室圧を基準にしている。UCG から求める推定肺動脈圧と RHC による実測値には一定の相関は見られるが、必ずしも一致しないことは周知の事実である。今後は、対象症例数を増やすとともに RHC を施行した症例で、同様の検討を行い、さらに他の血管病変のリスクファクターなどの影響も考慮した解析を行う必要がある。

E.結論

胸部 CT スキャンや呼吸機能検査、血清 ADMA は CTD-PH 合併の使用として有用である。しかし早期診断に適しているとはいえない。今後も PAH の早期発見法について検討を行っていく必要がある。

F.研究発表

1.論文発表

Murayama G, Ogasawara M, Nemoto T, Yamada Y, Ando S, Minowa K, Kon T, Tada K, Matsushita M, Yamaji K, Tamura N, Takasaki Y. Clinical miscount of involved joints denotes the need for ultrasound complementation in usual practice for patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2013 Jul-Aug;31(4):506-14.

Ogasawara M, Murayama G, Yamada Y, Nemoto T, Kageyama M, Toyama S, Kusaoi M, Onuma S, Kon T, Sekiya F, Sugimoto K, Matsudaira R, Matsushita M,

Tada K, Kempe K, Yamaji K, Tamura N, Takasaki Y. Autofeedback from ultrasound images provides rapid improvement in palpation skills for identifying joint swelling in rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 2012 Jun;39(6):1207-14.

Ogasawara M, Kageyama M, Kusaoi M, Onuma S, Kon T, Sekiya F, Sugimoto K, Matsudaira R, Matsushita M, Tada K, Kempe K, Yamaji K, Tamura N, Takasaki Y. Recent trends in use of nonbiologic DMARDs and evaluation of their continuation rates in single and dual combination therapies in rheumatoid arthritis patients in Japan. Mod Rheumatol. 2012 Nov;22(6):831-6.

Ogasawara M, Tamura N, Kageyama M, Onuma S, Kusaoi M, Toyama S, Sekiya F, Matsudaira R, Nawata M, Tada K, Matsushita M, Kempe K, Amano H, Morimoto S, Yamaji K, Takasaki Y. Single-center, retrospective analysis of efficacy and safety of tacrolimus as a second-line DMARD in combination therapy and the risk factors contributing to adverse events in 115 patients with rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol. 2012 Feb;31(2):251-7.

縄田益之, 松下雅和, 松平蘭, 山田浩史, 金田和彦, 浅野正直, 山中健次郎, 村上昭弘, 高崎芳成 混合性結合組織病における U1 RNP70-Kd 蛋白と U1 RNA による立体構造を対応抗原とする抗 U1 RNP 抗体の臨床的意義の検討 (Clinical Significance of Anti-U1 RNP Antibodies Recognizing The Conformation Structure on U1 RNA/70-kd Protein Complex in Patients with Mixed Connective Tissue Disease) 順天堂医学 57 巻 5 号 477-487

2. 学会発表

松下雅和, 小笠原倫大, 山路健, 田村直人, 高崎芳成. 膠原病性肺高血圧症の診断と治療. 日本リウマチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 57 回・22 回 707 (2013. 03)

小西博成, 蔣楽, 大西朋, 長岡鉄太郎, 松下雅和 肺高血圧における血管平滑筋細胞増殖マーカーである LR11 の役割 順天堂医学 58 巻 4 号 354 (2012. 08)

松下雅和, 河本敏雄, 山路健, 田村直人, 高崎芳成 当院における抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体の臨床的検討 日本臨床免疫学会会誌 35 巻 4 号 377 (2012. 08)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

予定なし

2. 実用新案登録

予定なし

3. その他

特記すべきことなし

表 1

対象症例

基礎疾患	人数(%)	男:女(人)	年齢	推定右室圧	治療薬		
					ERA	PDE5	PGI
MCTD	16 (51.6%)	2:14	55.1(±19.0)	54.1(±16.9)	9	1	12(1)
SLE	7 (22.6%)	2:5	50.1(±19.2)	59.3(±17.9)	3	2	3(1)
SSc	2 (6.5%)	0:2	67.5(±3.5)	60.0(±7.0)	1	0	2
PM/DM	2 (6.5%)	0:2	48.0(±2.8)	60.0(±0.0)	0	2	1
その他	4 (13.0%)	2:2	62.5(±21.9)	73.8(±26.9)	2	2	3
Total	31 (100%)	6:25	55.3(±18.1)	58.5(±17.9)	15	7	21(2)
Control	25	3:22	61.5(±14.4)	32.9(±2.6)	0	0	7

図 3

PH治療薬によるADMAへの影響

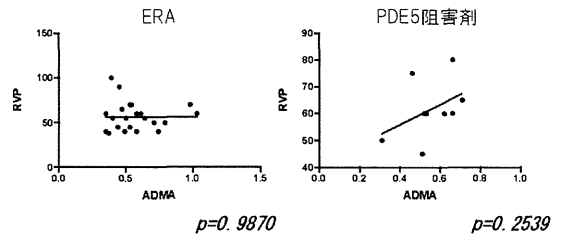


図 1

CTD-PHにおける血清ADMA

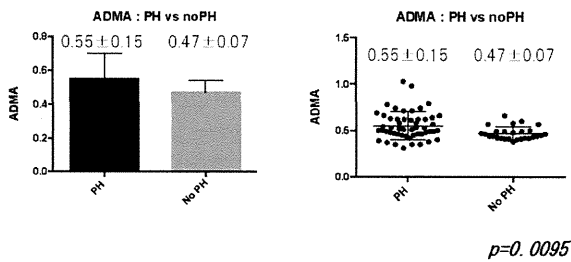


表 2

CTD-PHにおけるADMAの経時的変化(1)

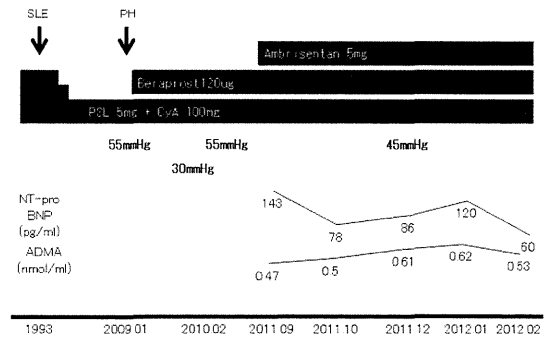


図 2

推定右室圧とADMA

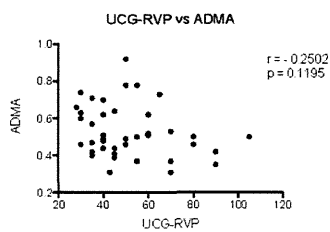
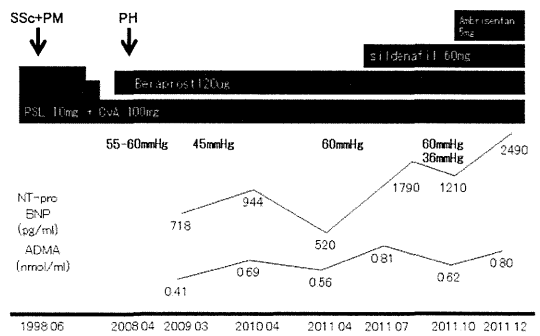


表 3

CTD-PHにおけるADMAの経時的変化(2)



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
平成 23 年度～平成 25 年度分担研究報告書

混合性結合組織病の予防に関する研究

研究協力者	鷲尾 昌一	聖マリア学院大学・看護学部	教授
研究分担者	深谷 修作	藤田保健衛生大学・リウマチ・感染症内科	准教授
研究分担者	桑名 正隆	慶応義塾大学・リウマチ内科	准教授
研究分担者	田中 住明	北里大学医学部・膠原病感染内科学	診療准教授
研究分担者	松下 雅和	順天堂大学・膠原病リウマチ科	助教
研究分担者	藤井 隆夫	京都大学・リウマチ性疾患制御学	准教授
研究分担者	川口 鎮司	東京女子医科大学・膠原病リウマチ痛風センター	臨床教授
研究分担者	川畑 仁人	東京大学・アレルギーリウマチ科	特任講師
共同研究者	豊島 泰子	四日市看護医療大学・看護学部	教授
共同研究者	森 満	札幌医科大学・公衆衛生学	教授
共同研究者	廣田 良夫	大阪市立大学・公衆衛生学	教授
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

MCTD は原因不明の自己免疫疾患で、レイノー現象と抗 U1RNP 抗体陽性を特徴とするが、抗 U1RNP 抗体陽性は MCTD だけではなく、SLE や強皮症、多発性筋炎・皮膚炎、関節リウマチなどほかの膠原病・リウマチ性疾患にも認められ、これらの症状や検査所見は MCTD に特異的なものではない。海外では結合組織病 (Connective Tissue Disease) 発症のリスクを検討した研究はあるが、MCTD 単独の発症リスクについてはよく解っていない。海外とは対照的に、わが国では抗 U1RNP 抗体陽性というだけで安易に MCTD の診断がなされている場合もある。MCTD の発症リスクを検討するための症例対照研究は診断基準をはっきりと定め、共通の疾患単位を症例として症例対照研究を行う必要があり、リウマチ専門医と疫学者が共同で、症例対照研究を行い、MCTD の発症リスクを解明することは MCTD を予防するために大変意義深いことである。先の研究では MCTD と SLE の発症リスクの比較を行ない、パン食（オッズ比 3.47、95%信頼区間 1.36-8.87）は MCTD のリスク、歩行（オッズ比 2.74、95%信頼区間 1.23-6.10）と膠原病の既往歴（オッズ比 4.45、95%信頼区間 1.04-19.16）は SLE 発症のリスクであった。今回、さらに、SLE に加え、強皮症、多発性筋炎の発症リスクと比較検討を行ない、MCTD 発症のリスク因子を検討した。生活習慣では 1 日 30 分以上の歩行は MCTD、SLE、強皮症、多発性筋炎のいずれの発症リスクを上昇させたが、スポーツ（週 3-4 回以上）は有意な関係を示さなかった。食生活ではコーヒー（1 日 2-3 杯以上）、西洋式の食事様式（パン食を週 4-6 回以上、かつ、コーヒーを 1 日 2-3 杯以上または紅茶を 1 日 2-3 杯以上）は MCTD、SLE、強皮症、多発性筋炎のいずれの発症リスクを上昇させ、そのオッズ比は MCTD、SLE、強皮症、多発性筋炎のいずれにおいてもコーヒーのオッズ比よりも大きなオッズ比を示し、食生活の欧米化が MCTD 発症のリスクである可能性が示唆された。既往歴では手術が MCTD と SLE の発症リスクを上昇させたが、強皮症や多発性筋炎・皮膚筋炎の発症リスクとは意味のある関係を示すことはできなかった。手術に伴う感染やストレスが MCTD 発症のリスクである可能性が示唆された。今回の検討では有病例が含まれており、今後、新規発症例を中心とした研究を行う必要がある。

A. 研究目的

混合性結合組織病 (Mixed Connective Tissue Disease, 以下 MCTD と略す) は 1972 年に Sharp ら¹⁾ によって提唱された疾患で、全身性エリテマトーデス (Systemic Lupus Erythematosus, 以下 SLE と略す)、強皮症、多発性筋炎にみられる症状が混在し、血清学的に抗 U1RNP 抗体陽性を特徴とする。

MCTD は原因不明の自己免疫疾患で、1982 年に厚生省の特定疾患に指定されている^{2, 3, 4)}。男女比は 1:13~16 で女性に多く、好発年齢は 30~40 歳代である²⁾。MCTD に認められる特徴的な症状と検査所見としてはレイノー現象と抗 U1RNP 抗体陽性である²⁾ が、抗 U1RNP 抗体陽性は MCTD だけではなく、SLE や強皮症、多発性筋炎・皮膚炎、関節リウマチなどほかの膠原病・リウマチ性疾患にも認められるほか、抗 U1RNP 抗

体陰性であっても SLE や強皮症、多発性筋炎の混合所見を認めることがあり、これらの症状や検査所見は MCTD に特異的なものではない^{2, 3, 4)}。このため、海外には MCTD という疾患概念を否定する医師もいる^{2, 3)}。

海外では結合組織病 (Connective Tissue Disease) 発症のリスクを検討した研究^{5, 6)}はあるが、結合組織病には SLE や強皮症、多発性筋炎・皮膚炎、関節リウマチ、overlap 症候群などほかの膠原病・リウマチ性疾患が含まれており⁷⁾、MCTD 単独の発症リスクについてはよく解っていない。藤井³⁾は海外とは対照的に、わが国では抗 U1RNP 抗体陽性というだけで安易に MCTD の診断がなされているようであると述べている。厚生労働省の MCTD 診断基準 (表 1)⁴⁾は治療および予後に差がないという理由で、ある一つの膠原病の診断基準を満足する症例や複数の膠原病の診断基準を重複して満たす症例が含まれている⁸⁾。

このため、MCTD の発症リスクを検討するための症例対照研究では除外基準を含めた診断基準をはっきりと定め、共通の疾患単位を症例として症例対照研究を行う必要があり、リウマチの専門医と疫学者が共同で、症例対照研究を行い、MCTD の発症リスクを解明することは MCTD を予防するために大変意義深いことである。

我々はすでに女性患者を症例、非膠原病患者を対照とした症例対照研究行ない MCTD と SLE の発症のリスクを比較した⁹⁾。年齢補正の発症リスクは MCTD では喫煙 (オッズ比 2.20、95%信頼区間 1.08-4.48)、パン食 (オッズ比 1.93、95%信頼区間 1.00-3.72) (表 2) が、SLE では喫煙 (オッズ比 2.13、95%信頼区間 1.08-4.19)、飲酒 (オッズ比 2.03、95%信頼区間 1.02-4.02)、歩行 (オッズ比 2.15、95%信頼区間 1.09-4.24) (表 3)、膠原病の既往歴 (オッズ比 4.77、95%信頼区間 1.23-18.60) (表 5) であった。表 6 に示すように、年齢に加え、喫煙、飲酒で補正しても、パン食 (オッズ比 3.47、95%信頼区間 1.36-8.87) は MCTD のリスク、歩行 (オッズ比 2.74、95%信頼区間 1.23-6.10) と膠原病の既往歴 (オッズ比 4.45、95%信頼区間 1.04-19.16) は SLE 発症のリスクであった。パン食が MCTD のリスクであることは西洋風の食生活を表していると考えられる。また、歩行が SLE のリスクであることは、日光暴露の機会が多いことを支援していると考えられた。

今回は SLE に追加して、強皮症、多発性筋炎の症例対照研究を同時に行なうことで、MCTD で関連が見られないが他の膠原病で関連が見られる項目も検討することで、MCTD の発症要因を明らかにすることができると考えられ、複数の疾患の症例対照研究を行った。

B. 研究方法

MCTD 臨床班の班員の施設を中心に MCTD 患者、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、一般対照を用いた症例対照研究を行い、MCTD 発症のリスクと他の膠原病発症のリスクを比較する。発症の関連要因は自記式のアンケート用紙で調査する。自記式の調査票による調査とし、月経関連の項目、生活習慣、食生活、既往歴、家族歴のほか、身長、体重についても情報の提供を依頼する。調査項目は①性、年齢、身長、体重、②月経関連の項目 (初潮の時期、妊娠回数、出産回数、ピルの使用など)、③生活習慣 (飲酒、喫煙、運動、睡眠時間、睡眠の規則正しさ、ストレスなど)、④食生活 (野菜、肉類、魚、豆類、ご飯、パンなど)、⑤既往歴 (手術歴、輸血歴などを含む)、⑥家族歴 (両親、きょうだいの膠原病などの既往歴) 等である。

(倫理面への配慮)

対象者への依頼は口頭で行い、無記名の自記式調査票への記入後の提出を持って同意が得られたとする。本研究は聖マリア学院大学ほか、各参加施設の倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

表 7-10 に解析結果を示す。

生活習慣では 1 日 30 分以上の歩行は MCTD、SLE、強皮症、多発性筋炎・皮膚筋炎のいずれの発症リスクを上昇させたが、スポーツ (週 3-4 回以上) は有意な関係を示さなかった。

食生活ではコーヒー (1 日 2-3 杯以上)、西洋式の食事様式 (パン食を週 4-6 回以上、かつ、コーヒーを 1 日 2-3 杯以上または紅茶を 1 日 2-3 杯以上) は MCTD、SLE、強皮症、多発性筋炎のいずれの発症リスクを上昇させ、そのオッズ比は MCTD、SLE、強皮症、多発性筋炎・皮膚筋炎のいずれにおいてもコーヒーのオッズ比よりも大きなオッズ比を示した。パン食 (1 日 1 回以上) は SLE 発症のリスクを上昇させ、強皮症のリスクを上昇させる傾向を示した。

既往歴では手術が MCTD と SLE の発症リスクを上昇させたが、強皮症や多発性筋炎・皮膚筋炎の発症リスクとは意味のある関係を示すことはできなかった。アレルギーの既往は MCTD 発症リスクを低下させる傾向を示したが、SLE、強皮症、多発性筋炎・皮膚筋炎においてはそのような関係は認められなかった。

がん、脳卒中、心筋梗塞、糖尿病などの生活習慣病は MCTD、SLE、強皮症、多発性筋炎・皮膚筋炎のいずれの発症リスクとも意味のある関係を認めなかった。

生殖歴においては、未婚 (結婚経験がないこと) は MCTD、SLE、強皮症、多発性筋炎・皮膚筋炎のいずれの発症リスクを低下させた。出産 (2 人以上) と流産は SLE、強皮症の発症リスクを上昇させたが、MCTD、多発性筋炎・皮膚筋炎においてはそのような関係は認められなかった。経口避妊薬や初潮年齢は MCTD、SLE、強皮症、多発性筋炎・皮膚筋炎のいずれの発症リスク

とも意味のある関係を認めなかった。

表には示していないが、出産や流産は婚姻状況と関係があると考えられるため、年齢と婚姻状況を補正した出産（2人以上）と流産のSLEと強皮症の発症リスクを求めた。出産（2人以上）、流産のいずれも統計学的に有意なリスクの上昇を示すことはできなかった。SLE（2人以上出産：OR=0.45, 95%CI: 0.07-2.93、流産：OR=0.73, 95%CI: 0.73-8.04）、強皮症（2人以上出産：OR=1.12, 95%CI: 0.15-8.10、流産：OR=3.18, 95%CI: 0.33-30.85）。

D. 考察

わが国では厚生労働省の診断基準（表1）⁴⁾がMCTDの診断に用いられているが、他の膠原病（SLE、強皮症、多発性筋炎）の診断基準を完全に満足しても除外するようにはなっていないので、MCTDの診断を満たしていてもほかの膠原病の診断基準も満足する場合はoverlap症候群と考えるほうが良い場合もあり³⁾、症例対照研究の症例選定に際しての診断基準（除外基準を含む）ならびに質問項目の詳細についてはMCTD臨床班内で会議をもうけ、他の膠原病の診断基準を満たしていない症例に限定して研究をおこなった。

先の研究⁹⁾ではMCTDとSLEの発症リスクの比較を行なったが、さらに、強皮症、多発性筋炎の発症リスクと比較検討を行なうことで、MCTD発症のリスク因子を明らかにし、その発症予防に役立つことができると期待できる。

しかし、今回の研究では対象者数が少なく、有病例を中心とした解析であるため、今後、症例数を増やしての検討が必要

E. 結論

MCTDの発症要因解明のためにはoverlap症候群の混入を防ぐことが重要あり、MCTD臨床班の施設に限定した調査を先行させる必要がある。先の研究⁹⁾ではMCTDとSLEの発症リスクの比較を行なったが、さらに、強皮症、多発性筋炎の発症リスクと比較検討を行なうことで、MCTD発症のリスク因子を明らかにする必要はある。

参考文献

- 1) Sharp GC, Irvine WS, Tan EM, et al. Mixed connective tissue disease. An apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to extractable nuclear antigen (ENA). *Am J Med* 52: 148-159, 1972.
- 2) 藤井隆夫、三森経世. 混合性結合組織病. *からだの科学* 256: 79-84, 2008.
- 3) 藤井隆夫. 混合性結合組織病. *総合臨床* 56(3): 518-523, 2007.
- 4) 東條 毅. 混合性結合組織病. 大野良之、田中平三、中谷比呂樹、他編、難病の最新情報、疫学から臨床・ケアまで. 南山堂、東京、p354-357, 2000.
- 5) Hennekens CH, Lee IM, Cook NR, et al. Self-reported breast-implants and connective-tissue diseases in female health professionals, a prospective cohort study. *JAMA* 275: 616-621, 1996.
- 6) Janowsky EC, Kupper LL, Hulka BS. Meta-analysis of the relation between silicone breast implants and the risk of connective-tissue diseases. *N Engl J Med* 342: 781-790, 2000.
- 7) Gaubitz M. Epidemiology of connective disorders. *Rheumatology* 45: iii3-iii4, 2006.
- 8) 高橋芳成. 膠原病の診断基準をどう使うか、有用性と適応上の問題点. *Medical Practice* 20: 550-557, 2003.
- 9) 鷺尾昌一、藤井隆夫、桑名正隆、川口鎮司、見森明夫、堀内孝彦、多田芳史、三森経世、混合性結合組織病研究グループ. 混合性結合組織病の発症要因解明のための症例対照研究. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会、抄録集. p433, 2012.
- 10) 鷺尾昌一、廣田良夫、永井正規、他. 混合性結合組織病の症例対照研究. 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業、特定疾患の疫学に関する研究、平成22年度総括・分担研究報告書（研究代表者永井正規）、p272-277, 2011.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kiyohara C, Washio M, Horiuchi T, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Tada Y, Takahashi H; Kyushu Sapporo SLE (KYSS) Study Group. Cigarette smoking, alcohol consumption, and risk of systemic lupus erythematosus: a case-control study in a Japanese population. *J Rheumatol*. 2012;39(7):1363-70.
2. Kiyohara C, Washio M, Horiuchi T, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Takahashi H, Tada Y; Kyushu Sapporo SLE (KYSS) Study Group. Risk modification by CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms in the association of cigarette smoking and systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *Scand J Rheumatol*. 2012 ; 41(2):103-9.
3. Washio M, Nakano T, Kawaguchi Y, Takagi K, Kiyohara C, Tsukamoto H, Tokunaga S, Horiuchi T. Tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) in Japan: a review of the literature. *Mod Rheumatol*. 2013 Mar; 23(2):210-217.
4. 近江 雅代, 鷺尾 昌一, 堀内 孝彦, 塚本 浩, 多田 芳史, 澤部 琢哉, 佐々木 敏, 岡由紀子, 城田 知子, 森 満, 永井 正規. 全身性エリテマトーデス発症に関連する食事因子, 栄養素等摂取状況および食品別摂取量について. *日本栄養病態学会誌* 2013, 16(1);99-106.
5. Takahashi H, Washio M, Kiyohara C, Tada Y, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Yamamoto M, Horiuchi T; the Kyushu Sapporo SLE (KYSS) Study Group. Psychological stress in a Japanese population with systemic lupus erythematosus: Finding from KYSS study. *Mod Rheumatol*. 2013 Nov 5. [Epub ahead of print].
6. Washio M, Fujii T, Kuwana M, Kawaguchi Y, Mimori A, Horiuchi T, Tada Y, Takahashi H, Mimori M, and Japan MCTD study group. Lifestyle and other related factors for the development of mixed connective tissue disease among Japanese females in comparison with systemic lupus erythematosus. *Mod*

Rheumatol, 2013 (in Press)

2. 学会発表

1. 鷺尾昌一, 藤井隆夫, 桑名正隆, 川口鎮司, 見森明夫, 堀内孝彦, 多田芳史, 三森経世, 混合性結合組織病研究グループ. 混合性結合組織病の発症要因解明のための症例対照研究. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012年4月26日-28日, 東京.
2. 堀内孝彦, 上田尚靖, 石ヶ坪良明, 井田弘明, 楠原浩一, 高橋裕樹, 武井修治, 田平知子, 藤井隆夫, 蓑田清次, 宮原寿明, 鷺尾昌一, 井上靖, 有信洋二郎, 新納宏昭, 塚本 浩, 赤司浩一. TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) 疑い患者の遺伝子解析. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012年4月26日-28日, 東京.
3. 鷺尾昌一, 清原千香子, 小橋元, 井手三郎, 岡本和士, 横山徹爾, 佐々木敏, 阪元尚正, 三宅吉博, 森満, 廣田良夫, 永井正規, 稲葉裕, KYSS (Kyushu Sapporo SLE) study group. 全身性エリテマトーデスの発症要因の解明—生活習慣とストレスを中心に—. 第71回日本公衆衛生学会総会, 山口, 2012年10月24日-26日.
4. 井手三郎, 鷺尾昌一, 清原千香子, 小橋元, 岡本和士, 横山徹爾, 佐々木敏, 阪元尚正, 三宅吉博, 森満, 廣田良夫, 永井正規, 稲葉裕, KYSS (Kyushu Sapporo SLE) study group. 全身性エリテマトーデスの発症要因の解明—既往歴, 家族歴を中心に—. 第71回日本公衆衛生学会総会, 山口, 2012年10月24日-26日.
5. 上田尚靖, 塚本 浩, 石ヶ坪良明, 井田弘明, 楠原浩一, 高橋裕樹, 武井修治, 田平知子, 藤井隆夫, 蓑田清次, 宮原寿明, 鷺尾昌一, 田中淳, 綾野雅宏, 赤司浩一, 堀内孝彦. 本邦における TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) の特徴. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会, 東京, 2013. 4. 18-20.

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