

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

関節リウマチ (以下 RA) の両手関節 MRI における滑膜炎と骨変化を検討し、早期診断における有用性、滑膜炎と骨変化との関連を検討した。滑膜炎は RA の大部分にみられたが、non-RA でも半数に認められた。骨髓浮腫、骨浸食ともに RA のほうが non-RA よりも多くみられた。骨髓浮腫はすべて滑膜炎のある関節にみられ、骨髓浮腫のない関節と比較して滑膜炎の活動性が高かった。骨髓浮腫の有無の判定は、造影 MRI や dynamic study などの評価と較べて簡便であり、造影剤の費用がかからない点からも実用性が高い。また、予後評価における有用性が期待され、今後の経過観察でさらに検討する。MRI は RA における滑膜炎および骨変化の評価に優れ、早期診断における補助的検査として有用である。

A. 研究目的

MRI は滑膜炎や骨病変について単純 X 線写真より優れた描出能があり、関節リウマチ (RA) の早期診断あるいは予後判定における有用性が期待される。本研究の目的は、両手の MRI における滑膜炎の有無とその活動性を評価し、滑膜炎と骨変化との関連および早期診断における有用性を検討することである。

B. 研究方法

長崎大学病院第 1 内科および関連病院を受診し早期 RA が疑われた 88 名を対象とした。このうち最終診断が確定できなかった 11 名、薬剤アレルギーの既往のために造影剤が使用できなかった 1 名を除外し、76 名 (男 16, 女 60) を検討した。最終診断は RA 57 名, RA でないもの (non-RA) 19 名である。各

群における年齢中間値はそれぞれ 53 歳と 51 歳, 発症からの期間中間値はそれぞれ 4 ヶ月と 3 ヶ月で、いずれも有意差はなかった。手の X 線写真における modified Sharp/Genant score (0-100) は RA 群 2.30 (中間値 0.51), non-RA 群 0.11 (中間値 0) で、ほとんどが正常であった。初診時の検査成績は、RA 群で CCP1.86 ± 2.89mg/dl, RA 因子陽性率 67.2%, MMP-3 152.5 ± 211ng/ml, 抗 CCP 抗体陽性率 67.9%, non-RA 群では CCP1.09 ± 2.72mg/dl, RA 因子陽性率 16.7%, MMP-3 値 39.3 ± 53.4 ng/ml, 抗 CCP 抗体陽性率 6.3% で、CRP 以外は有意差を認めた。MRI の撮像方法および分析は昨年度の報告書の通りである。両手を同時に撮像し、手関節の 15 部位 (両手で 30 部位) について、滑膜炎と骨変化 (骨髓浮腫と erosion) の有無、dynamic study における最大エンハンス

速度 (E-rate) を評価した。さらに Sugimoto らの MRI による RA 診断基準 (滑膜炎が両側性に 1 カ所あるいはそれ以上みられるものを陽性) を用いて、sensitivity と specificity を評価した。

C. 研究結果

滑膜炎と骨変化の頻度のグラフを図 1 に示す。滑膜炎は RA 群で 54 名 (94.7%) 655 関節 (38.6%)、non-RA 群で 10 名 (52.6%) 120 関節 (22.2%) に見られた。骨髄浮腫は RA 群で 33 名 (59.6%) 150 関節 (8.8%)、non-RA 群で 2 名 (10.5%) 2 関節 (0.4%) に見られた。erosion は RA 群で 29 名 (50.1%) 108 関節 (6.3%)、non-RA 群で 2 名 (10.5%) 2 関節 (0.4%) に見られた。

骨髄浮腫は滑膜炎のある関節にのみ認められ、滑膜炎のない関節では認めなかった。RA で滑膜炎のある関節の 23%、non-RA で滑膜炎のある関節の 1.7% に骨髄浮腫が認められた (図 2)。RA 群における erosion は、5 関節以外は滑膜炎、あるいは滑膜炎と骨髄浮腫を伴っていた。

滑膜炎と骨変化の有無によって関節を 4 種類に分類した場合の E-rate を図 3 に示す。滑膜炎を伴わない関節の E-rate は 6 (1.2-26.0)、滑膜炎のみで骨髄浮腫がない関節の E-rate は 7.2 (0.5-34.2)、滑膜炎と骨髄浮腫を伴う関節の E-rate は 13.7 (2.7-37.3)、滑膜炎、骨髄浮腫および erosion を伴う関節の E-rate は 15.3 (2.7-50.1) で、骨髄浮腫のある滑膜炎において有意に E-rate が上昇していた (図 3)。

Sugimoto らの MRI による RA 診断基準を用いた場合、MRI の sensitivity は 88.6%、specificity は 55% であった。

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。滑膜炎と骨変化の関連については、いくつかの研究において相関関係があることが報告されているが、従来の研究は片手の MP 関節や手根関節に撮像範囲を限定して行ったものであり、両手全体の関節を検討したものはない。我々は両手関節の MRI を行い、滑膜炎と骨変化の関係を検討した。

RA 群と non-RA 群を比較すると滑膜炎、骨髄浮腫および erosion のいずれも RA に頻度が高い。しかし、滑膜炎は non-RA の約半数に見られる所見であり、特異性が低い。Sugimoto らの診断基準を採用しても特異度は 55% であった。これに対して、骨髄浮腫および erosion は RA で約半数に認められるが、non-RA における頻度は約 10% であり、特異性が高い点が注目される。これらの骨変化を診断基準に組み込むことにより、診断能の向上が得られることが期待される。現在、臨床データと MRI 所見を組み合わせた診断基準の作成を検討している。

骨髄浮腫は滑膜炎のある関節にのみ認められ、dynamic study で評価した滑膜炎の活動性との相関が高いことがわかった。骨髄浮腫の有無の判定は、造影 MRI や dynamic study などの評価と較べて簡便であり、造影剤の費用がかからない点からも臨床的実用性が高い。また、骨髄浮腫はいくつかの研究で erosion にいたる前段階であることが報告されており、予後判定においても有用性が高いと考えられる。

E. 結論

滑膜炎は RA の大部分にみられたが、

non-RA でも半数に認められた。骨髄浮腫、骨浸食ともに RA のほうが non-RA よりも多くみられた。骨髄浮腫はすべて滑膜炎のある関節にみられ、骨髄浮腫のない関節と比較して滑膜炎の活動性が高かった。MRI は RA における滑膜炎および骨変化の評価に優れ、早期診断における補助的検査として有用である。現在、臨床データを取り入れた診断基準の確立を検討している。また、今後の経過観察により予後判定における MRI の有用性を明らかにしたい。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 上谷雅孝. II. 画像診断 2. CT, ゴールドスタンダード整形外科. 診察・検査・画像診断 (長野昭, 岩本幸英編), 南江堂, 東京, 2375-384, 2003.
- 2) 上谷雅孝. 骨関節. 単純 X 線写真読影のためのキーワード (上谷雅孝編), メディカルビュー, 東京, 1-421, 2003.
- 3) 上谷雅孝. 骨・関節疾患の X 線写真の読み方. 治療 85 (3): 435-442, 2003.
- 4) 川原康弘, 上谷雅孝. 誰にも聞けない MRI の常識 Q&A. INNERVISION 18 (6): 68-71, 2003.
- 5) 上谷雅孝, 川原康弘, 林邦昭. 見逃しやすい上肢の外傷. 画像診断 23 (6): 576-586, 2003.
- 6) 川原康弘, 上谷雅孝. MRI による関節の評価. 臨床画像 19 (7): 739-747, 2003.
- 7) Uetani M, Hashmi R, Hayashi K.

Malignant and benign compression fractures: Differentiation and diagnostic pitfalls on MRI. Clin Radiol 59: 124-131, 2004.

2. 学会発表

- 1) 上谷雅孝, Rashid Hashmi, 川上 純, 江口勝美. 早期関節リウマチにおける滑膜炎と骨変化の関連: MRI における検討. 第 47 回日本リウマチ学会総会, 東京, 2003.4.24.
- 2) 上谷雅孝. 早期関節リウマチの画像診断. リウマチ中央教育研修会, 福岡, 2003.7.23.
- 3) 上谷雅孝. 関節の MRI: リウマチ性疾患への応用. 兵庫県リウマチ登録医の会, 神戸, 2003.10.11.
- 4) 上谷雅孝. 早期関節リウマチの MRI. 第 2 回 JCBD, 東京, 2003.11.1.
- 5) Uetani M, Hashmi R, Kawahara Y, Kawakami A, Eguchi K, Hayashi K. Magnetic imaging of rheumatoid arthritis and related disorders: A pictorial review. RSNA, 78th Scientific Assembly and Annual Meeting, Chicago, 2003.11.2.
- 6) Uetani M, Hashmi R, Kawakami A, Kawahara Y, Eguchi K, Hayashi K. Relationship synovitis and bone marrow edema in early rheumatoid arthritis: Correlation with dynamic MRI. European Congress of Radiology, Vienna, 2004.3.5.

H. 知的所有権の出願・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

図 1 : 滑膜炎, 骨髄浮腫, Erosion を有する症例の頻度

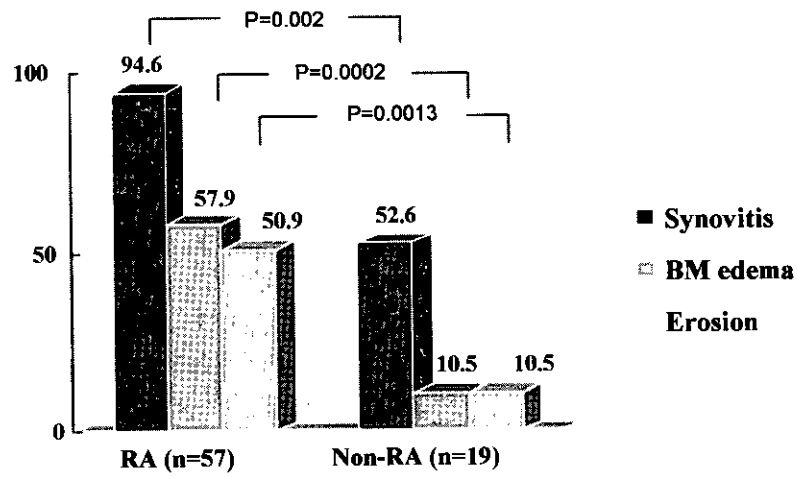


図 2 : 滑膜炎を有する関節のうち骨髄浮腫がみられる割合

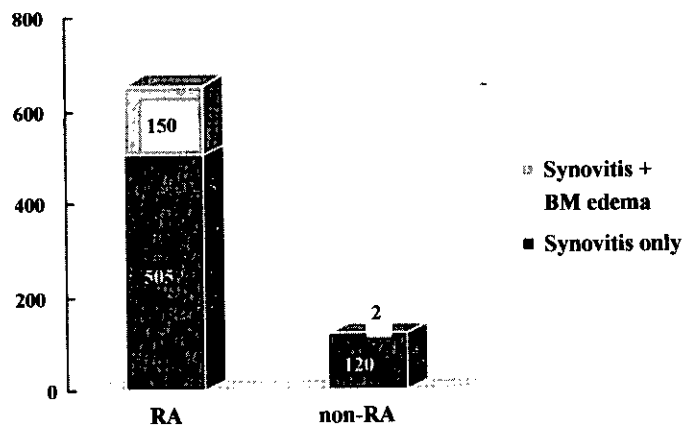
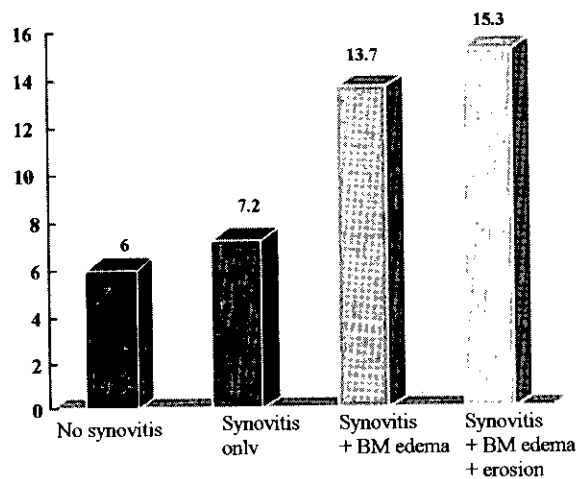


図 3 : 骨変化の有無と E-rate の関係



RA の早期診断と臨床経過、特に関節破壊の進行予測

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

ACR 1987 年改訂分類基準は RA の診断に世界的に汎用されているが、早期診断には適さない。環状シトルリン化ペプチドに対する自己抗体 (抗 CCP 抗体) は診断が確定した RA において、感度 (89%) と特異度 (92%) に優れていることを明らかにした。

初診時診断未確定の関節炎症例をプロスペクティブに臨床経過を追跡した。後に RA と診断がついた症例 (早期 RA) と RA 以外の疾患の診断がついた症例 (非 RA) と 2 群に分け、初診時の臨床所見、臨床検査値、両手同時 MRI 画像所見、HLA-DRB1* genotyping を対比させた。RA と非 RA 群を鑑別する項目を SAS (Speeding Attitude Scale) システムを用いて抽出した。MRI 画像所見の個々のパラメーターの重要性と ACR 1987 年改訂分類基準より、①MRI 所見の対称性手指滑膜炎、②MRI 所見の骨髄浮腫 and/or 骨浸蝕像、③抗 CCP 抗体陽性 and/or IgM-RF 陽性を SAS システムで解析すると、①、②、③の項目すべて RA と非 RA 群間で有意差が見られた。Odds 比は①が 5.2、②が 9.6、③が 7.7 であった。この理由から①、②、③の 3 項目中 2 項目以上を RA と診断すると感度 86.8%、特異度 87.5% であった。この RA の早期診断基準案は感度及び特異度に優れ、今後汎用されることが期待される。

骨髄浮腫はすべて滑膜炎のある関節にのみ見られ、骨髄浮腫のない関節と比較して滑膜炎の活動性が高かった。骨髄浮腫は CRP、MMP-3、RF、抗 CCP 抗体、抗フィラグリン抗体、血清 IL-6 と HLA-DRB1*0405 保有者と相関した。骨髄浮腫とこれらの検査所見は臨床経過、特に関節破壊の進行予測に有用であることが示唆された。

A. 研究目的

関節リウマチ (RA) の治療は、生物学的製剤を含め新規抗リウマチ薬が使用できるようになり、変革の時を迎えている。RA は ACR 1987 年改訂分類基準で診断されるが、早期診断には適さない。RA の臨床経過、特に関節破壊の

進行は個々の症例で異なるが、一般に発症早期ほど早い。この理由から、RA 治療の面からも早期診断と臨床経過の予測が重要視されている。

私たちは初診時診断未確定の関節炎症例をプロスペクティブに 2 年間 6 ヶ月間隔で経過観察し、経時的に、A. 臨

床所見、B. 臨床検査値、C. 画像による関節の軟骨・骨破壊 (単純X線及びMRI撮像) を追跡した。また、初診時 HLA-DRB1* shared epitope や遺伝子多型を解析した。これらの検査結果をもとに、早期診断及び臨床経過、特に関節の軟骨・骨破壊の進行を予測する因子を探索した。

B. 研究方法

1. 症例は初診時診断未確定の関節炎症例 88 例、後に RA と診断確定した症例 57 例 (早期 RA 症例) と RA 以外の疾患の診断がついた症例 19 例 (非 RA 症例) である。
2. MRI は両手全体同時に撮像し、30 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 (造影 MRI) により滑膜炎の活動性を評価した。
3. 臨床検査値：炎症反応 (CRP)、軟骨・骨傷害マーカー (MMP-3)、骨代謝マーカー (骨型 ALP、NTx)、自己抗体 (RF、抗フィラグリン抗体、抗 CCP 抗体)、サイトカイン・増殖因子 (VEGF、TNF α 、IL-6) を測定した。
4. HLA と遺伝子多型：HLA-DRB1* genotyping、炎症及び骨破壊に寄与する遺伝子多型 (サイトカイン、RANKL/RANK/OPG、MMPs、TLRs) を解析した。
5. 江口班多施設研究テーマ：課題 1. 抗 CCP 抗体の感度・特異度を調べる。課題 2. 抗 CCP 抗体の早期診断への有用性。課題 3. 抗 CCP 抗体の臨床経過の予測について検討している。

(倫理面への配慮)

長崎大学医学部の倫理委員会の承認のもとに血清及び DNA はすべてインフォームドコンセントを患者から得て採取した。

C. 研究結果

1. 診断が確定した RA における抗

CCP 抗体の感度と特異度

抗 CCP 抗体は RA 患者 64 例中 57 例 (89.1%) が、その他のリウマチ・膠原病患者 149 例中 12 例 (8.1%) が陽性であった。IgM-RF と IgG-RF は RA ではそれぞれ 81.3%、45.3%が陽性で、その他のリウマチ・膠原病では 30.9%、14.1%が陽性であった (表 1)。抗 CCP 抗体は IgG-RF 陽性症例では全症例が、IgM-RF 陽性症例では 1 症例を除いて全症例が陽性であった。抗 CCP 抗体はシェーグレン症候群 52 例中 5 例 (9.6%) が陽性であった。抗 CCP 抗体は RA において、感度及び特異度において IgM-RF や IgG-RF に比較して極めて優れていた。

2. 初診時診断未確定の関節炎症例による早期診断基準案の作成

初診時診断未確定関節炎症例で、後に RA と診断が確定された症例 (早期 RA) 57 例と RA 以外の疾患がついた症例 (非 RA) 19 例で、初診時の臨床検査値を比較検討した (表 2)。抗 CCP 抗体と抗フィラグリン抗体はそれぞれ早期 RA で 68%、57%に、非 RA で 6%、6%に陽性であった。一方、RF は早期 RA で 67%、非 RA で 17%が陽性であった。MMP-3 値と CRP 値はいずれも早期 RA が非 RA に比較して有意に高値を示した。

初診時の MRI 画像所見では、滑膜炎を伴った関節数と E-rate 値は早期 RA が非 RA に比較して有意に高値を示した。骨髄浮腫は早期 RA で 57.9%、非 RA で 10.5%に、骨浸蝕像は早期 RA で 52.6%に、非 RA で 10.5%に検出された。

RA と非 RA 群を鑑別する項目を SAS (Speeding Attitude Scale) システムを用いて抽出した。MRI 画像の個々のパラメーターの重要性と ACR 1987 年改訂分類基準より、①MRI 所見の対称性手指滑膜炎、②MRI 所見の骨髄浮腫 and/or 骨浸蝕、③抗 CCP 抗体陽性

and/or IgM-RF 陽性を SAS システムで解析すると、①、②、③の項目すべて RA と非 RA 群間で有意差が見られた。Odds 比は①が 5.2、②が 9.6、③が 7.7 であった。

この理由から、①、②、③の 3 項目中 2 項目以上を RA と診断すると、感度 86.8%、特異度 87.5%であった (表 3)。この RA 早期診断基準案は感度及び特異度に優れ、今後汎用されることが期待される。

3. 臨床経過、特に関節の軟骨・骨破壊の予測

初診時診断未確定の関節炎症例で、後に RA と確定診断された 57 症例について、初診時の MRI 所見と臨床検査値とを対比し、相関の有無を検討した (表 4)。MMP-3 値は滑膜炎を伴った関節数、E-rate 値、骨髄浮腫、骨浸蝕のいずれとも相関した。CRP 値は滑膜炎を伴った関節数、E-rate 値、骨髄浮腫と相関した。血清中 TNF α は滑膜炎を伴った関節数と相関した。さらに、RF、抗 CCP 抗体、抗フィラグリン抗体、CRP、MMP-3、血清 IL-6 値と HLA-DRB1*0405 保有者は骨髄浮腫と相関した。なお、血清中 VEGF、NTx、骨型 ALP は MRI 所見のいずれとも相関しなかった。臨床経過、特に関節の軟骨・骨破壊の予測は早期 RA をプロスペクティブに経過を観察し、予測因子を同定するつもりである。今回、1 年以上臨床経過を追跡した症例が少なく、初診時の臨床検査値と MRI 画像所見でのみ解析した。MRI 画像所見と血清 MMP-3 値や CRP 値は良く相関した。また、骨髄浮腫は RF、抗 CCP 抗体、抗フィラグリン抗体、血清 IL-6 値、HLA-DRB1*0405 保有者とも相関した。これらの検査項目は関節の軟骨・骨破壊の指標になることが示唆された。

D. 考 察

RA の臨床経過、特に関節破壊の進行は個々の症例によって異なるが、一般

に発症早期ほど早い。日本でも 2003 年 7 月、抗 TNF α 抗体 (インフリキシマブ) が承認・上市された。この生物学的製剤は関節炎を抑え、身体機能障害を改善させるだけでなく、関節の軟骨・骨破壊の進行を阻止する。しかし、生物学的製剤の問題点として、薬価が高価であり、感染症を含め、時に重篤な副作用がある。これらの理由から、2002 年 ACR の「RA 管理ガイドライン」においても RA の早期診断と臨床経過、特に関節の軟骨・骨破壊の予測が重要視されている。

RA は ACR 1987 年改訂分類基準で診断されるが、RA を早期に診断することにはこの分類基準は適していない。抗 CCP 抗体は環状シトルリン化ペプチドに対する自己抗体で、RA における新たな自己抗体として注目されている。RA において、抗 CCP 抗体の感度は 89.1% で、特異度は 91.9% であり、IgM-RF と IgG-RF の感度と特異度に比較して極めて高い診断的意義を持っていた。また、IgG-RF や IgM-RF の陽性者はほとんどが抗 CCP 抗体陽性であった。

初診時診断未確定関節炎症例を追跡調査し、後に RA と診断された早期 RA 症例と RA 以外の疾患名が診断された非 RA 症例で、初診時の臨床検査値と MRI 画像所見を解析した。早期 RA における抗 CCP 抗体の感度は 68%、特異度は 94% であり、初診時に抗 CCP 抗体が陽性であれば後に RA と診断される可能性が高く、RF よりも RA の早期診断に優れていることが示された。両手 MRI 撮像所見では、骨髄浮腫と骨浸蝕像は、早期 RA でそれぞれ感度は 57.9%、52.6% であり、特異度は両方とも 89.5% と高かった。

RA と非 RA 群を鑑別する項目を SAS (Speeding Attitude Scale) システムを用いて抽出した。MRI 画像所見の個々のパラメーターの重要性と ACR 1987 年改訂分類基準より、①MRI 所見の対

称性手指滑膜炎、②MRI 所見の骨髄浮腫 and/or 骨浸蝕像、③抗 CCP 抗体陽性 and/or IgM-RF 陽性を、SAS システムで解析すると、①、②、③の項目すべて RA と非 RA 群間で有意差が見られた。Odds 比は①が 5.2、②が 9.6、③が 7.7 であった。

この理由から、①、②、③の 3 項目中 2 項目以上を RA と診断すると感度 86.8%、特異度 87.5%であった。この RA 早期診断基準案は感度及び特異度に優れ、今後汎用されることが期待される。

骨髄浮腫はすべて滑膜炎のある関節にみられ、骨髄浮腫のない関節と比較して滑膜炎の活動性が高かった。骨髄浮腫は CRP、MMP-3、RF、抗 CCP 抗体、抗フィラグリン抗体、血清 IL-6 と HLA-DRB1*0405 保有者と相関した。骨髄浮腫とこれらの検査所見は臨床経過、特に関節破壊の進行予測に有用であることが示唆された。

E. 結論

抗 CCP 抗体は RA において感度及び特異度で極めて優れている。初診時に ACR 1987 年改訂分類基準を満たさない症例で、①両手 MRI 撮像所見の対称性関節炎、②骨髄浮腫 and/or 骨浸蝕陽性、③抗 CCP 抗体陽性 and/or IgM-RF 陽性の症例は、後に RA と診断される確率が高い。これらの項目を組み合わせることにより、RA の早期診断基準案を作成することができた (表 4)。この早期診断基準案は感度 86.8%、特異度 87.5%と優れていた。

RA の関節破壊を予測する因子として、①血清学的検査 (MMP-3、CRP 値)、②自己抗体 (RF、抗 CCP 抗体)、③MRI 撮像所見 (E-rate 値、骨髄浮腫、骨浸蝕像)、④HLA-DRB1*0405 などが挙げられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanaka F, Migita K, Kawabe Y, Aoyagi T, Ida H, Kawakami A, Eguchi K. Interleukin-18 induces serum amyloid A (SAA) protein production from rheumatoid synovial fibroblasts. *Life Sci* 74 (13): 1671-1679, 2004.
- 2) Saeki A, Nakao K, Nagayama Y, Yanagi K, Matsumoto K, Hayashi T, Ishikawa H, Hamasaki K, Ishii N, Eguchi K. Diverse efficacy of vaccination therapy using the alpha-fetoprotein gene against mouse hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Med* 13 (1): 111-116, 2004.
- 3) Ide A, Kawasaki E, Abiru N, Sun F, Kobayashi M, Fukushima T, Takahashi R, Kuwahara H, Kita A, Oshima K, Uotani S, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Eguchi K. Association between IL-18 gene promoter polymorphisms and CTLA-4 gene 49A/G polymorphism in Japanese patients with type 1 diabetes. *J Autoimmun* 22 (1): 73-78, 2004.
- 4) Origuchi T, Kawasaki E, Ide A, Kamachi M, Tanaka F, Ida H, Kawakami A, Migita K, Eguchi K. Correlation between interleukin 10 gene promoter region polymorphisms and clinical manifestations in Japanese patients with Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 62 (11): 1117-1118, 2003.
- 5) Nakashima K, Kawakami A, Hida A, Yamasaki S, Nakamura H, Kamachi M, Miyashita T, Tanaka F, Izumi Y, Tamai M, Ida H, Furuyama M, Koji T, Nakamura T, Migita K, Origuchi T, Eguchi K. Protection of mitochondrial perturbation by human T-lymphotropic virus type 1 tax through induction of Bcl-xL expression. *J Lab Clin Med* 142 (5): 341-347, 2003.
- 6) Ida H, Huang M, Hida A, Origuchi T, Kawakami A, Migita K, Tsujihata M, Mimori T, Eguchi K. Characterization of anticytoplasmic antibodies in patients with systemic autoimmune disease. *Mod Rheumatol* 13 (4): 333-338, 2003.
- 7) Ida H, Nakashima T, Kedersha NL, Yamasaki S, Huang M, Izumi Y, Miyashita T, Origuchi T, Kawakami A,

- Migita K, Bird PI, Anderson P, Eguchi K. Granzyme B leakage-induced cell death: a new type of activation-induced natural killer cell death. *Eur J Immunol* 33 (12): 3284-3292, 2003.
- 8) Miyashita T, Kawakami A, Tamai M, Izumi Y, Mingguo H, Tanaka F, Abiru S, Nakashima K, Iwanaga N, Aratake K, Kamachi M, Arima K, Ida H, Migita K, Origuchi T, Tagashira S, Nishikaku F, Eguchi K. Akt is an endogenous inhibitor toward tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand-mediated apoptosis in rheumatoid synovial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 312 (2): 397-404, 2003.
- 9) Kita-Furuyama M, Nagayama Y, Pichurin P, McLachlan SM, Rapoport B, Eguchi K. Dendritic cells infected with adenovirus expressing the thyrotrophin receptor induce Graves' hyperthyroidism in BALB/c mice. *Clin Exp Immunol* 131 (2): 234-240, 2003.
- 10) Tanaka F, Migita K, Honda S, Fukuda T, Mine M, Nakamura T, Yamasaki S, Ida H, Kawakami A, Origuchi T, Eguchi K. Clinical outcome and survival of secondary (AA) amyloidosis. *Clin Exp Rheumatol* 21 (3): 343-346, 2003.
- 11) Kusumoto K, Origuchi T, Migita K, Tanaka F, Miyashita T, Hida A, Ida H, Kawakami A, Kawabe Y, Ashizawa K, Eguchi K. A case of amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis complicated with Graves' ophthalmopathy. *Mod Rheumatol* 13: 261-264, 2003.
- 12) Migita K, Eguchi K. FK506: Anti-Inflammatory properties. *Curr Med Chem-Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents* 2 (3): 260-264, 2003.
- 13) Yanagi K, Nagayama Y, Nakao K, Saeki A, Matsumoto K, Ichikawa T, Ishikawa H, Hamasaki K, Ishii N, Eguchi K. Immuno-gene therapy with adenoviruses expressing fms-like tyrosine kinase 3 ligand and CD40 ligand for mouse hepatoma cells in vivo. *Int J Oncol* 22 (2): 345-351, 2003.
- 14) Ichikawa H, Nakao K, Matsumoto K, Ichikawa T, Hamasaki K, Nakata K, Eguchi K. Antiangiogenic gene therapy for hepatocellular carcinoma using angiostatin gene. *Hepatology* 37 (3): 696-704, 2003.
- 15) Shigeno M, Nakao K, Ichikawa T, Suzuki K, Kawakami A, Abiru S, Miyazoe S, Nakagawa Y, Ishikawa H, Hamasaki K, Nakata K, Ishii N, Eguchi K. Interferon- α sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis through DR5 upregulation and NF- κ B inactivation. *Oncogene* 22 (11): 1653-1662, 2003.
- 16) Hamasaki K, Nakao K, Matsumoto K, Ichikawa T, Ishikawa H, Eguchi K. Short interfering RNA-directed inhibition of hepatitis B virus replication. *FEBS Lett* 543 (1-3): 51-54, 2003.
- 17) Ohata K, Hamasaki K, Toriyama K, Matsumoto K, Saeki A, Yanagi K, Abiru S, Nakagawa Y, Shigeno M, Miyazoe S, Ichikawa T, Ishikawa H, Nakao K, Eguchi K. Hepatic steatosis is a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Cancer* 97 (12): 3036-3043, 2003.
- 18) Matsumoto K, Tanigawa K, Nakao H, Okudaira S, Yamada M, Kishikawa H, Eguchi K. A case of pancreatic ascites and pleural effusion: Confirmation of a pancreatic duct contrast leakage using computed tomography after endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Acta Med Nagasaki* 48: 73-76, 2003.
- 19) Nakao K, Hamasaki K, Wakihama N, Maeda M, Ohtsubo N, Sagiike T, Ichikawa T, Ishikawa H, Eguchi K, Ishii N. Analysis of anti-HBs levels in healthcare workers over 10 years following booster vaccination for hepatitis B virus. *Vaccine* 21 (25-26): 3789-3794, 2003.
- 20) Fukuda T, Motomura M, Nakao Y, Shiraishi H, Yoshimura T, Iwanaga K, Tsujihata M, Eguchi K. Reduction of P/Q-type calcium channels in the postmortem cerebellum of paraneoplastic cerebellar degeneration

- with Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *Ann Neurol* 53 (1): 21-28, 2003.
- 21) Motomura M, Nakao Y, Fukudome T, Fukuda T, Shiraishi H, Yoshimura T, Tsujihata M, Eguchi K. What's in the serum of seronegative MG and LEMS? *Neurology* 2 (2): 277-278, 2003.
- 22) Motomura M, Fukuda T, Nakao Y, Shiraishi H, Yoshimura T, Iwanaga K, Tsujihata M, Desaka-Akita H, Eguchi K. Reply. *Ann Neurol* 54 (2): 277-278, 2003.
- 23) Ashizawa K, Eguchi K. Serum anti-myeloperoxidase antineutrophil cytoplasmic antibodies (MPO-ANCA) in patients with Graves' disease receiving anti-thyroid medication. *Intern Med* 42 (6): 463-464, 2003.
- 24) Ide A, Kawasaki E, Abiru N, Sun F, Fukushima T, Takahashi R, Kuwahara H, Fujita N, Kita A, Oshima K, Uotani S, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Kawabata Y, Fujisawa T, Ikegami H, Eguchi K. Stromal-cell derived factor-1 chemokine gene variant is associated with type 1 diabetes age at onset in Japanese population. *Hum Immunol.* 64 (10): 973-978, 2003.
- 25) Fujita N, Sakamaki H, Uotani S, Takahashi R, Kuwahara H, Kita A, Oshima K, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Eguchi K. Acute effects of ethanol on feeding behavior and leptin-induced STAT3 phosphorylation in rat hypothalamus. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27 (1): 55-59, 2003.
- 26) Kita A, Uotani S, Kuwahara H, Takahashi R, Oshima K, Yamasaki H, Mizuguchi H, Hayakawa T, Nagayama Y, Yamaguchi Y, Eguchi K. Vanadate enhances leptin-induced activation of JAK/STAT pathway in CHO cells. *Biochem Biophys Res Commun* 302 (4): 805-809, 2003.
- 27) Ozaki M, Yamasaki H, Kondo H, Yamasaki S, Fujita N, Yamauchi MD, Abe T, Yamakawa K, Sera Y, Uotani S, Kawasaki E, Takino H, Kijima H, Kondo T, Yamaguchi Y, Eguchi K. Enhanced insulin gene expression by reduced intracellular glutathione level in insulin secreting cells MIN6. *Diabetes Nutr Metab* 16 (2): 81-87, 2003.
- 28) Kuwahara H, Uotani S, Abe T, Degawa-Yamauchi M, Takahashi R, Kita A, Fujita N, Oshima K, Sakamaki H, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Eguchi K. Insulin attenuates leptin-induced STAT3 tyrosine-phosphorylation in a hepatoma cell line. *Mol Cell Endocrinol* 205 (1-2): 115-120, 2003.
- 29) Ohata K, Ichikawa T, Nakao K, Shigeno M, Nishimura D, Ishikawa H, Hamasaki K, Eguchi K. Interferon alpha inhibits the nuclear factor kappa B activation triggered by X gene product of hepatitis B virus in human hepatoma cells. *FEBS Lett* 553 (3): 304-308, 2003.
- 30) Ichikawa T, Hamasaki K, Ishikawa H, Ejima E, Eguchi K, Nakao K. Non-alcoholic steatohepatitis and hepatic steatosis in patients with adult onset growth hormone deficiency. *Gut* 52 (6): 914, 2003.
- 31) Akahoshi M, Amasaki Y, Soda M, Hida A, Imaizumi M, Nakashima E, Maeda R, Seto S, Yano K. Effects of radiation on fatty liver and metabolic coronary risk factors among atomic bomb survivors in Nagasaki. *Hypertens Res* 26 (12): 965-970, 2003.
- 32) Shimizu I, Makino H, Osawa H, Kounoue E, Imagawa A, Hanafusa T, Kawasaki E, Fujii Y. Association of fulminant type 1 diabetes with pregnancy. *Diabetes Res Clin Pract* 62 (1): 33-38, 2003.
- 33) Fujita N, Sakamaki H, Uotani S, Takahashi R, Kuwahara H, Kita A, Oshima K, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Eguchi K. Intracerebroventricular administration of insulin and glucose inhibits the anorectic action of leptin in rats. *Exp Biol Med* 228 (10): 1156-1161, 2003.
- 34) Fukuda T, Motomura M, Nakao Y, Shiraishi H, Yoshimura T, Iwanaga K, Tsujihata M, Eguchi K. Reduction of P/G-type calcium channels in the

- postmortem cerebellum of paraneoplastic cerebellar degeneration with Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *Ann Neurol* 53: 21-28, 2003.
- 35) Yanagi K, Nagayama Y, Nakao K, Saeki A, Matsumoto K, Ichikawa T, Ishikawa H, Hamasaki K, Ishii N, Eguchi K. Immuno-gene therapy with adenoviruses expressing fms-like tyrosine kinase 3 ligand and CD40 ligand for mouse hepatoma cells in vivo. *Int J Oncol* 22: 345-351, 2003.
- 36) 江口勝美. ヒト抗 TNF α 抗体アダリムマブを用いた関節リウマチの治療. *炎症免疫* 12 (1): 70-77, 2004.
- 37) 江口勝美. 関節リウマチの合併症の治療. *臨床と研究* 81 (2): 27-33, 2004.
- 38) 江口勝美. RA の病態と最新の薬物療法. *骨・関節・靭帯* 17 (2): 149-159, 2004.
- 39) 川上純, 江口勝美. Adalimumab. *Current Therapy* 22 (1) 44-47, 2004.
- 40) 折口智樹, 井田弘明, 江口勝美. 関節リウマチの最新薬物療法. *ナーシング* 24 (2): 6-17, 2004.
- 41) 川上純, 玉井慎美, Hashmi Rashid, 上谷雅孝, 青柳潔, 江口勝美. MRI の進歩. *内科* 93 (2): 229-231, 2004.
- 42) 川上純, 宮下賜一郎, 玉井慎美, 田中史子, 江口勝美. TRAIL 欠損マウスにおける自己免疫疾患の発症. *臨床免疫* 41 (1): 73-77, 2004.
- 43) 折口智樹, 江口勝美. シェーグレン症候群. *診断と治療* 92 (2): 265-270, 2004.
- 44) 濱崎圭輔, 江口勝美. RNAi による B 型肝炎の治療を目指して. *Molecular Medicine* 41 (1): 30-34, 2004.
- 45) 江口勝美. ACR ガイドラインはどう変わったのか. *Arthro-Care* 3 (4): 2-5, 2003.
- 46) 江口勝美, 中島宗敏. 抗リン脂質抗体症候群. *今月の治療* 10 (臨時増刊号): S281-S284, 2003.
- 47) 江口勝美, 折口智樹. RA のテーラ
- ーメイド治療は可能か. *診断と治療* 91 (5): 866-872, 2003.
- 48) 江口勝美. 関節リウマチの重篤な合併症の早期診断とその対策. *日本医事新報* 4131: 1-8, 2003.
- 49) 江口勝美. COX-2 選択的阻害薬の現況とさらなる可能性. *医薬ジャーナル* 39 (7): 83-92, 2003.
- 50) 江口勝美. 高齢者にみられる多発関節炎. *CLINICIAN* 522 (50): 25-30, 2003.
- 51) 江口勝美, 田中良哉. リウマチ膠原病の重症肺病変. *九州リウマチ* 23 (1): S1, 2003.
- 52) 江口勝美. 変化するリウマチ治療と期待される”生物学的製剤”. *INFO RDIC* 3: 1-9, 2003.
- 53) 江口勝美. 早期関節リウマチの考え方. *Pharma Medica* 21 (12): 27-31, 2003.
- 54) 川崎英二, 江口勝美. 1 型糖尿病の分子マーカー. *医学のあゆみ* 207 (9): 719-723, 2003.
- 55) 川上純, 江口勝美. シェーグレン症候群. *看護アセスメントに役立つ検査の読み方*, 医学芸術社 p433-438, 2003.
- 56) 山崎聡士, 江口勝美. 関節リウマチにおける滑膜恒常性の再生. *リウマチ科* 30 (2): 163-170, 2003.
- 57) 山崎聡士, 江口勝美. 滑膜線維芽細胞の分化能と治療応用への可能性. *臨床免疫* 40 (2): 172-179, 2003.
- 58) 井田弘明, 江口勝美. NK 細胞における活性化誘導細胞死の機序. *臨床免疫* 40 (2): 232-236, 2003.
- 59) 右田清志, 江口勝美. 二次性アミロイドーシス—原因と対策—. *九州リウマチ* 23 (1): 11-16, 2003.
- 60) 山崎聡士, 江口勝美. 関節リウマチにおける滑膜恒常性の再生. *リウマチ科* 30 (2): 163-170, 2003.

H. 知的所有権の出願・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

表1. 診断確定したリウマチ・膠原病疾患の自己抗体の頻度

	抗 CCP 抗体	IgM-RF	IgG-RF
関節リウマチ (64症例)	57例 (89.1%)	52例 (81.3%)	29例 (45.3%)
関節リウマチ 以外の リウマチ・膠原病 (149症例)	12例 (8.1%)	46例 (30.9%)	21例 (14.1%)

表2. 初診時診断未確定関節炎の prospective study
(江口、上谷)

(1) 自己抗体

	早期 RA	非 RA	P
抗 CCP 抗体	68%	6%	0.00001
抗フィラグリン抗体	57%	6%	0.0003
RF	67%	17%	0.0002
MMP-3値	154 ± 210	44 ± 58	0.001
CRP	1.86 ± 2.89	1.09 ± 2.72	0.01

(2) MRI 所見

	早期 RA	非 RA	P
滑膜炎を伴った関節数	11.5 ± 7.0	6.3 ± 8.5	0.004
E-rate	7.81 ± 3.29	5.46 ± 2.52	0.02
骨髄浮腫 (%)	60.0%	10.5%	0.0002
(数)	2.63 ± 3.55	0.11 ± 0.32	0.0002
骨浸蝕 (%)	50.0%	10.5%	0.001
(数)	1.90 ± 2.88	0.11 ± 0.32	0.001

表3. 関節リウマチの早期診断基準案

(江口班 2004年)

1. MRI 所見で対称性手及び指滑膜炎
(必ずしも左右対称とは限らない)
2. MRI 所見で下記のいずれか1つを満たす
 - ①骨髄浮腫
 - ②骨浸蝕
3. 自己抗体で下記のいずれか1つを満たす
 - ①抗 CCP 抗体
 - ②IgM-RF

以上3項目中2項目以上を満たすもの

表4. 初回 MRI 所見と臨床検査値との相関

	MRI所見			
	滑膜炎を 伴った 関節数	E-rate	骨髄浮腫	骨浸蝕
RF (%)	P=0.14	P=0.74	<u>P=0.048</u>	P=0.36
抗 CCP 抗体 (%)	P=0.06	P=0.55	<u>P=0.002</u>	P=0.57
抗 Filaggrin 抗体 (%)	P=0.43	P=0.77	<u>P=0.032</u>	P=0.86
CRP (mg/dl)	<u>P=0.01</u>	<u>P=0.01</u>	<u>P=0.0002</u>	P=0.07
MMP-3 (ng/ml)	<u>P=0.01</u>	<u>P=0.0005</u>	<u>P=0.001</u>	<u>P=0.00006</u>
TNF α	<u>P=0.02</u>	P=0.74	P=0.16	P=0.99
IL-6	P=0.06	P=0.10	<u>P=0.005</u>	P=0.35
HLA-DRB1*0405	P=0.34	P=0.91	<u>P=0.04</u>	P=0.34

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

分担研究者：住田孝之

(筑波大学臨床医学系内科 教授)

研究要旨

本研究では、1)関節リウマチ(RA)における早期診断の指標として NKT 細胞がなりうるかどうか？2)可溶性 CD1d 分子が RA の早期診断に有用であるか否か？ 3) NKT 細胞を介した関節炎の制御が可能かどうか？を明らかにすることを目的とした。結果として、1) 早期 RA 患者末梢血では、NKT 細胞は有意に低下しているが、疾患特異的ではなかった。2) 可溶性 CD1d 分子の mRNA は RA 特異的に減少していた。蛋白レベルでの低下も認められた。3) タイプ II コラーゲン(CII)誘導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。一方、NKTKO マウスおよび CD1dKO マウスでは、関節炎の発症率、関節炎スコア、抗 CII 抗体が減少していた。以上より、NKT 細胞、可溶性 CD1d 分子は RA の早期診断に関して補助的マーカーになりうると考えられた。また、NKT 細胞には regulatory NKT 細胞と effector NKT 細胞が存在し、分子治療の標的と成りうることが示唆された。

A. 研究目的

自己免疫病モデルマウスの研究から、NKT 細胞は自己免疫病をネガティブに制御する調節性 T 細胞であることが示唆されている。私達は、フローサイトメトリー法を用いてヒトの NKT 細胞を測定する方法を確立し、関節リウマチ(RA)において NKT 細胞が減少していることを明らかにしてきた。さらに、その減少の機序として、可溶性 CD1d 分子などのバリエーションの存在を明らかにしてきた。そこで、本研究では、1) NKT 細胞が RA の早期診断のマーカーに成りうるか否か、2) 可溶性 CD1d 分子が RA の早期診断マーカーに有用か否か？ 3) 関節炎の動物モデルをもちいて、NKT

細胞を介した RA の治療が可能か否かを検討することを目的とした。

B. 研究方法

1) 25 名の早期 RA、28 名の進行 RA、24 名の健常人を対象として、末梢血中 NKT 細胞、double negative (DN)および CD4+TCRAV24+BV11+NKT 細胞数を 5 カラーのフローサイトメトリーを用いて定量した。

2) RA と健常人の血清中の可溶性 CD1d 分子(sCD1d)を蛋白レベルで測定するために、ウサギにキャリア蛋白をつけた合成ペプチド (QDLWTSQSGSDFSPG) を免疫しポリクローナルな抗体を作成した。Western ブロット法にてポリクロ

ーナル抗体の抗原特異性を検定した後、モノクローナル抗 CD1d 抗体を用いたサンドイッチ ELISA 法にて sCD1d 蛋白を測定した。

3) RA の動物モデルであるコラーゲンタイプ II(CII)誘導関節炎モデルマウス (CIA) を用いて、免疫時に α -GalCer20ug を投与することにより関節炎への影響、IL-4、IFN- γ 産生、NKT 細胞数、抗 CII 抗体価について検討した。さらに、NKT 細胞ノックアウトマウス、CD1 ノックアウトマウスに CII を免疫して関節炎発症頻度、関節炎スコア、抗 CII 抗体価などについて検討した。

C. 研究結果

1) NKT 細胞は、早期 RA(11.5 \pm 24.3)および進行 RA(6.7 \pm 9.5)において健常人と比較して(29.6 \pm 37.6)有意に減少していた ($p < 0.0005$)。同様に、DNNKT 細胞も、早期 RA(4.2 \pm 7.1)および進行 RA(4.2 \pm 9.4)において健常人と比較して (17.4 \pm 24.9)有意に減少していた ($p < 0.005$)。また、CD4+NKT 細胞も早期 RA、進行 RA において減少していた。

2) RA における sCD1dmRNA (2.0 \pm 0.33) は、健常人 (6.9 \pm 2.08)、全身性エリテマトーデス、シェーグレン症候群と比較して有意に減少していた ($p < 0.05$)。RA における sCD1d の蛋白量 (40 μ g/ml) も健常人(180 μ g/ml)に比して優位に低下していた。

3) α GalCer を CII と同時投与した場合、関節炎の発症は 90%から 60%へ抑制され、病理学的解析である関節係数は、軽度改善していた。

一方、NKT 細胞ノックアウトマウスでは、関節炎の発症率(40%)がコントロールマウス(90%)に比べて有意に低下していた。関節炎スコアも有意に減少していた (1.5vs5.5)。さらに、抗 CII 抗体価も有意に低下していた (0.3vs0.6)。同様に、CD1 ノックアウトマウスにおいても、関節炎の発症頻度 (40%) と関節炎スコア (2.0) の低下が認められた。

D. 考察

NKT 細胞は進行 RA ばかりでなく、早期 RA の補助的な診断マーカーとなりうる可能性が判明した。可溶性 CD1d 分子は RA で特異的に蛋白レベルでも減少していることから、診断に有用であることが示された。CIA モデルマウスにおいては、NKT 細胞は関節炎を制御する regulatory NKT 細胞ばかりでなく、関節炎を誘導する effector NKT 細胞としても機能していることが明らかにされた。

E. 結論

NKT 細胞数の測定は早期 RA、進行 RA において診断に有用であり、sCD1d は RA 特異的な診断マーカーの可能性が考えられた。NKT 細胞は二極性の機能を有するために phenotype を含めた更なる検討が必要であるが、RA を制御する分子ターゲットの一つとして期待できよう。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsumoto I, Lee DM, Goldbach-Mansky R, Sumida T, Hitchon CA, Schur PH, Anderson RJ, Coblyn JS, Weinblatt ME, Brenner M, Duclos B, Pasquali J-L, El-Gabalawy H, Mathis D, Benoist C. Low prevalence of antibodies to glucose-6-phosphate isomerase in patients with rheumatoid arthritis and a spectrum of other chronic autoimmune disorders. *Arthritis Rheum* 48: 944-954, 2003.
- 2) Tsutsumi A, Ikegami H, Takahashi R, Murata H, Goto D, Matsumoto I, Fujisawa T, Sumida T. Mannose binding lectin gene polymorphism in patients with type I diabetes. *Human Immunol* 64: 621-624, 2003.
- 3) Yoshida K, Tsutsumi A, Onishi Y,

- Akimoto T, Murata H, Sumida T. T cell epitopes on prothrombin in patients with antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 62: 1-2, 2003.
- 4) Kojo S, Tsutsumi A, Goto D, Sumida T. Low expression of soluble CD1d gene in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 30: 2524-2528, 2003.
- 5) Shibuya K, Shirakawa J, Kameyama T, Honda S-I, Tahara-Hanaoka S, Miyamoto A, Onodera M, Sumida T, Nakauchi H, Miyoshi H, Shibuya A. CD226 (DNAM-1) is involved in LFA-1 costimulatory signal for naïve T cell differentiation and proliferation. *J Exp Med* 198: 1829-1839, 2003.
- 6) Arakaki R, Ishimaru N, Saito I, Kobayashi M, Yasui N, Sumida T, Hayashi Y. Development of autoimmune exocrinopathy resembling Sjogren's syndrome in adoptively transferred mice with autoreactive CD4+ T cells. *Arthritis Rheum* 48: 3603-3609, 2003.
- 7) Ohnishi Y, Tsutsumi A, Sumida T. Antibodies to type II collagen and their association with HLA DR1 allele in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 13: 69-72, 2003.
- 8) Adachi Y, Tsutsumi A, Murata H, Takemura H, Chino Y, Takahashi R, Ebitsuka T, Sumida T. Behcet's disease accompanied by myelodysplastic syndrome with trisomy 8: Two case reports and review of 15 Japanese cases. *Mod Rheumatol* 13: 90-94, 2003.
- 9) Ohnishi Y, Tsutsumi A, Sakamaki T, Sumida T. T cell epitopes of type II collagen in HLA-DRB1*0101 or DRB1*0405-positive Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Int J Mol Med* 11: 331-335, 2003.
- 10) Murata H, Adachi Y, Ebitsuka T, Chino Y, Takahashi R, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Tsutsumi A, Akaza H, Sumida T. Reiter's syndrome following intravesical *Bacillus bilie de Calmette-Guerin* treatment for superficial bladder carcinoma. Report of six cases. *Mod Rheumatol*, in press.
- 11) Muraki Y, Tsutsumi A, Takahashi R, Suzuki E, Hayashi T, Chino Y, Goto D, Matsumoto I, Murata H, Sumida T. Polymorphisms of IL-1 β gene in Japanese patients with Sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*, in press.
- 12) Tsutsumi A, Adachi Y, Murata H, Kojo S, Shibuya K, Nakamura H, Sumida T. G0S24, a gene that regulates TNF α production, is highly expressed in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, in press.
- 13) Takahashi R, Tsutsumi A, Ohtani K, Goto D, Matsumoto I, Ito S, Wakamiya N, Sumida T. Anti-mannose binding lectin antibodies in sera of Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol*, in press.

H. 知的所有権の出願・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

図1. 早期 RA における NKT 細胞

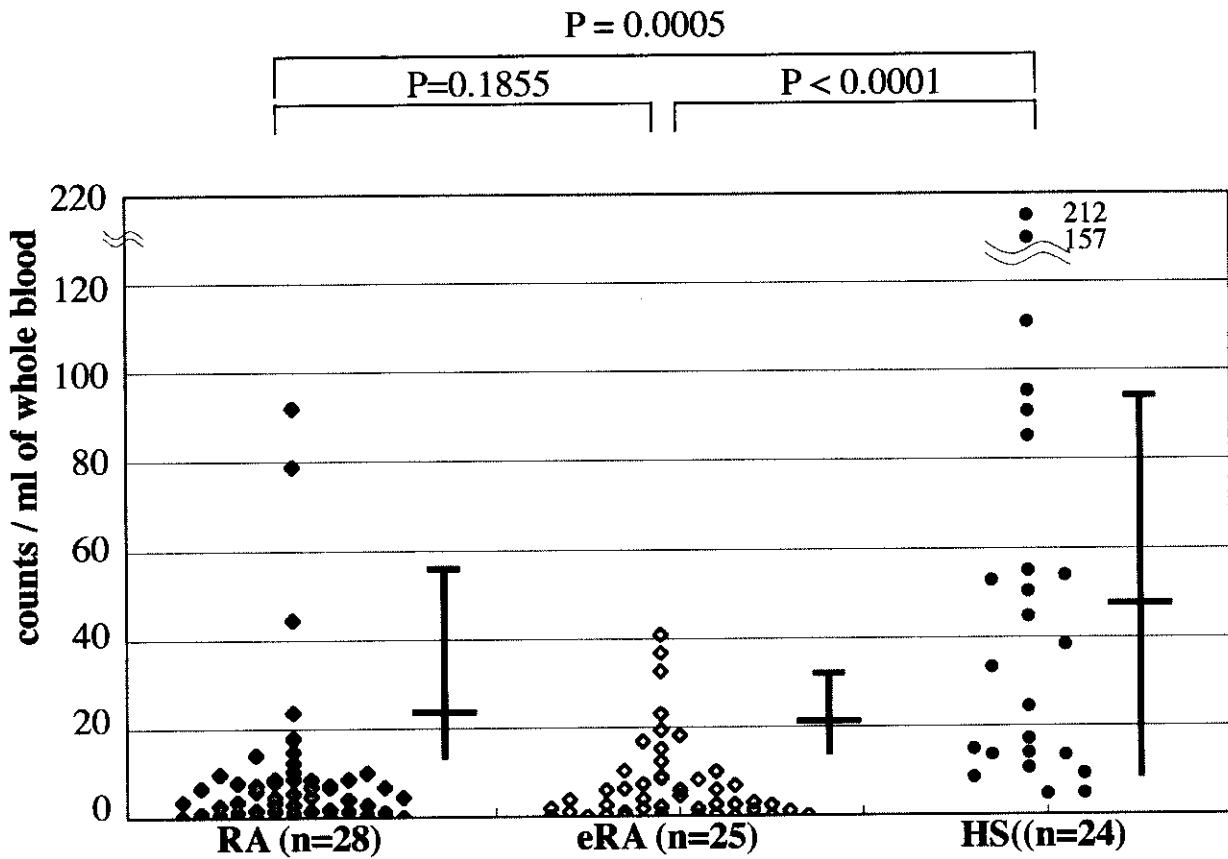


図2. RA における可溶性 CD1d 分子

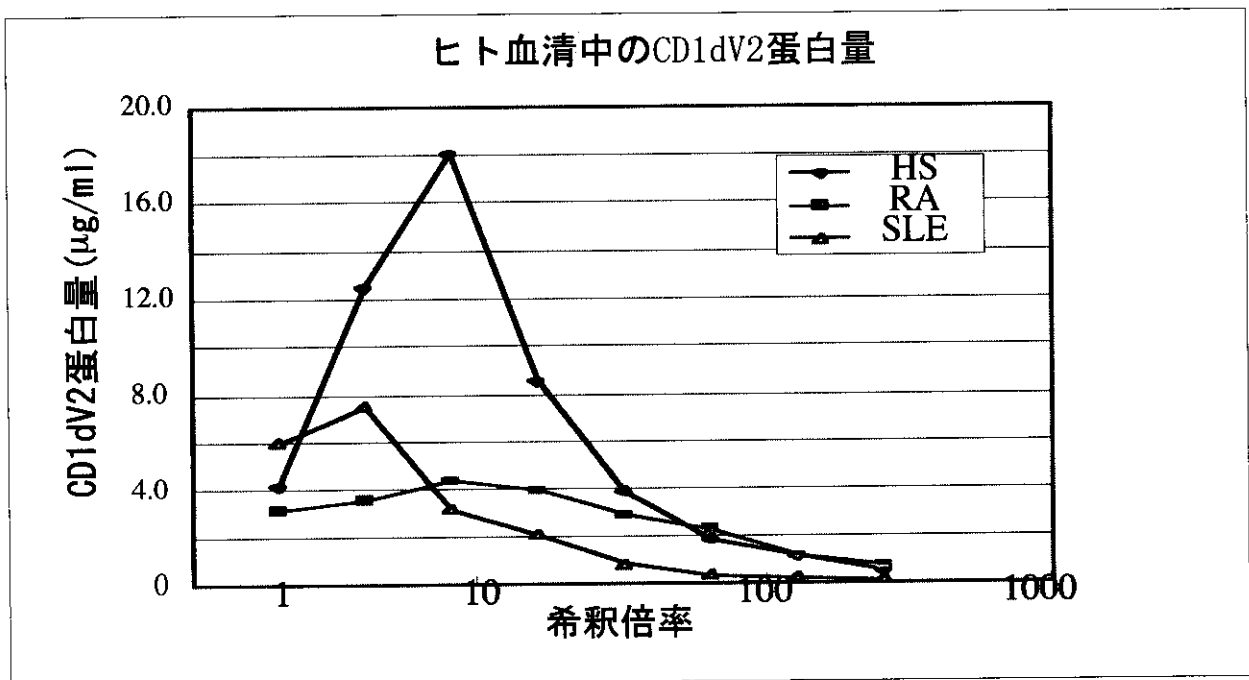
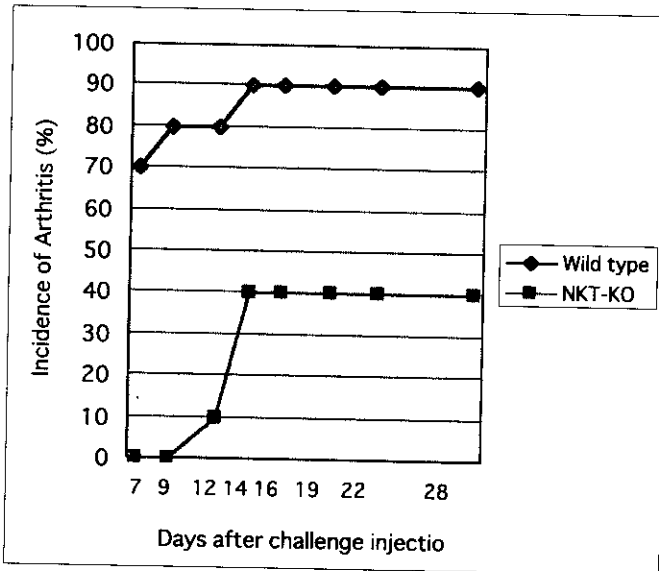
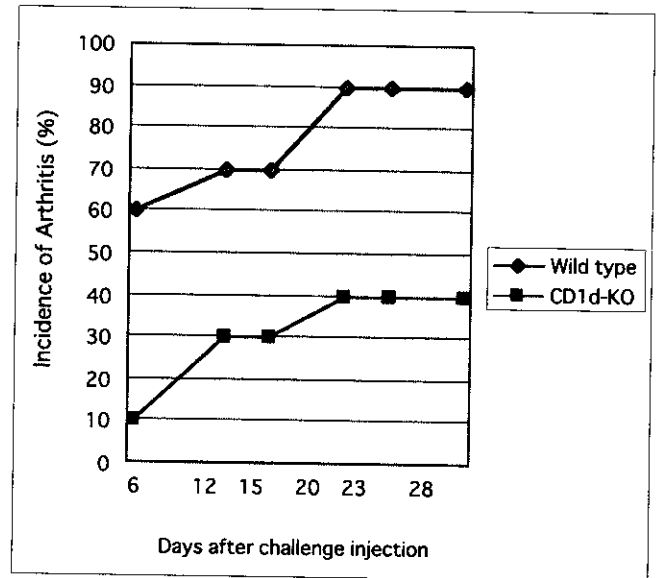


図3. NKT KO マウスおよび CD1d KO マウスの関節炎発症率

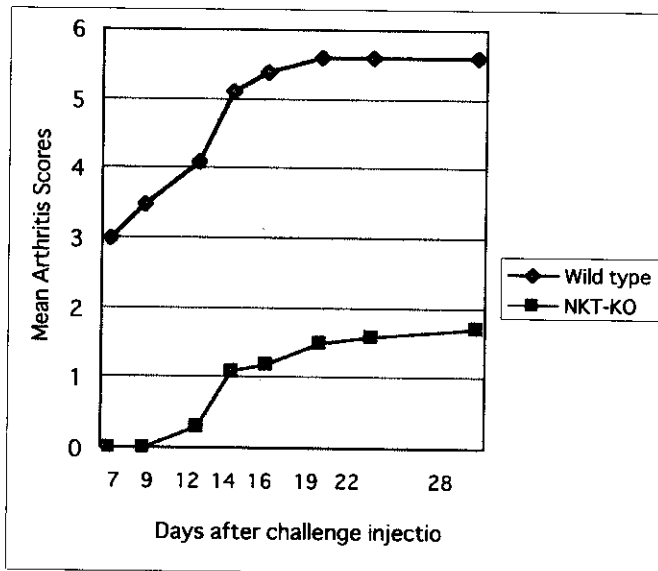
(a)



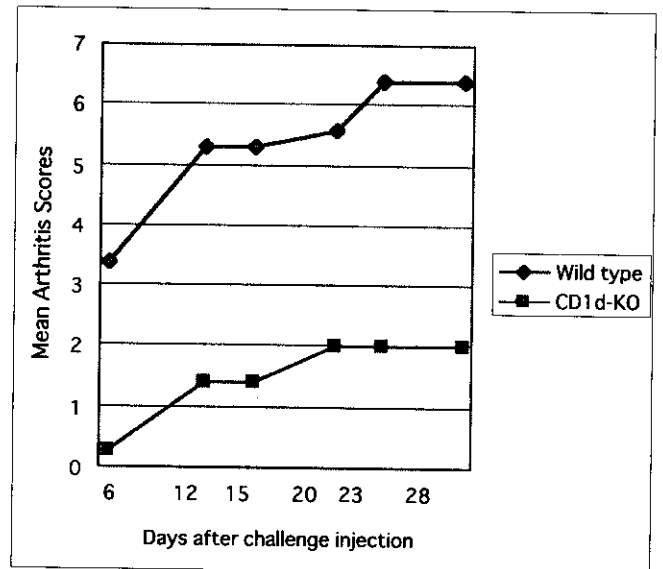
(c)



(b)



(d)



RA 患者滑膜細胞の遺伝子発現プロファイル解析
: Notch の活性化とその意義に関する研究

分担研究者：岡本 尚
(名古屋市立大学大学院医学研究科細胞分子生物学 教授)

研究要旨

RA 患者の滑膜細胞の遺伝子発現プロファイル解析を実施した結果、TNF 刺激により発生期における細胞運命決定因子である Notch-1, Notch-4 とそのリガンド分子 Jagged-2 の発現が特異的に起こった。この結果は、RA 滑膜細胞が発生期の増殖性に富んだ形質を改めて再獲得していることを示し、RA に特徴的な関節破壊をともなう増殖性滑膜組織と自己永続性の炎症応答を説明した。すなわち、RA における滑膜細胞の異常は免疫炎症応答に付随・続発するものではなく、それ自体で内在的な異常を持つものであり、従来の RA 治療体系に代わる新たな治療戦略構築のための重要な情報が提示されたものと考えられる。

A. 研究目的

関節リウマチ(RA)における滑膜細胞レベルの異常を明らかにするために、遺伝子発現プロファイル解析を用いて TNF 刺激時で RA 滑膜細胞に特異的に発現誘導の起こる遺伝子を検索した。さらに、その結果の意味するところを実験的に検証し、RA において果たして滑膜細胞に a priori な異常があるのか否かを論じた。

B. 研究方法

1. TNF 刺激時の滑膜細胞の遺伝子発現プロファイル解析

リウマチ炎症を代替する意味で、TNF を実際の RA 患者関節液に見られる濃度(200 pg/ml)で培養液に加え、遺伝子プロファイル解析を実施した。遺伝子プロファイル解析で有意に発現量の変化していた遺伝子については real-time

RT-PCR にて定量し、結果を確認した。TNF に対する滑膜細胞の応答は、細胞内シグナル伝達系を介して転写因子 NF- κ B と AP1 の活性化を引き起こし、さらに誘導されるサイトカインなどの産生を介してその応答は2次的に拡大してゆく。そこで、1次応答の目安として刺激6時間後とともに24時間後の2次応答以降の遺伝子発現プロファイル変化を追って、RA と正常滑膜細胞とで比較した。その結果、興味深いことに、TNF 刺激6時間後の時点で、RA では、Notch1、Notch4 とともに、そのリガンドである Jagged2 の発現が亢進していた。なお、NF- κ B の標的遺伝子である IL-6 や IL-1 の発現誘導は、RA と正常滑膜細胞とで差を認めなかったことから、NF- κ B 活性化に関する主要なシグナルカスケードは両者で違いがないことが示された。他方、関節破壊に関