

20020819

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

関節リウマチの発症及び重篤な合併症の  
早期診断に関する研究

平成14年度 総括・分担研究報告書

平成15年3月

主任研究者 江口 勝美

# — 目 次 —

<b>1. 構成員名簿</b> .....	5
<b>2. 総括研究報告書</b>	
関節リウマチの発症及び重篤な合併症の早期診断に関する研究	
江口 勝美 .....	9
<b>3. 分担研究報告書</b>	
(1) 関節リウマチの MRI による早期診断、活動性および予後判定に関する研究	
上谷 雅孝 .....	19
(2) 関節リウマチの早期診断及び臨床経過の予測	
江口 勝美 .....	24
(3) 関節リウマチの自己抗体による早期診断 —抗 Filaggrin/CCP 抗体の意義—	
三森 経世 .....	33
(4) ゲノム解析に基づく、関節リウマチ病因・病態解析	
土屋 尚之 .....	37
(5) 関節リウマチの多因子遺伝に関わる疾患感受性遺伝子の同定に関する研究	
塩澤 俊一 .....	51
(6) RA アミロイドーシスの発症要因に関する研究 —アポリポ蛋白 E の検討—	
中野 正明 .....	54
(7) NKT 細胞による関節リウマチの早期診断・制御に関する研究	
住田 孝之 .....	59
(8) 間葉系幹細胞としての滑膜線維芽細胞についての研究	
—RA 早期診断と早期治療への応用—	
江口 勝美 .....	62
(9) 関節リウマチ滑膜細胞の TNF 刺激下遺伝子発現プロファイルに関する研究	
岡本 尚 .....	70
<b>4. 研究成果の刊行に関する一覧表</b> .....	77

## 1. 構成員名簿

平成 14 年度 厚生労働科学研究費補助金  
免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業  
関節リウマチの発症及び重篤な合併症の早期診断に関する研究

班 員 名 簿

	氏 名	所 属 施 設 名	職 名
主任研究者	江口勝美	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・制御学講座 (第一内科)	教 授
分担研究者	上谷雅孝	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線生命科学講座	助教授
	三森経世	京都大学大学院医学研究科臨床免疫学	教 授
	土屋尚之	東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学	助教授
	塩澤俊一	神戸大学医学部保健学科	教 授
	中野正明	新潟大学医学部保健学科	教 授
	住田孝之	筑波大学臨床医学系内科	教 授
	岡本 尚	名古屋市立大学大学院医学研究科生体機能分子医学講座 細胞分子生物学	教 授

**2. 平成 14 年度 総括研究報告書**  
**(免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)**

**主任研究者 江口 勝美**

## 関節リウマチの発症及び重篤な合併症の早期診断に関する研究

主任研究者：江口勝美

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・制御学講座 (第一内科) 教授

### 研究要旨

関節リウマチ (RA) の発症及び重篤な合併症の早期診断や臨床経過の予知について、管理指針を作成することを目標に研究を進めている。多発性関節炎で発症した RA 患者を血清学的検査、MRI 画像、遺伝子検索を prospective に進めている。手の MRI 撮像では、骨髄浮腫は滑膜炎の活動性がより高い関節部位にみられた。骨浸蝕を来した症例の大部分は滑膜炎と骨髄浮腫がみられ、MMP-3 と CRP 値は高値を示した。これらの結果から、活動性の高い滑膜炎 (e-rate 高値)、骨髄浮腫、MMP-3 や CRP 高値は関節破壊予測因子であることが示唆された。抗 CCP 抗体は RA における診断確度が 87%、早期 RA においても診断確度 82% と極めて高く、初診時に ACR の RA 分類基準を満たさない関節炎症例でも抗 CCP 抗体が陽性であれば、後に RA と診断される可能性が高いことが示された。これらの成績は、抗 CCP 抗体と MRI 画像が RA の早期診断に極めて有用であり、RA 早期治療の指針となりうることを示唆された。

疾患感受性についての検討では、ILT2/LTR1 の細胞外多型が HLA-DRB1 shared epitope 陰性群において、FCGR3A 多型が shared epitope 陽性群において、RA と関連することを見いだした。BLyS (BAFF) と BAFF-R 多型の組み合わせ、TNFR2 196R/R 遺伝子型と RA との関連も検出された。さらに、第 1 染色体に位置する RA の疾患遺伝子 death receptor 3 (DR3) 遺伝子多型 (遺伝子変異) に関わる臨床的特徴を調べると、この疾患遺伝子多型 polymorphism は RA の発症でなく、疾患の増悪に関わる疾患遺伝子であることが示された。第 8 染色体に位置する RA の疾患遺伝子がアンジオポエチン-1 (Ang-1) 遺伝子多型であること、X 染色体の疾患遺伝子が Dbl 遺伝子 3' 端近くの 223bp のエキソンスキッピング変異であることを明らかにした。

RA アミロイドーシスの予後は最近改善されてきているが、未だ不良であり、ApoE4 の存在が発症の予知因子となる。NKT 細胞は RA 患者末梢血で減少し、活動性と関連していた。減少の一原因は可溶性 CD1d 分子の低下と考えられた。コラーゲン誘

導性関節炎モデルマウスでは、NKT 細胞の抗原を投与することにより、IL-4 産生が優勢となり、結果として関節炎が制御された。以上より、NKT 細胞が RA の早期診断、分子治療の標的となりうることが示唆された。滑膜組織には、脂肪細胞様細胞、骨芽細胞、軟骨細胞などの間葉系細胞へ分化する能力を有する未分化な線維芽滑膜細胞が存在する。脂肪細胞様細胞への分化誘導が炎症性サイトカインにより阻止されることを明らかにした。RA 滑膜組織には、Notch-1、Notch-4 と Jagged-2 が発現していた。in vitro TNF 刺激下で RA 培養滑膜細胞でのみ Notch-1、Notch-4 及び Jagged-2 遺伝子発現の上昇がみられた。これらの結果は RA 滑膜細胞は炎症性サイトカインに長期間にわたりさらされることにより、遺伝子表現型が個体発生初期に近似した未分化な状態を呈していることが強く示唆された。これらの事実は RA の早期診断に対する有用な証拠を提供するばかりでなく、新たな治療法の開発にも有用な知見と考えられる。

## A. 研究目的

アメリカリウマチ学会 (ACR) は「RA 治療のガイドライン」を 2002 年に改訂した。これでは RA 管理の第一歩は早期に診断を確定し、疾患の活動性と機能障害を把握し、臨床経過を予測することであるとしている。多発性関節炎で発症した RA は 2 年以内に約 70% が関節破壊に移行するが、残り約 30% は移行しない。早期リウマチにおいて、抗リウマチ薬や抗サイトカイン療法の有用性は明らかにされているが、これらの薬剤はしばしば重篤な有害事象を来し、しかも高価である。早期診断と臨床経過の予測は薬剤の cost-benefit、テーラーメイド治療を考える上で、重要な課題である。また、RA は腎臓、肺臓などの臓器障害や二次性アミロイドシスを合併する。これらの合併症を早期に予知あるいは診断治療し、進行を阻止することも RA 患者の QOL と予後を改善するのに重要である。

私たちは、RA の発症及び重篤な合併症の早期診断や臨床経過の予測についての指針を作成することを目的として、以下の項目について研究を行った。

**I -A) RA の MRI による早期診断、活動性及び予後判定に関する研究**

**I -B) RA の早期診断及び臨床経過の予測に関する研究**

**II) RA の自己抗体による早期診断—抗 Filaggrin/CCP 抗体の意義—**

**III) ゲノム解析に基づく RA 病因・病態解析**

**IV) RA の多因子遺伝に関わる疾患感受性遺伝子の同定に関する研究**

**V) RA アミロイドシスの発症要因に関する研究—アポリポ蛋白 E の検討—**

**VI) NKT 細胞による RA の早期診断・制御に関する研究**

**VII) 間葉系幹細胞としての滑膜線維芽細胞についての研究—RA 早期診断と早期治療への応用—**

**VIII) RA 滑膜細胞の TNF 刺激下遺伝子**

## 発現プロフィールに関する研究

### B. 研究方法

#### I-A) RA の MRI による早期診断、活動性及び予後判定に関する研究

対象は早期 RA 患者 27 例の手で、MRI を撮像した。15 部位の関節について滑膜炎、骨髄浮腫、骨浸蝕の有無を判定した。dynamic study のデータから、dynamic curve における最大立ち上がり速度 (e-rate) を測定し、各部位における e-rate の最大値を求めた。

#### I-B) RA の早期診断及び臨床経過の予測に関する研究

早期診断及び臨床経過の予測因子を明らかにするために、6 ヶ月間隔で MRI 撮像、血清学的検査 (抗 CCP 抗体、抗 Filaggrin 抗体、RF、MMP-3、赤沈、CRP) を追跡し、さらに遺伝子検査 (HLA-DRB1 shared epitope の有無、サイトカインなどの遺伝子多型) を施行した。

#### II) RA の自己抗体による早期診断—抗 Filaggrin/CCP 抗体の意義—

対象は RA 60 例、RA 以外のリウマチ性疾患 39 例、及び初診時に診断未確定の関節炎患者 37 例である。抗 Filaggrin 抗体は MBL 社製、抗 CCP 抗体は Axis-Shield 社製の ELISA キットを使用し、測定した。

#### III) ゲノム解析に基づく RA 病因・病態解析

培養ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) に ID3 遺伝子導入を行い、増殖、ICAM-1、E-selectin 発現量を RT-PCR とフローサイトメトリーにて測定した。

また、ILT2/LIR1 と BAFF-R のゲノム DNA 多型をスクリーニング、ハプロタイプを決定し、多型部位について RA、対照健常者の遺伝子型を比較した。

#### IV) RA の多因子遺伝に関わる疾患感受性遺伝子の同定に関する研究

RA の多発家系のゲノムワイド解析とシーケンスにより同定された疾患遺伝子について、(1) 遺伝学的分布と家系統を増やして確実性を期した。(2) 遺伝子保有の有無による臨床的特徴を調べた。(3) 疾患遺伝子の分子作用機構をさらに検討した。

#### V) RA アミロイドーシスの発症要因に関する研究—アポリポ蛋白 E の検討—

アミロイドーシス合併 RA 76 例について臨床的解析を行った。合併要因の解明に関しては、アポリポ蛋白 E (Apo E) の表現型、遺伝子型を分析した。

#### VI) NKT 細胞による RA の早期診断・制御に関する研究

NKT 細胞は、末梢血中 double negative (DN) TCR $\alpha$ V24<sup>+</sup> $\beta$ V11<sup>+</sup>NKT 細胞数として算定した。RA モデルであるコラーゲンタイプ II 誘導関節炎モデルマウス (CIA) を用いて、免疫時に  $\alpha$ -GalCer を投与することにより、関節炎への影響を検討した。

#### VII) 間葉系幹細胞としての滑膜線維芽細胞についての研究—RA 早期診断と早期治療への応用—

線維芽滑膜細胞に PPAR $\gamma$  リガンドを添加し、脂肪細胞へ分化させた。C/EBP や NF- $\kappa$ B の核内移行はゲルシフトアッセイ (EMSA) で検出した。



#### Ⅷ) RA 滑膜細胞の TNF 刺激下遺伝子発現プロフィールに関する研究

RA (RSF) 及び正常培養滑膜細胞 (NSF) に TNF 刺激の有無で mRNA を撮取した。cDNA array を用いた遺伝子発現プロフィール解析を実施し、real-time RT-PCR 法を用いて確認した。遺伝子発現に差が見られたものについては、ウェスタンブロット、細胞増殖試験と免疫染色を行い、確認した。

### C. 研究結果

#### I-A) RA の MRI による早期診断、活動性及び予後判定に関する研究

滑膜炎は 27 例中 24 例 (89%)、53 手のうち 45 手 (85%)、795 部位のうち 319 部位 (40%) に認めた。関節周囲の骨髄浮腫は 87 部位 (27%) で全て滑膜炎のある関節にみられた。骨浸蝕は 62 部位で、骨髄浮腫と滑膜炎を伴うものが 34 部位 (55%)、滑膜炎のみ伴うものが 24 部位 (39%)、両者伴わないものが 4 部位 (6%) であった。dynamic study における e-rate は、骨髄浮腫を伴う滑膜炎で  $16.6 \pm 9.6$ 、骨髄浮腫のない滑膜炎で  $7.4 \pm 5.6$ 、滑膜炎のない関節で  $4.5 \pm 2.4$  であり、各群に有意差 ( $p < 0.0001$ ) を認めた。

#### I-B) RA の早期診断及び臨床経過の予測に関する研究

早期関節リウマチ 46 症例で抗 CCP 抗体は 70.2%、抗 Filaggrin 抗体は 50.0% に検出された。骨髄浮腫及び骨浸蝕が検出される群は検出されない群に比較して CRP 値は有意に高く、MMP-3 値も高い傾向を示した。

#### Ⅱ) RA の自己抗体による早期診断—抗 Filaggrin/CCP 抗体の意義—

①抗 CCP 抗体は RA 82%、非 RA 5% で陽性、抗 Filaggrin 抗体は RA 68%、非 RA 3% で陽性であり、特に抗 CCP 抗体の高い感度と特異度が確認された。②抗 CCP 抗体と抗 Filaggrin 抗体は高い相関を示した。③初診時未診断関節炎患者のうち、抗 CCP 抗体陽性 13 例中 9 例は、後に RA と診断され、同抗体陰性 24 例中 RA と診断されたのは 2 例に過ぎなかった。④発症 2 年以内の早期 RA 23 例においても抗 CCP 抗体の陽性率は 78% と高く、非 RA を対照とした診断確度は 82% と高く、最も優れていた。

#### Ⅲ) ゲノム解析に基づく RA 病因・病態解析

①ID3 遺伝子導入 HUVEC は、増殖が亢進し、ICAM-1 や E-selectin の発現増強がみられた。②LIR1 遺伝子に 17 個所の SNP が検出され、うち 5 個所は非同義置換であった。細胞外領域のアミノ酸置換を伴う SNP が主として 3 種類のハプロタイプを形成して存在することから、暫定的に LIR. 01、.02、.03 と命名した。LIR1.01/01 遺伝子型のホモ接合体が、HLA-DRB1 shared epitope 陰性群において増加した。③BAFF-R 多型スクリーニングにより 5 個所の変異が検出され、うち 2 個所は一般集団における頻度が高く、多型と考えられた。BLYS-871C>T との組み合わせを検討すると、BLYS-871T 非保有者において、BAFF-R の 3'非翻訳領域 (UTR) c\*120T>C の保有者が RA に有意に少なかった。④FCGR2A、2B、3A、

3B 多型と RA 全体での関連は検出されなかった。Shared epitope 陽性 RA 群において FCGR3A176F/F 遺伝子型の有意な増加が観察された。⑤TNFR2-M196R 多型と RA との関連は、genotype relative risk 法 (Lathrop) を用いると、196R/R 遺伝子型と RA との有意な関連が検出された。

#### IV) RA の多因子遺伝に関わる疾患感受性遺伝子の同定に関する研究

RA1 遺伝子は DR3 遺伝子上の SNP4 箇所及び核酸欠損 1 箇所の変異体であった。変異型 DR3 は正常 DR3 分子とヘテロ三量体を形成し、変異 DR3 分子は正常型 DR3 分子によるアポトーシス誘導をドミナントネガティブに抑制した。培養細胞に発現させると、正常型 DR3 はアポトーシスを誘導したが、変異型 DR3 は誘導しなかった。変異は多発家系の RA 例で 10%、孤発 RA で 1.8%、健常対照者で 0.55% に検出された。DR3 変異保有者は手術頻度が高く、2 回以上の手術例が多く、発症ではなく増悪に関わる疾患遺伝子と考えられた。RA2 遺伝子であるアンギオポエチン 1 (Ang-1) 遺伝子変異は 269Gly を伴う 3 塩基 GGT 挿入変異体で、RA の 24.7%、健常対照者の 7.8% に見られた。RA では末梢血 Ang-1mRNA は有意に低下しており、変異型遺伝子導入ヒト血管内皮細胞は遊走促進がみられた。RA3 遺伝子は Dbl 遺伝子 3' 端近くのエキソンスキッピング変異で、DNA レベルでは、nt2522+394 (C→T)、nt2632+106 (T→G)、nt2632+211 (A→C) の変異が RA 家系に有意に見出さ

れた。Dbl 支配下の低分子量 G 蛋白 cdc42 に対する GEF 機能及び活性酸素生成能が有意に低下していた。

#### V) RA アミロイドーシスの発症要因に関する研究—アポリポ蛋白 E の検討—

①アミロイドーシス合併判明後の 5 年及び 10 年生存率は 55%、22% であった。アミロイドーシス合併診断年を 1992 年前と後で比較すると、生存率の改善がみられていた。②アミロイドーシス合併群、非合併群の順に、ApoE のホモ接合体が 3 例、4 例、ヘテロ接合体が 20 例、6 例、非 ApoE 接合体が 22 例、39 例であり、両群で有意に異なる分布を示した。ε4 の出現頻度を比較した結果、合併群 (28.9%) で非合併群 (14.3%) より有意に高かった。

#### VI) NKT 細胞による RA の早期診断・制御に関する研究

①RA 患者で NKT 細胞が減少しているが、活動性の低下した 1 例の RA 患者において増加した。②RA 患者で血清中の可溶性 CD1d 分子は減少していた。③CIA において α-GalCer を投与すると、関節炎の発症率は減少した。in vitro の解析では、α-GalCer の投与により、IL-4 産生が上昇し、IFN $\gamma$  産生は低下した。VII) 間葉系幹細胞としての滑膜線維芽細胞についての研究—RA 早期診断と早期治療への応用—

①線維芽滑膜細胞は PPAR $\gamma$  リガンドで脂肪細胞様細胞へ分化誘導された。②TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、INF $\gamma$  は脂肪細胞への分化誘導を抑制した。これは C/EBP 転写活性の抑制を介していた。③分化誘導され

た脂肪細胞の NF- $\kappa$ B の転写活性は低下し、サイトカイン (IL-6, IL-8) と MMP-3 の産生が低下していた。

#### **VIII) RA 滑膜細胞の TNF 刺激下遺伝子発現プロフィールに関する研究**

TNF 未刺激時には RSF と NSF との間に PDGF $\alpha$ 、SDF 及び PAI-1 遺伝子の mRNA の発現量に差を認めた。一方、TNF 刺激時には RSF と NSF との間に MMP-11、cyclin B1、Notch-1、Notch-4 及び Jagged-2 遺伝子 mRNA 発現量の差異を認めた。RSF は NSF に比較して PDGF $\alpha$  が高発現し、PDGF 刺激に対し高い細胞増殖亢進をみた。RSF は TNF 刺激により Jagged-2 の発現誘導が特徴的に起こり、Notch 細胞内ドメインの核移行が起こっていた。RA 滑膜組織では Notch-1、Notch-4 と Jagged-2 が発現していた。Notch-1、Notch-4 と Jagged-2 の発現は、マウスの胎生 15 日目では関節軟骨と滑膜に発現し、生後 1 日目では関節軟骨は発現しておらず、滑膜のみが発現していた。

### **D. 考察**

#### **I-A) RA の MRI による早期診断、活動性及び予後判定に関する研究**

滑膜炎、骨髄浮腫と骨浸蝕の密接な関連が示唆された。

#### **I-B) RA の早期診断及び臨床経過の予測に関する研究**

早期 RA 患者で抗 CCP 抗体は 70% に検出され、CRP や MMP-3 が低値でも MRI 画像診断と抗 CCP 抗体を用いることにより、RA を早期に診断すること

が可能となる。活動性の高い滑膜炎 (e-rate 高値)、骨髄浮腫、MMP-3 や CRP 高値は関節破壊の予測因子であることが示唆された。

#### **II) RA の自己抗体による早期診断—抗 Filaggrin/CCP 抗体の意義—**

抗 Filaggrin/CCP 抗体は RA における感度と特異度に優れている。特に、抗 CCP 抗体が RA の早期診断に極めて有用であり、RA 早期治療の指針となりうる。

#### **III) ゲノム解析に基づく RA 病因・病態解析**

ID3 遺伝子の過剰発現のみによって、HUVEC の増殖と活性化を誘導した。ILT2/LIR1 の細胞外領域の多型が HLA-DRB1 shared epitope 陰性群において、FCGR3A 多型が shared epitope 陽性群において、RA と関連することを見いだした。さらに、BLyS (BAFF) と BAFF-R 多型の組み合わせ、TNFR2 196R/R 遺伝子型と RA との関連も検出された。

#### **IV) RA の多因子遺伝に関わる疾患感受性遺伝子の同定に関する研究**

RA1 遺伝子は DR3 遺伝子の変異体、RA2 遺伝子は Ang-1 遺伝子の変異体、RA3 遺伝子は Dbl 遺伝子の変異体であることを明らかにした。RA1 遺伝子は発症でなく、増悪に関わる疾患遺伝子と考えられた。

#### **V) RA アミロイドーシスの発症要因に関する研究—アポリポ蛋白 E の検討—**

RA 患者のアミロイドーシス合併には ApoE4 が関連している。今後、ApoE4 と

アミロイドーシスの病態や重症度との関連の検討、ApoE 表現型と SAA1-13T allele との関連の検討を行う予定である。

#### VI) NKT 細胞による RA の早期診断・制御に関する研究

NKT 細胞は、一部の RA 症例において RA の活動性と相関していた。可溶性 CD1d 分子は RA で減少しており、この結果、NKT 細胞の減少を誘導していると考えられた。CIA モデルマウスにおいては、NKT 細胞の抗原である  $\alpha$ -GalCer の投与により IL-4 産生が優勢となり、結果として関節炎が制御された。

#### VII) 間葉系幹細胞としての滑膜線維芽細胞についての研究—RA 早期診断と早期治療への応用—

RA では、炎症性サイトカインが滑膜線維芽細胞を未分化状態に維持し、脂肪細胞様細胞への分化を抑制している。この未分化状態が細胞増殖、炎症、軟骨・骨破壊を促進していると考えられた。

#### VIII) RA 滑膜細胞の TNF 刺激下遺伝子発現プロフィールに関する研究

RSF における PDGFR $\alpha$  と SDF の発現は、RA 滑膜組織があたかも発生期におけるかのような滑膜細胞前駆細胞の特徴を示し、その結果、関節局所での増殖と炎症細胞の誘導を引き起こすと考えられた。また、Jagged-2 及び Notch によるシグナルは関節の分化に関わっていることが示唆されており、RA の病態形成に積極的に関与していることが示唆された。

#### E. 結論

RA の発症及び重篤な合併症の早期診

断や臨床経過の予測について、指針を作成することを目標に研究を進めている。まず、抗 Filaggrin 抗体と抗 CCP 抗体は RA における特異性が高く、特に、抗 CCP 抗体は早期 RA でも高い感度を示し、早期診断に有用である。手の MRI 撮像では、骨髄浮腫は滑膜炎の活動性がより高い関節部位にみられた。骨浸蝕を来した症例の大部分は滑膜炎と骨髄浮腫もみられ、MMP-3 と CRP 値は高値を示した。この結果から、骨髄浮腫、MMP-3、CRP 高値は関節破壊の予測因子になることが示唆された。疾患感受性での検討は、ILT2/LIR1 の細胞外領域の多型が HLA-DRB1 shared epitope 陰性群において、FCGR3A 多型が shared epitope 陽性群において、RA と関連することを見いだした。さらに、BLyS (BAFF) と BAFF-R 多型の組み合わせ、TNFR2 196R/R 遺伝子型と RA との関連も検出された。さらに、RA1 遺伝子は DR3 遺伝子の SNP 4 箇所及び核酸欠損 1 箇所の変異体であること、RA2 遺伝子は Ang-1 遺伝子の 269Gly を伴う 3 塩基 GGT 挿入変異体であること、RA3 遺伝子は Dbl 遺伝子 3'端近くの 223bp のエキソンスキッピング変異であることを明らかにした。また、RA1 遺伝子は臨床経過の予測因子であることも明らかになった。二次性アミロイドーシスの予後は最近改善されているが、未だ不良であり、ApoE4 の存在が発症の予測因子になる。NKT 細胞は一部の RA において活動性と関連し、減少の一原因は CD1d 分子の低下であると考えられた。マウスモデルでは、

$\alpha$ -GalCer 投与による関節炎の制御が可能であった。滑膜組織には、脂肪細胞、骨芽細胞、軟骨細胞などの間葉系細胞へ分化する能力を有する未分化な細胞が存在し、炎症性サイトカインが分化を阻止していることを明らかにした。RA と正常の滑膜細胞の間に発現誘導される遺伝子群 (PDGF $\alpha$ 、SDF、Notch、Jagged-2、ID3 遺伝子など) に明らかに差が認められた。この結果は、RA 滑膜細胞が未分化であることを積極的に支持し、RA の病態の一端を説明しうる。また、これらの事実は、RA の早期診断に対する有用な事実を提供するばかりでなく、新たな治療法の開発にも有用な知見と考えられた。

## F. 健康危険情報

研究結果からは健康に害となる情報は得られていないが、なかでも第一染色体に位置する疾患遺伝子 *DR3* 変異が存在すると疾病が増悪する傾向が示されているので、当該遺伝子の有無は、個々人の個性すなわちテーラーメイド医療の視点からは、今後国民生活上の重要性を増すものと思われる。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

### 1. 特許取得

国際出願 PCT/JP03/00089

慢性関節リウマチの疾患感受性遺伝子、そのタンパク質、それらを利用した慢性関節リウマチの発症可能性の判定方法および判定キット、並びに、慢性関

節リウマチの治療方法及び治療薬剤

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

**3. 平成 14 年度 分担研究報告書**  
**(免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)**

## 関節リウマチの MRI による早期診断、活動性および 予後判定に関する研究

分担研究者：上 谷 雅 孝

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線生命科学講座 助教授

### 研究要旨

早期 RA の症例 27 例 53 手関節において dynamic study を併用した手関節 MRI を行い、それぞれ 15 部位について滑膜炎と骨変化の関連を検討した。骨髄浮腫は滑膜炎のある関節にだけ認められ、滑膜炎の活動性がより高い病変にみられた。一方、滑膜炎のない関節では骨髄浮腫は認められなかった。さらに、骨浸食をきたした症例の大部分は滑膜炎に骨髄浮腫を伴っていることが明らかになった。今後はこれらの症例について prospective に経過観察を行い、滑膜炎や骨髄浮腫と予後との関係を明らかにしたい。

### A. 研究目的

造影 MRI では滑膜炎が明瞭に描出され、RA の早期診断や活動性の指標となりうる。また、dynamic study では滑膜の血流を反映した dynamic curve が得られ、炎症の活動性に相関することがわかってきた。しかし、早期 RA における滑膜炎と骨変化との関連については、いまだに一致した見解が得られていない。早期 RA の症例において dynamic study を併用した手関節 MRI を行い、滑膜炎と骨変化の関連を検討した。

### B. 研究方法

対象は日本リウマチ学会診断基準に基づく早期 RA 患者 27 例 (男性 8 例、女性

19 例)、53 手関節。各手関節を 15 部位に分け、計 795 部位について、滑膜炎と骨変化 (骨髄浮腫と骨浸食) の有無を検討した。関節の部位は以下のように分類し、関心領域を設定した (図 1)。1) Distal radioulnar (DRU) joint、2) Radiocarpal (RC) joint、3) intercarpal (IC) joint、4) 1st carpometacarpal (CMC) joint、5) 2-5th CMC joint、6-10) 1-5th metacarpophalangeal (MP) joint、11) 1st interphalangeal (IP) joint、12-15) 2-5th proximal interphalangeal (PIP) joint. Distal interphalangeal joint は検討から除外した。MRI の撮像方法は前回報告した通りである。

上記 15 部位の関節について滑膜炎、骨髄浮腫、骨浸食の有無を 2 名の放射線科

医の合議により判定した。骨髄浮腫は STIR において骨髄が境界不明瞭な高信号を示すものとした (図 2)。骨浸食は境界明瞭で骨皮質の断絶を伴う骨欠損とした。dynamic study のデータから、dynamic curve における最大立ち上がり速度 (e-rate) を測定した (図 3)。

### C. 研究結果

27 例のうち 24 例 (89%)、53 手のうち 45 手 (85%)、795 部位のうち 319 部位 (40%) に滑膜炎を認めた。関節周囲の骨髄浮腫は 87 部位 (27%) で、全て滑膜炎のある関節にみられた。一方、滑膜炎のない関節では骨髄浮腫は認められなかった。骨浸食は 62 部位で、このうち骨髄浮腫と滑膜炎を伴うものが 34 部位 (55%)、滑膜炎のみ伴うものが 24 部位 (39%)、骨髄浮腫も滑膜炎も伴わないものが 4 部位 (6%) であった。

Dynamic study における e-rate は、骨髄浮腫を伴う滑膜炎で  $16.6 \pm 9.6$ 、骨髄浮腫のない滑膜炎で  $7.4 \pm 5.6$ 、滑膜炎のない関節で  $4.5 \pm 2.4$  であり、各群に有意差 ( $p < 0.0001$ ) を認めた (図 4)。ただし骨浸食を伴う骨髄浮腫と骨浸食を伴わない骨髄浮腫における滑膜炎の e-rate はそれぞれ  $17.2 \pm 10.7$  と  $16.3 \pm 9.1$  で有意差はなかった。

### D. 考察

RA の予後には骨変化の進行が関わっているが、骨変化の進行と滑膜炎との関係については必ずしも一定した見解が得られていない。RA による骨変化は滑膜

炎と関係なく進行するとする報告もあるが、単純 X 線撮影や臨床所見のみで滑膜炎の有無を正確に判定することは難しく、従来の研究には限界があった。MRI は滑膜炎の描出に優れており、骨病変についても単純 X 線写真よりも高い描出能があることが報告されている。しかし、滑膜炎と骨変化の関係について MRI による検討は十分に行われていない。

今回の研究により関節周囲の骨髄浮腫が滑膜炎のある関節にのみ認められることが示された。滑膜炎の活動性を示す dynamic curve の立ち上がり速度 (e-rate) と骨髄浮腫の間に強い相関がみられたことから、滑膜炎と骨髄浮腫との密接な関連が示唆される。最近の報告では骨髄浮腫が骨浸食の進行を予測する因子であることが認められている。今回の検討でも骨浸食をきたした症例の大部分は滑膜炎に骨髄浮腫を伴っていた。しかし、少数例であるが骨髄浮腫や滑膜炎を伴わない骨浸食が存在したことは無視できない。今後の経過観察を通して、滑膜炎や骨髄浮腫と予後との関係を明らかにしたい。

### E. 結論

骨髄浮腫は滑膜炎のある関節にだけ認められ、滑膜炎の活動性がより高い病変にみられる。また、骨浸食をきたした症例の大部分は滑膜炎に骨髄浮腫を伴っていた。今後はこれらの症例について prospective に経過観察を行い、予後との関係を検討する。



## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Uetani M, Hashmi R, Ito M, Okimoto T, Kawahara Y, Hayashi K, Enomoto H, Shindo H. Subchondral insufficiency fracture of the femoral head: MR imaging findings correlated with micro-CT and histopathology. J Comput Assist Tomogr, in press.
- 2) Hashmi R, Uetani M, Hayashi K. MRI in the evaluation of early RA. Diagnostic Imaging, in press.
- 3) Sumi M, Takagi Y, Uetani M, et al. Diffusion-weighted echoplanar MR imaging of the salivary glands. A J R 178: 959-965, 2002.
- 4) 上谷雅孝, 川原康弘, 相川勝彦. Direction in Contrast MR Imaging for The Next Millennium 関節 肩関節・肘関節・手関節. INNERVISION 17: 38-43, 2002.
- 5) 上谷雅孝, 川原康弘, 林邦昭. 【関節炎の画像診断】その他の関節炎. 臨床画像 18: 304-312, 2002.
- 6) 上谷雅孝. 肩の MRI の pitafall. 整形外科 MRI 診断 (越智隆弘, 菊池巨一編) 136-141, 2002.
- 7) 上谷雅孝. 骨盤と股関節の MRI 診断. 整形外科 MRI 診断 (越智隆弘, 菊池巨一編), 167-174, 2002.

### 2. 学会発表

- 1) Hashmi R, Uetani M, Hayashi K,

Kawakami A, Eguchi K. Contrast enhanced MRI of both hands in patients with early rheumatoid arthritis reveals high frequency of tenosynovitis. European Congress of Radiology, March 7-11, 2002, Vienna.

## 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

図 1. 関心領域の設定

- 1: DRU joint
- 2: RC joint
- 3: IC joint
- 4: 1st CMC joint
- 5: 2-5th CMC joint
- 6-10: 1-5th MP joint
- 11: 1st IP joint
- 12-15: 2-5th PIP joint.

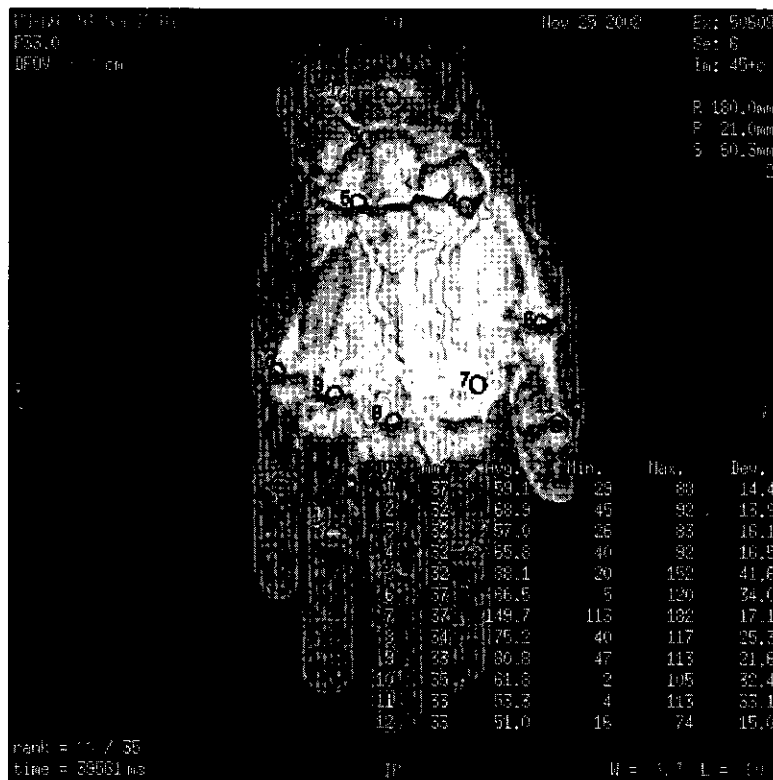


図 2. STIR における骨髄浮腫 (星印) と骨浸蝕像 (矢印)



図 3. E-rate の設定

$$E - rate = \frac{SI(t2) - SI(t1)}{\Delta t}$$

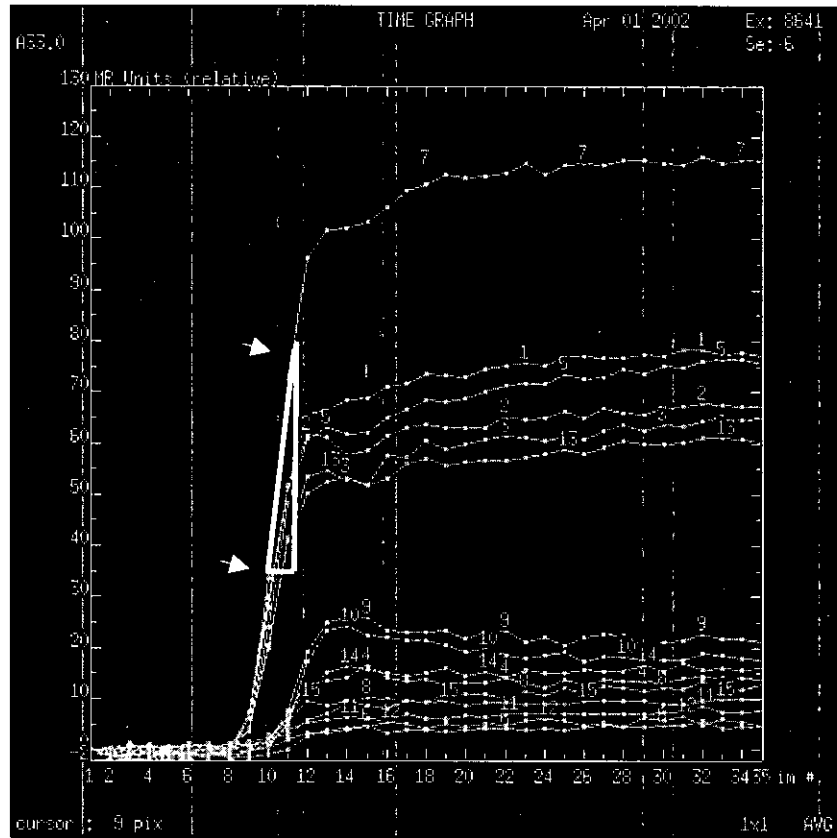
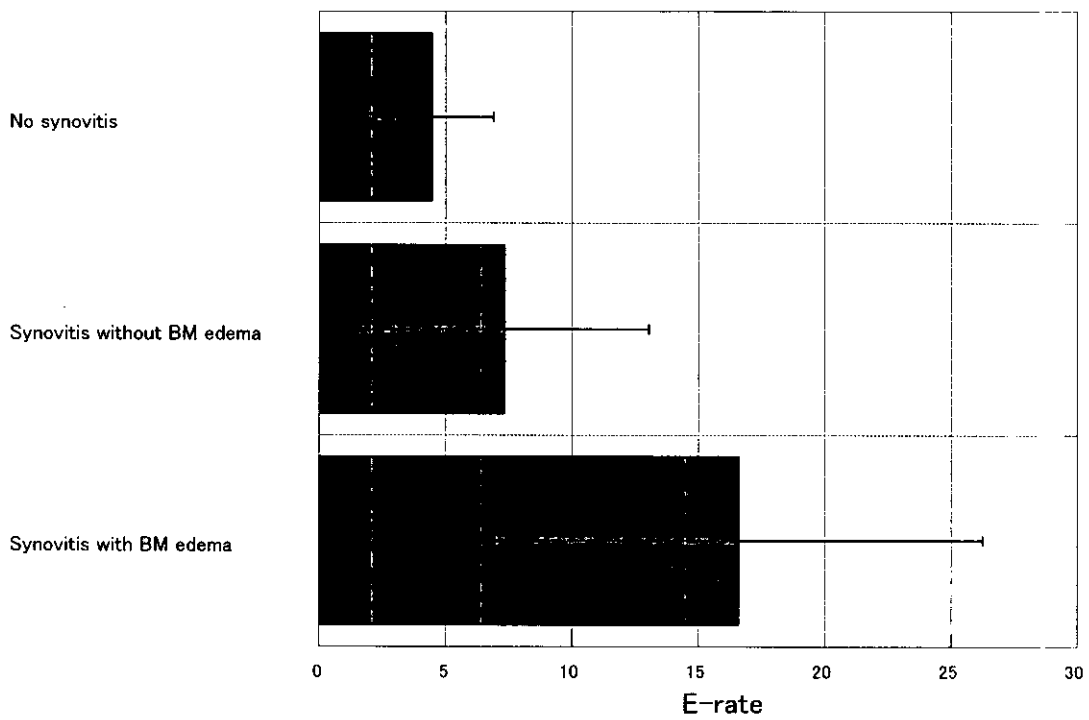


図 4. 骨髄浮腫の有無と炎症性滑膜の E-rate との関係



## 関節リウマチの早期診断及び臨床経過の予測

主任研究者：江口勝美

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・制御学講座 (第一内科) 教授

### 研究要旨

関節リウマチの早期診断及び臨床経過の予測における MRI および血清学的マーカーの有用性を検討した。症例は日本リウマチ学会早期関節リウマチ診断基準をみたす 46 症例の prospective study であり、MRI は両手を同時撮像し、dynamic study (造影 MRI) による滑膜炎の評価、骨髄浮腫、骨浸食の三項目を評価した。MRI は高率に関節病変を検出し、滑膜炎は 41 症例 (89.2%)、骨髄浮腫は 22 症例 (47.8%)、骨浸食は 19 症例 (41.3%) に認められた。血清学的マーカーでは抗シトルリン化 filaggrin 抗体 (抗 filaggrin 抗体) が 50% に、また、抗環状シトルリン化ペプチド抗体 (抗 CCP 抗体) が 70.2% に検出された。CRP が 1 mg/dl 以下の全身性炎症反応低値の 23 症例でも滑膜炎は 18 症例 (78.3%)、骨変化 (骨髄浮腫または骨浸食) は 10 症例 (43.5%) に検出され、これら症例でも抗 CCP 抗体は 62.5% に陽性であった。これらの結果より、早期関節リウマチ、特に炎症反応が軽度の症例でも MRI 画像診断および抗 CCP 抗体は有用な検査であることが示唆された。

### A. 研究目的

関節リウマチは関節組織の炎症性疾患である。その臨床経過は単周期型から早期に骨破壊が進展する症例まで様々であり、各々の病態に応じた治療体系の確立が今後の最重要課題である。私たちは早期関節リウマチ患者を prospective に 2 年間、6 ヶ月間隔でフォローアップし、経時的な A. 臨床所見 (関節所見)、B. 臨床検査値、C. 画像による滑膜炎・骨破壊 (単純レ線および MRI) の検討、およびこれら所見・検査値と遺伝子多型の関連を

検討し、関節リウマチの臨床経過予測を目的としている。本年度はエントリー時のデータを解析し、早期関節リウマチにおける MRI 画像診断と検査値異常の意義および関連性を検討した。

### B. 研究方法

1. 症例は早期関節リウマチ診断基準 (日本リウマチ学会調査研究委員会 1994 年) をみたす 46 症例 (平成 15 年 3 月 10 日現在) である。
2. MRI は、関節リウマチは対称性手関節