

200400718A

厚生労働科学研究補助金
免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

関節リウマチの先端的治療に関する研究

平成16年度 研究報告書

主任研究者 西岡 久寿樹

平成17年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

西岡久寿樹

聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1

II. 分担研究報告

岩倉 洋一郎

東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・9

尾崎 承一

聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・12

高柳 広

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・17

妻木 範行

大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・21

田中 栄

東京大学大学院医学系研究科感覚・運動機能医学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・24

千葉 一裕

慶応義塾大学医学部整形外科・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・28

中島 利博

聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・30

吉田 勝美

聖マリアンナ医科大学予防医学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・33

青葉 安里

聖マリアンナ医科大学神経精神科学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・38

新井 平伊

順天堂大学医学部精神医学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・39

植田 弘師

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科薬学系分子薬理学分野・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・41

浦野 房三

長野県厚生連篠ノ井病院リウマチ膠原病センター・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・44

福田 国彦

東京慈恵会医科大学放射線医学・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・47

松本美富士 山梨県立看護大学短期大学部人間・健康科学	49
宮崎 東洋 順天堂大学医学部ペインクリニック	53
村上 正人 日本大学医学部内科学教室	55
行岡 正雄 医療法人行岡医学研究会行岡病院	58
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	60

関節リウマチの先端的治療に関する研究

主任研究者 西岡 久寿樹 聖マリアンナ医科大学教授 難病治療研究センター長

研究要旨

人口の高年齢化と共に今後日本でも増加の一途を辿ると考えられる、関節リウマチを代表とする骨・関節疾患の病因・病態、特に症状の進展プロセスの解明とその制御（治療）の解明は、疾病の長期化、Q.O.L.に与える著しい損失を考えると緊急の課題である。特にこれらの疾患は、国民医療費が年々著しい増加を辿っている現状で、直接医療費のみならず、ケア等の間接的な医療費に与える影響は大きい。

そこで、

1. 関節リウマチを軸とした運動器疾患の病因・病態に関与するゲノム、ペプチドタンパクを網羅的に解析する方法を確立し、その全容の一部が解明され、これらの成果は直ちに創薬研究へ移行させた。その代表的なものが、シノビオリンやアポトーシス誘導剤である。

2. 一方、新規抗リウマチ剤の適正使用のために、疾病負担を客観的に評価し、開発コスト、保険医療費等と、Q.O.L.の向上に対して費用対効果の解析に研究を重ねてきた。国際的に用いられている抗リウマチ剤を対象に行った成果では、著名な疾病負担抑制効果が認められた。

また、本研究班の分科会として昨年スタートした、激しい疼痛を主症状とする原因不明の難治性疾患である線維筋痛症の病因・病態を通じてリウマチ性疾患共通の分子機構の解明を行った。

分担研究者

岩倉洋一郎 東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター
尾崎 承一 聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科
高柳 広 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学
妻木 範行 大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学
田中 栄 東京大学大学院医学系研究科 感覚・運動機能医学
千葉 一裕 慶応義塾大学医学部 整形外科
中島 利博 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター
吉田 勝美 聖マリアンナ医科大学予防医学
青葉 安里 聖マリアンナ医科大学神経精神科学
新井 平伊 順天堂大学医学部精神医学
植田 弘師 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科薬学系分子薬理学分野
浦野 房三 長野県厚生連篠ノ井病院リウマチ膠原病センター
福田 国彦 東京慈恵会医科大学放射線医学
松本美富士 山梨県立看護大学短期大学部人間・康科学
宮崎 東洋 順天堂大学医学部ペインクリニック

村上 正人 日本大学医学部 内科学教室
行岡 正雄 医療法人行岡医学研究会行岡病院

A. 研究目的

人口の高年齢化と共に、医療経済や日常生活機能に直接的に重大な影響を及ぼすと考えられる関節リウマチ等骨・関節疾患は、今後増加の一途にあると考えられる。最近の米国における推計では、広義のリウマチ性疾患患者数は2020年までに4000万に上るといわれている(“Time” Dec. 9, 2002)。我々の研究班の調査でも、本邦における同疾患の推定患者数は、現時点で1200万、2020年までには米国並みの推移を辿り、2000万に上ると推定される。我々の研究班では、こういったリウマチ性疾患を克服するために、第一にその病変の主座である関節機能の障害に関連したゲノム医学及びプロテオーム分子レベルでの網羅的解析に基づく病因解明、特に症状進展のプロセスの解明とその制御、及び医療経済的な面からその疾病負担による治療薬の研究開発とその適応によって得られる効果、すなわち費用対効果の2点に重点をおいて研究を重ねてきた。

今年度は、

1. 運動器を構築する滑膜・破骨・軟骨細胞分化、脱分化の分子及び遺伝子群の解明。
2. 滑膜、軟骨及び骨破壊の遺伝子分子機構を網羅的に解析するプロテオーム並びにゲノム研究グルー

ブによる変性軟骨の修復について動物モデルを用いて解明を行った。

3. リウマチ性疾患による骨・関節破壊の障害を生活機能障害の視点より位置づけ、高い Q.O.L. の獲得を目指した治療戦略の作成。

4. リウマチ性疾患の生活機能障害の実態を把握し、その疾病負担を評価する計量化モデルの作成、以上の4重点課題を提起した。その制圧によって得られる成果を、いわゆる費用対効果の面から詳細な解析を加えることを目的とした。

B. 研究方法

1) 滑膜細胞の分子制御

1. 現在、臨床開発ステージに入っている画期的薬剤であるアポトーシス誘導剤である APO-1 IgM 抗体の非臨床試験の一部で、明らかにされているドミノ式アポトーシス誘導作用の機序の解明。

2. シンビオリンの滑膜細胞脱分化作用と創薬シーズ研究。

3. 軟骨細胞に関わる分子を標的とした探索研究。

4. プロテオーム・ペプチドームによる滑膜細胞制御分子の探索。

2) 骨・軟骨破壊制御進展による研究

1. 増殖因子である EGFP 等による軟骨修復機構の検討。

2. 骨・軟骨形成における Smad シグナルの解明、MMP-3 のノックアウトマウスモデルを用いて軟骨細胞の制御に関与する分子群をプロテオーム・ペプチドームの手法を用いて解析した。

3. 効率的な生物学的製剤を中心とする抗リウマチ剤の臨床応用に対するクリニカルパスの作成。

4. 疾病負担と医療費の費用対効果のバランスに関するマクロ経済予測モデルを用いた適正な医療費の検討。

5. 激しい慢性疼痛を主症状とする原因不明の線維筋痛症の病態の解析を通して、リウマチ性疾患に共通する慢性疼痛の改善による Q.O.L. 抑制の改善と評価の探索。

3) 倫理面への配慮

研究等によって生ずる個人への不利益並びに危険性への配慮。

検体の採取(採血など)に伴う肉体的苦痛、遺伝子解析への不安などの心理的問題、プライバシーの侵害が考えられる場合、適切な処置を行う。

また遺伝子を解析することにより、後になって被験者が不安になり、相談したいことができた場合は、まず主治医もしくはインフォームドコンセント担当者などに申し出てもらい、相談を受ける。更に必要があれば研究に直接関与しない第三者として遺伝カウンセリングの担当者を紹介し、カウンセリングを行う。プライバシーの侵害に対しては、前述した方法で個人情報保護することで対処した。

以上の点を配慮し、原則として各機関の生命倫理委員会等で検討し進めた。

C. 研究結果

1) 滑膜細胞等増殖抑制・骨・軟骨破壊研究

昨年度からの課題であった、関節リウマチにおける関節構成細胞、特に破骨細胞に重点を置き、ホメオスターシス破綻を解明するための分子戦略に基づき、

① そのホメオスターシス破綻の一因として、核内統合装置機能亢進症、核内アセチル化の亢進を明らかにした。

② ユビキチンリガーゼの活性化によるタンパク質の処理機能の障害を解明している途上、シンビオリン分子の発見とその抗リウマチ剤の基礎的研究が進展し、その基礎的研究を本研究プロジェクトの一部で行った。その結果、シンビオリン分子が新規リウマチ剤の標的分子となり得ることが、本研究班の研究プロジェクトでも明らかにされた。

③ APO-1 IgM 抗体の滑膜細胞ドミノ式 apoptosis 誘導作用が明らかにされた。

④ 骨・軟骨破壊予防及び、進展防止に関する研究では MMP-13 ノックアウトマウスの解析から MMP-13 が骨・軟骨破壊の足場を作り、軟骨組織の破壊を誘導することが明らかにされた。

⑤ Smad シグナル障害により軟骨細胞肥大化の抑制、破骨細胞の分化過程において RANKL の共刺激分子の同定を行い、軟骨破壊の強力な治療標的であることを明らかにした。

⑥ 昨年からの継続研究では、破骨細胞アポトーシスにおける Rho ファミリーの役割が明らかにされ、数多くの種々の分子が滑膜増殖、軟骨細胞異化作用、破骨細胞の活性化を通して明確にされた。そのなかで逐時、臨床応用に向けて解析が進んでいる。

2) 新規抗リウマチ剤を含む、適正使用に関する研究では、

① 抗 TNF 治療、および抗 IL-6R 治療に対する有効性を予測するために、IL-1Ra-KO マウス、および HTLV+Tg マウスの遺伝子発現パターンを比較解析した結果、抗 TNF 治療感受性、非感受性患者の発現パターンが明らかにされた。

② 我々の研究班でのクリニカルパスを用いた解析では新規抗リウマチ剤である、インフリキシマブ治療により ACR50%、ACR70%の著効例が78%の寛解導入という効果を得た。

③ 新規抗リウマチ剤であるレフルノミドが導入するマクロ経済評価では、本剤導入による疾病負担の医療費の軽減はレフルノミド治療による診療コストの増加を上回り、医療経済の観点から、レフルノミドの導入は妥当であると考えられた。

3) 線維筋痛症モデルとした慢性疼痛発症機序研究では新しい動物モデルにより LPA-LPA 受容体の関与が解明された。また新規の SART マウスという動物モデルが慢性疼痛を明らかにするための、新しい動物モデルであることが明らかにされた。一方、線維筋痛症での疫学調査で本邦での患者数は、欧米とほぼ同数であることが明らかにされた。

D. 結論

本年度は最終年度にあたり

- ①増殖滑膜細胞のアポトーシス導入剤の基礎的臨床開発へ向けた研究。
- ②骨・関節破壊の予防または制圧に関する標的分子探索。
- ③新規導入抗リウマチ剤（生物学的製剤も含む）の適正使用。
- ④マクロ経済からみた抗リウマチ剤の適正な価格体系。

の4点を重点項目とした。

特に、APO-1 gM抗体やシノビオリンの臨床開発を現在、ベンチャー企業を参入させ、促進しているが、本研究班での基礎的研究の一部が遂行された事の意義は、研究の社会還元という視点からも大きい。骨・軟骨破壊の予防に関する候補分子の探索が進んでおり、こういった視点から一気に創薬開発が加速するものと思われる。

一方、新規抗リウマチ剤は製造単価が高価なため、患者負担や保険医療費の圧迫は否定できない。そのために適正使用、特に現在種々の手法により、有用性の事前評価の分子レベルでの解明が重要である。また、マクロ経済的な医療経済の視点よりの薬価体系と企業側が安定して供給する体制も考慮に入れた医薬品供給システムの評価も重要であることが本研究を通じて明らかにされた。

以上のように、本研究班は関節リウマチ完全解明導入を目指した包括的、かつ総合的な研究班であり、この3年間に提案してきた解決すべき問題点が改めて浮上した。

また、3年目からは本研究班に編入された線維筋痛症の研究班は1年間で、本邦のこれらの実態調査から欧米と比較して、ほぼ同数の患者がいることが判明した。また、リウマチ疾患にも共通する慢性疼痛の分子制御やQ. O. L. 向上のために必要とされる重要な問題点を提案した。

E. 健康危惧情報

特になし

F. 研究発表

1. 学会発表

- 1 遊道和雄、Dai Sheng-Ming、松野博明、西岡久寿樹：変性軟骨に発現する細胞老化制御因子Caveolin-1のOA病態形成への関与：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 2 村田三奈子、増子佳世、井上和彦、西岡久寿樹：血管内皮増殖因子(VEGF)のヒト変形性関節症軟骨への作用機構：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山

4/15-17, 2004

- 3 山崎聡士、土持兼之、西岡久寿樹、中島利博：Synoviolinによる滑膜細胞増殖メカニズムの解析：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 4 土持兼之、山崎聡士、小宮節郎、西岡久寿樹、中島利博：Synoviolin転写制御による滑膜増殖制御の検討：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 5 松尾光祐、中村 洋、野寄浩司、斎藤知行、西岡久寿樹、加藤智啓：関節リウマチおよび変形性関節症における滑膜細胞のプロテオーム解析：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 6 遊道和雄、Trieu Nguen van、西岡久寿樹：軟骨変性機序における低酸素環境適応因子 hypoxia inducible factor (HIF)-1alphaの役割：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 7 村田三奈子、増子佳世、井上和彦、西岡久寿樹：低酸素ストレスによるOA軟骨におけるVEGF/VEGFRの活性について：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 8 Trieu Nv, Yudoh K, Nishioka K: Hypoxia inducible factor (HIF)-1 α induces the expression of multi drug resistance P-glycoprotein (P-gp) in OA chondrocytes. : 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 9 Trieu Nv, Yudoh K, Nishioka K: Oxidative stress induces genomic instability and cartilage degeneration in OA. : 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 10 増子佳世、西岡久寿樹：培養ヒト関節軟骨細胞におけるprotease-activated receptor-2 (PAR2)の発現とtryptaseによる軟骨変性制御の可能性：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 11 中村 洋、加藤智啓、増子佳世、遊道和雄、

- 西岡久寿樹：軟骨細胞のMMP、chemokine 産生およびapoptosisに対するCelecoxib の影響：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 12 高田智子、中村浩士、松崎益徳、加藤智啓、西岡久寿樹：ウイルス性心筋炎再感染モデルにおける心筋自己抗原の同定：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 13 加藤智啓、中村 洋、山田秀裕、尾崎承一、西岡久寿樹：関節リウマチにおけるプロテオーム診断の可能性：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 14 西岡真樹子、秋本美津子、中村 洋、星 恵子、西岡久寿樹：線維筋痛症の実態調査(第2報)：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 15 西岡真樹子、秋本美津子、中村 洋、尾崎承一、西岡久寿樹：線維筋痛症の進行度に基づくステージ分類の提唱：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 16 西岡真樹子、秋本美津子、中村 洋、西岡久寿樹：ノイロトロピンを主体とする線維筋痛症の薬物治療の検討(第2報)：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 17 中村 洋、加藤智啓、田中道明、増子佳世、遊道和雄、西岡久寿樹：高分子ヒアルロン酸の軟骨細胞MAPKシグナル伝達に対する作用：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 18 唐澤里江、関根太一、大岡正道、西村裕之、尾崎承一、西岡久寿樹、加藤智啓：血管炎における抗内皮細胞抗体の対応抗原に対する検討：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 19 Shan ZZ, 増子佳世、中村 洋、加藤智啓、西岡久寿樹：A potential role of 15-deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 in apoptosis of human articular chondrocytes：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 20 Dai SM, Nishioka K, Yudoh K: Implication of IL-18 in arthritic cartilage destruction. :第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 21 Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Nishioka K, Kato T. : Fibulin-4 is a component of cartilage and a target of autoantibodies in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. :第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 22 芝川温之、西岡久寿樹、増子佳世、加藤智啓、遊道和雄、中村 洋：変形性関節症における軟骨下骨髄組織による軟骨破壊機構：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 23 岡 寛、尾崎承一、西岡久寿樹：関節リウマチにおけるインフリキシマブ(レミケード)治療のクリニカルパス：第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山 4/15-17, 2004
- 24 西岡久寿樹：線維筋痛症をどんなときに疑うか：神奈川県保険医協会講演会 神奈川県保険医協会会議室 4/28, 2004
- 25 Tomohiro Kato, Rie Karasawa, Seido Ooka, Taichi Sekine, Hiroyuki Nishimura, Nobuyuki Nukina, Kenn-ichi Mitsui, Shoichi Ozaki, Kusuki Nishioka : Comprehensive analysis of targets of anti-endothelial cell antibodies :第2回日本ヒトプロテオーム学会(Japan Human Proteomics 2004 / The 2nd Annual Meeting of JHUP0) 板橋区立文化会館 5/19-20, 2004
- 26 Trieu NV, Nishioka K, Yudoh K: Molecular mechanism of Hypoxia-induced Hypoxia inducible factor 1alpha(HIF-1alpha) and P-glycoprotein (P-GP) expression in OA chondrocytes. : Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) Berlin, Germany 6/9-12, 2004
- 27 Yudoh K, Dai SM, Matsuno H, Nishioka K. : Stress-induced expression of caveolin-1 induces chondrocyte senescence in osteoarthritis. : Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) Berlin, Germany 6/9-12, 2004
- 28 Trieu NV, Nishioka K, Yudoh K. : Molecular mechanism of oxidative stress-induced matrix

- metalloproteinases (MMPs) production in chondrocytes from osteoarthritis (OA) patients. : Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) Berlin, Germany 6/9-12, 2004
- 29 西岡久寿樹 : 線維筋痛症の病態と治療 : 第32回日本内科学会北海道支部生涯教育講演会 札幌(タケダ札幌ビル) 9/5, 2005
- 30 Nishioka K. : "Synovitis; beyond inflammatin, part 2": Role of inflamed synovium in diseases / Is osteoarthritis systemic disease? : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 31 Nishioka K. : "Chondrocyte and cartilage biology" / Molecular mechanism of chondrocyte activation-role of chemokines and cytokines systems in cartilage degradation. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 32 Du H, Kato T, Xiang Y, Bao C-D, Wang X-D, Masuko-Hongo K, Nakamura H, Chen S-L, Nishioka K. : Prevalance of autoantibodies against cartilage intermediate layer protein (CILP), YKL-39, osteopontin, cyclic citrullinated peptide (CCP) in patients with knee osteoarthritis of early but not of advanced stage: an evidence for the presence of a variety of autoimmunity in OA patients. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 33 Nakamura H, Shibakawa A, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Kato T, Beppu M, Nishioka K. : Reparative and destructive features of pannus-like soft tissue on articular cartilage of osteoarthritis. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 34 Triue Nv, Yudoh K, An TN, Nishioka K. : Oxidative stress induces MMPs expression in chondrocytes from OA patients. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 35 Nakajima T, Yagishita N, Yamasaki S, Tsuchimochi K, Komiya I, Maruyama S, Fukamizu A, Nishioka K. : Synoviolin, a novel pathogenic factor for arthropathy. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 36 Yudoh K, Dai SM, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K. : Proinflammatory cytokine IL-18 stimulates T-cell mediated osteoclastogenesis through the Up-regulation of RANKL and soluble RANKL in T cells. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 37 Ozaki S, Karasawa R, Ooka S, Sekine T, Nishimura H, Mitsui K, Nukina N, Nishioka K, Kato T. : Peroxiredoxin 2: A novel autoantigen for anti-endothelial cell antibodies (AECA) identified by proteomic surveillance. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 38 Yamasaki S, Yagishita N, Tsuchimochi K, Komiya I, Maruyama S, Fukamizu A, Nishioka K, Nakajima T. : Pathogenetic roles of synoviolin in synovial hyperplasia of rheumatoid arthritis. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 39 Masuko-Hongo K, Murata M, Nakamura H, Yudoh K, Kato T, Nishioka K. : Mast cell-derived serine protease tryptase induces production of vascular endothelial growth factor by chondrocytes via protease-activated receptor-2: A possible role in the OA pathogenesis. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International

- Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 40 Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K, Kato T. : Expression of the fibulin family and its regulation by IL-1 β , TNF- α and TGF- β in osteoarthritic articular chondrocytes. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 41 Trieu Nv, Yudoh K, An TN, Nishioka K. : Molecular mechanism of hypoxia-induced hypoxia inducible factor 1 α (HIF-1 α) and P-glycoprotein (P-gp) expression in OA chondrocytes. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 42 Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K, Kato T. : PAR-2 expressed in osteoarthritic articular chondrocytes is regulated by IL-1 β /TNF- α and TGF- β . : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
- 43 Nakamura H, Shibakawa A, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Kato T, Beppu M, Nishioka K. : Subchondral pit formatin and invading bone marrow cells are involved in the articular destruction in osteoarthritis and rheumatoid arthritis expressig cytokines and MMPs. : The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea
- 44 Sekine T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K, Kato T. : Comprehensive analysis of proteins released from chondrocytes by IL-1 β . : American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 45 Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K, Kato T. : PAR-2 expressed in osteoarthritic articular chondrocytes is regulated by IL-1 beta, TNF-alpha and TGF-beta. : American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 46 Yamasaki S, Yagishita N, Tsuchimochi K, Maruyama I, Nishioka K, Nakajima T. : Pathogenetic roles of synoviolin in synovial hyperplasia of rheumatoid arthritis. : American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 47 Yagishita N, Amano T, Yamasaki S, Tsuchimochi K, Nishioka K, Maruyama I, Fukamizu A, Nakajima T. : The importance of synoviolin in embryogenesis. : American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 48 Tsuchimochi K, Yamasaki S, Yagishita N, Amano T, Komiya S, Nishioka K, Maruyama I, Nakajima T. : Transcriptional regulation of synoviolin is important for the proliferation of rheumatoid synovial cells. : American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 49 Matsuo K, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Noyori K, Saito T, Nishioka K, Kato T. : Surveillance of citrullinated autoantigens of synovium in rheumatoid arthritis. : American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 50 Nakamura H, Shibakawa A, Beppu M, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Kato T, Nishioka K. : Subchondral pit formatin and invading bone marrow cells are involved in the articular destruction in osteoarthritis and rheumatoid arthritis expressig cytokines and MMPs. : American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 51 Karasawa R, Ooka S, Sekine T, Nishimura H, Nukina N, Mitsui K, Ozaki S, Nishioka K, Kato T. : Targets of anti-endothelial cell antibodies in patients with systemic vasculitis: identification by the proteomic approach. : American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004

- 52 Yudoh K, Dai SM, Shan ZZ, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Matsuno H, Nishioka K. : Potential implication of catabolic stress-induced chondrocyte senescence in the pathogenesis of OA: articular cartilage aging is mediated by stress-induced expression of caveolin-1 in OA chondrocytes. : American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 53 Yudoh K, Trieu vN, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Matsuno H, Nishioka K. : Role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α in chondrocyte viability and survival in OA cartilage. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 54 Masuko-Hongo K, Murata M, Nakamura H, Yudoh K, Kato T, Nishioka K. : Mast cell-derived serine protease tryptase induces production of vascular endothelial growth factor by chondrocytes via protease-activated receptor-2: A possible role in the OA pathogenesis. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 55 Nishioka M, Fukuda K, Nakamura H, Kato T, Usui C, Arai H, Nishioka K. Potential effect of neurotrophin (R) for pain with fibromyalgia. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 56 Kato T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K. Proteome analysis of peripheral B cells in rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 57 Matsuo K, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Noyori K, Saito T, Nishioka K, Kato T. The phosphoproteome profile of synoviocytes in rheumatoid arthritis is distinct from that in osteoarthritis. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
- 58 Nishioka K. : Treatment of Rheumatoid Arthritis -Beyond Cytokine Targeting : NAF Scientific Meeting Singapore 11/12-14, 2004
- 59 瀬戸正史、西岡久寿樹 : レフルノミドの有効性と副作用についての経験 : 第19回日本臨床リウマチ学会総会 : 東京 (京王プラザホテル) 11/26, 2004
- 60 岡 寛、尾崎承一、西岡久寿樹 : レフルノミド (アラバ) の市販後の実態調査 : 東京 (京王プラザホテル) 11/26, 2004
- 61 西岡久寿樹 : 線維筋痛症の病態と治療 : 第2回日本整形外科学会認定リウマチ医研修会 : 東京 (泉ガーデンギャラリー) 11/28, 2004
- 62 中島利博、山崎聡、八木下尚子、土持兼之、西岡久寿樹 : 新規関節リウマチ病因遺伝子シノビオリン-滑膜細胞増殖における小胞体蛋白分解系の意義とその制御- : 第15回日本リウマチ学会関東支部学術集会 : 東京 (大手町サンケイプラザ) 12/4, 2004
- 63 西岡久寿樹 : ハイテク成果のビジネス化戦略 : ハイテク・リサーチ・センターフォーラム2005 : 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 1/25, 2005
- 64 西岡久寿樹、中島利博 : 関節リウマチの先端的治療に関する研究 : 平成16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 研究報告会 : KKR HOTEL TOKYO (東京) 1/31, 2/1, 2005
- 65 西岡久寿樹 : 包括的関節リウマチの先端的研究の進め方 : 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 「公開シンポジウム」 : 都市センターホテル (東京) 2/8, 2005
- 66 西岡久寿樹 : 研究総括 : 厚生労働科学研究費補助金 免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業線維筋痛症の病因・病態に関する分科会「公開シンポジウム」 : 都市センターホテル (東京) 3/8, 2005

2. 論文発表

- 1 Nakajima T, Aratani S, Nakazawa M, Hirose T, Fujita H, Nishioka K. Implications of transcriptional coactivator CREB binding protein complexes in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol.* 14: 6-11, 2004
- 2 西岡真樹子、秋本美津子、臼井千恵、石塚卓也、新井平伊、中村 洋、西岡久寿樹、線維筋痛症の病態と疾患概念. *日本醫事新報*4177: 10-14, 2004
- 3 Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Imajoh-Ohmi S, Fukuda H, Nishioka K, Kato T. Proteomic Surveillance of Autoimmunity in Osteoarthritis - Identification of Triosephosphate

- Isomerase as an Autoantigen in Patients With Osteoarthritis. Arthritis Rheum. 50(5): 1511-1521, 2004
- 4 Yudoh K, Nishioka K. Telomerized presenescent osteoblasts prevent bone mass loss in vivo. Gene Therapy. 11: 909-915, 2004
- 5 白井千恵、新井平伊、西岡久壽樹、線維筋痛症. 感染・炎症・免疫. 34(2): 56-59, 2004
- 6 Kato T, Xiang Y, Nakamura H, Nishioka K. Neoantigens in osteoarthritic cartilage. Curr Opin Rheum. 16: 604-608. 2004
- 7 西岡久壽樹. 線維筋痛症、神経内科 (Neurological Medicine) 61(3): 229-233, 2004
- 8 Shan ZZ, Masuko-Hongo K, Dai SM, Nakamura H, Kato T, Nishioka K. A potential role of 15-deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 for induction of human articular chondrocyte apoptosis in arthritis. J Biol Chem. 279(36): 37939-37950, 2004
- 9 S-M Dai, Nishioka K, Yudoh K. Interleukin (IL)18 stimulates osteoclast formation through synovial T cells in rheumatoid arthritis: comparison with IL1 β and tumor necrosis factor α . Ann Rheum Dis. 63:1379-1386, 2004
- 10 Kazuo Yudoh, Nguen van Trieu, Hiroshi Nakamura, Kayo Mauko-Hongo, Tomohiro Kato, Kusuki Nishioka. Potential involvement of oxidative stress in cartilage senescence and development of osteoarthritis :oxidative steress induces chondrocyte telemere instability and downregulation of chondrocyte function. Arthritis Res Ther. 7:R380-R391, 2005

キット

- 発明者：難病治療研究センター西岡久壽樹、加藤智啓
- 特許出願公開番号：未定
- 公開日：未定
- 3) 出願日：平成15年3月18日
- 発明の名称：変形性関節症の検定方法
- 発明者：難病治療研究センター西岡久壽樹、加藤智啓
- 特許出願公開番号：未定
- 公開日：未定
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- 1) 出願日：平成13年3月29日
- 発明の名称：慢性関節リウマチ治療剤
- 発明者：難病治療研究センター西岡久壽樹、中島利博
- 特許出願公開番号：特開2002-293745
- 公開日：平成14年10月9日
- 2) 出願日：平成14年9月26日
- 発明の名称：変形性関節症の検定方法及び検定

発生工学手法によるリウマチ治療薬の開発

分担研究者 岩倉洋一郎

東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター教授

研究要旨

われわれは独自に開発した HTLV-1 トランスジェニック (Tg) マウス、および IL-1 レセプターアンタゴニスト (Ra) 欠損 (KO) マウスの 2 つの関節リウマチモデルを用いて、関節炎の発症には IL-1 が重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。最近、IL-1Ra-KO マウスで IL-17 の産生が亢進していることを見いだし、IL-17 を欠損させたところ、関節炎の発症が完全に阻止されることを明らかにした。この結果は、IL-17 の阻害剤が抗リウマチ薬の有力な候補となることを示すものであり、同様な解析は抗リウマチ薬の探索に有効であると考えられる。本研究ではマイクロアレイにより、関節炎モデルで発現変動の見られる遺伝子を網羅的に探索し、変動のあった遺伝子の KO マウスを作製することにより、病態形成への関与を調べた。その結果、新たに複数の遺伝子が関節炎発症に関与していることがわかった。

A. 研究目的

これまでに HTLV+Tg マウス、および IL-1Ra-KO マウスを作製し、これらのマウスが関節リウマチによく似た関節炎を自然発症することを見いだした。これらのマウスの関節炎の発症には T 細胞に依存した自己免疫が関与している。また、HTLV+Tg マウスの場合は IL-1 や IL-6 などのサイトカインを欠損させると発症が抑制され、TNF α を欠損させても病態に影響を与えないのに対し、IL-1Ra-KO マウスの場合は TNF α を欠損させることにより、発症を完全に阻止でき、逆に IL-6 を欠損させても発症することがわかった。これらの事実から、これらのサイトカインの機能制御を行うことにより関節リウマチをコントロールできることが示唆されると共に、同じ関節炎でも病因によりサイトカイン依存性が異なることがわかった。昨年度はさらに IL-17 が IL-1Ra-KO マウスの発症

やコラーゲン誘導関節炎 (CIA) の発症に関与していることを示し、このサイトカイン、及びその下流分子が治療のターゲットとして有望であることを示した (Nakae et al, *PNAS* 2003; Nakae et al, *J. Imm.*, 2003)。本年度はこれら 2 種類の関節リウマチモデルを用い、TNF α や IL-17 の作用機構について詳細な解析を行う (Horai et al, *J. Clin. Invest.*, 2004) と共に、新たな治療ターゲットを見つけるために、マイクロアレイを用い、関節での発現遺伝子の網羅的解析を行った。

B. 方法

HTLV+Tg マウス、IL-1Ra-KO マウスは我々が作製したのを用いた (Iwakura et al, *Science*, 1991; Horai et al, *J. Exp. Med.*, 2000)。いずれのマウスも BALB/cA マウスに 8 世代以上戻し交配し、実験に供した。マイクロアレイによる遺伝子発

現解析は関節より mRNA を調製し、アフィメトリックス社の GeneChip により行った。IL-17-KO マウスは IL-17 遺伝子のエクソン1, 2を neo 遺伝子と置換して作製した (Nakae et al, *Immunity*, 2002)。

(倫理面への配慮)関節リウマチ患者の遺伝子発現プロファイルを調べることについては、東京大学医科学研究所倫理委員会の承認を得た。また、遺伝子操作マウスについては、東京大学医科学研究所組み換え DNA 実験安全委員会ならびに動物実験委員会の承認と指針に基づいて取り扱った。

C. 結果・考察

1. IL-1Ra-KO、HTLV+Tg、コラーゲン誘導関節炎(CIA)などの関節炎モデルを用い、TNF α および IL-17 の病態形成における役割を解析した。その結果、いずれもT細胞の活性化、自己免疫の発症に関与していることがわかった (Horai et al, *J. Clin. Invest.*, 2004; Ishigame et al, *Proceedings of Ernst Schering Workshop*, in press)。
2. マイクロアレイ解析の結果、HTLV+Tg あるいは IL-1Ra-KO マウスで共通に発現亢進が見られたものが、200あり、このうち30遺伝子は新規遺伝子であった。現在、これらの遺伝子についてノックアウトマウスを作製し機能解析を進めている。このうち、樹状細胞で発現しており、自然免疫に関与していると考えられる遺伝子の KO マウスでは CIA の発症が押さえられ、別の自然免疫に関与すると考えられる遺伝子の KO マウスでは関節症の自然発症が見られた。いずれも新たな関節炎治療のターゲットになりうると考えられる。
3. RA 患者の抗 TNF α 治療、および抗 IL-6R 治療に対する有効性を予測するために、IL-1Ra-KO マウス、および HTLV+Tg マウスの遺伝子発現パターンを比較解析すると共に、抗 TNF 治療感受性、非感受性患者の発現パターンと比較することを計画している。テーラーメイド医療への応用を計る。

D. 結論

我々が開発した独自のモデルをマイクロアレイで解析することにより、病態形成に関与する可能性のある遺伝子を多数同定した。そのうちいくつかの遺伝子について欠損マウスを作製し、これらの遺伝子が病態形成に関与することを明らかにした。これらの遺伝子は関節リウマチの新たな治療ターゲットとなる可能性が高い。

E. 研究発表

- Kobari, Y., Misaki, Y., Setoguchi, K., Zhao, W., Komagata, Y., Kawahata, K., Iwakura, Y., and Yamamoto, K. T cells accumulating in the inflamed joints of a spontaneous murine model of rheumatoid arthritis become restricted to common clonotypes during disease progression. *Int. Immunol.*, 16, 131-138 (2004).
- Ishihara, K., Sawa, S. I., Ikushima, H., Hirota, S., Atsumi, T., Kamimura, D., Park, S. J., Murakami, M., Kitamura, Y., Iwakura, Y., and Hirano, T. The point mutation of tyrosine 759 of the IL-6 family cytokine receptor gp130 synergizes with HTLV-1 pX in promoting rheumatoid arthritis-like arthritis. *Int. Immunol.*, 16, 455-465 (2004).
- Joosten, L. A. B., Smeets, R. L., Koenders, M. I., van den Bersselaar, L. A. M., Helsen, M. M. A., Oppers-Walgreen, B., Lubberts, E., Iwakura, Y., van de Loo, F. A., J., and van den Berg, W. B. IL-18 promotes joint inflammation and induces IL-1 driven cartilage destruction. *Am. J. Pathol.*, 165, 959-967 (2004).
- Saito, T., Okumura, A., Watanabe, H., Asano, M., Ishida-Okawara, A., Sakagami, J., Sudo, K., Hatano, Y., Abo, T., Iwakura, Y., Suzuki, K., and Yamagoe, S. Increase of hepatic NKT cells in LECT2-deficient mice contributes to severe Concanavalin A-induced hepatitis. *J. Immunol.*, 173, 579-585 (2004).
- Umemura, M., Kawabe, T., Shudo, K., Kidoya, H., Fukui, M., Asano, M., Iwakura, Y., Matsuzaki, G., Imamura, R., and Suda, T. Involvement of

- IL-17 in Fas ligand-induced inflammation. *Int Immunol.* **16**, 1099-1108 (2004).
- Kagiwada, K., Chida, D., Sakatani, T., Asano, M., Nambu, A., Kakuta, S., and Iwakura, Y. *IL-6*, but not *IL-1*, induction in the brain downstream of Cox-2 is essential for the induction of febrile response against peripheral IL-1 α . *Endocrinology*, **145**, 5044-5048 (2004).
- Hata, H., Sakaguchi, N., Yoshitomi, H., Iwakura, Y., Sekikawa, K., Azuma, Y., Kanai, C., Moriizumi, E., Nomura, T., Nakamura, T., and Sakaguchi, S. Distinct contribution of IL-6, TNF- α , IL-1, and IL-10 to T cell-mediated spontaneous autoimmune arthritis in mice. *J. Clin. Invest.*, **114**, 582-588 (2004).
- Yoshimoto, T., Okada, K., Morishima, N., Kamiya, S., Owaki, T., Asakawa, M., Iwakura, Y., Fukai, F., and Mizuguchi, J. Induction of IgG2a class switching in B cells by IL-27. *J. Immunol.*, **173**, 2479-2485 (2004).
- Park, S. J., Nakagawa, T., Kitamura, H., Atsumi, T., Kamon, H., Sawa, S., Kamimura, D., Ueda, N., Iwakura, Y., Ishihara, K., Murakami, M., and Hirano, T. IL-6 regulates *in vivo* dendritic cell differentiation through STAT3 activation. *J. Immunol.*, **173**, 3844-3854 (2004).
- Horai, R., Nakajima, A., Habiro, K., Kotani, M., Nakae, S., Matsuki, T., Nambu, A., Saijo, S., Kotaki, H., Sudo, K., Okahara, A., Tanioka, H., Ikuse, T., Ishii, N., Schwartzberg, P. L., Abe, R., and Iwakura, Y. TNF α is crucial for the development of autoimmune arthritis in IL-1 receptor antagonist-deficient mice. *J. Clin. Invest.*, **14**, 1603-1611 (2004).
- Ishigame, H., Nakajima, A., Saijo, S., Komiyama, Y., Mastuki, T., Nakae, S., Horai, R., Kakuta, S., and Iwakura, Y. The role of TNF α and IL-17 in the development of excess IL-1 signaling-induced inflammatory diseases in IL-1 receptor antagonist-deficient mice. In "Cytokines as Potential Therapeutic Targets for Inflammatory Skin Diseases", (eds, R. Numerof, C. A. Dinarello, and K. Asadullah), *Ernst Schering Research Foundation Workshop*, 2004, in press.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

関節リウマチの新規治療薬の当科における市販後調査の成績。現状と分析。

分担研究者 尾崎承一 聖マリアンナ医科大学 リウマチ・膠原病・アレルギー内科 教授

岡 寛 聖マリアンナ医科大学 リウマチ・膠原病・アレルギー内科 講師

研究要旨 2003 年度に本邦において、関節リウマチ(RA)の新規治療薬としてインフリキシマブ(レミケード)と、レフリノミド(アラバ)の 2 剤が発売され、それぞれ市販後調査(PMS)が義務づけられている。今回の研究では、全国の PMS の結果と、当科の症例の結果を比較検討した。その結果インフリキシマブは、全国の PM では 5950 例(平成 17 年 3 月 18 日現在)が集積されているが、有効性は 85-90%を示している。当科の 45 例の検討でも、ACR50 以上の著効例が 72%を示し高い有効性が再確認された。全国の PMS と同様に、感染症の誘発と Infusion reaction を認めたが、適切な副作用対策によって当科の継続率は 82.2%と良好であった。

レフリノミドは、5250 例(平成 17 年 3 月 2 日現在)の PMS 結果が現在集計中であるが、当科症例の約半数(43%)の症例が投与中止となっており、無効例、アレルギー、肝障害、血球減少などの理由が多かった。本邦の全国 PMS では、間質性肺炎の発症と死亡率の高さが問題となったが、当科では発症例がなかった。

A. 研究目的

インフリキシマブとレフリノミドの PMS に基づき、全国調査の結果と自験例を比較検討し、両剤の RA 治療の問題点を明らかにし、より適切な治療を模索する。

されたレフリノミド 46 例の効果を関節症状、血清 CRP 値にて評価した。また、副作用の発現率と継続率を求めた。同時に全国のアラバ PMS の結果(www.aventis.co.jp/arava/)と比較検討した。

B. 方法

2003 年 9 月から 2005 年 2 月までの 1 年 5 ヶ月の間に、当科で作成したクリニカルパス(CP)に基づき、活動性 RA にインフリキシマブを 45 例に投与した。同剤の効果は ACR のコアセットを用いた。全国調査の結果は、レミケード田辺製薬株式会社(www.remicade-ra.jp)より検索し、両者の結果を比較検討した。2003 年 12 月から 2005 年 2 月までの 1 年 2 ヶ月の間に当科にて RA に投与

C. 研究結果

当科にてインフリキシマブ 45 例(男性 5 例、女性 40 例、平均年齢 52.9 歳)が RA 症例に投与された。同剤の効果は、投与 4 回目直前の ACR コアセットにて評価し、ACR70 が 16 人(35%)、ACR50 が 17 人(37%)、ACR20 が 6 人(13%)であり、ACR20 以上の有効例を 85%とり、全国 PMS の結果(主治医判断)90.4%と同等であった。副作用は、45 例中 13 例(28.8%)に認め、全国 PMS 結果(33%)と同等であり、感染症の誘発と Infusion

reactionが多かったが、継続率は82.2%と良好であった。レフリノミドは46例に投与されたが、当科で100mg/日のローディングを投与した例は6例のみであった。46例のうち、20例(43%)は無効や副作用で中止となっていたが、継続例の26例中17例(65.3%)では関節症状かつCRPの改善を認めた。同剤のPMS結果でも、脱落例が30%以上あった。間質性肺炎の発症66例中死亡率25例(2005年3月2日現在)が社会問題となったが、当科では間質性肺炎はなかった。これは、投与前のスクリーニング(胸部HRCT)によって、肺合併症例が除外されたためと考えられる。

D. 結論

- ① インフリキシマブ 45 例の投与結果は、有効率 85%以上で、ACR50 以上の著効例も 72%であった。
- ② インフリキシマブの副作用として、感染症の誘発 (13.3%)と Infusion reaction (11.1%)が多かったが、継続率は 82.2%と良好であった。
- ③ レフリノミド46例の投与結果は、ローディングドーズなしでも、65.3%の症例は投与継続し、関節症状がCRPの改善を認めた。
- ④ レフリノミド投与の20例(43%)が1年以内に投与中止となっており、無効、湿疹などが多かった。しかし、全国PMSで問題となった間質性肺炎は当科ではなかった。

E. 健康危機情報

2004年2月にレフリノミド発売社のアベンティスファーマより「アラバ錠による間質性肺炎症例の発現について」の緊急安全情報が

医療機関に配布された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kawabata D., Tanaka M., Fujita T., Umehara H., Fujita Y., Yoshifuji H., Mimori T. and Ozaki S.: Ameliorative effects of follistatin - related protein /TSC-36 on joint inflammation in a mouse model of arthritides. *Arthritis Rheum.* 50 (2):660-668,2004.
2. Kumagai S., Kumada F., Kita T., Morinobu A., Ozaki S., Ishida H., Sano H., Matsubara T and Okumura K.: *N-Acetyltransferase 2* genotype-related efficacy of sulfasalazine In patients with rheumatoid arthritis. *Pharmaceutical Research* 21(2):324-329,2004.
3. Ito I., Mitsuoka N., Sobajima J., Uesugi H., Ozaki S., Ohya K. and Yoshida M.: Conformational Difference in HMGB1 Proteins of Human Neutrophils and Lymphocytes Revealed by Epitope Mapping of a Monoclonal Antibody. *J. Biochem.* 136:155-162,2004.
4. Karasawa R., Ozaki S., Nishioka K. and Kato T.: Autoantibodies to peroxiredoxin I and IV in patients with systemic autoimmune diseases. *Microbiol. Immunol.* 49(1):57-65,2005.
5. Watanabe T., Kubota S., Nagaya M., Ozaki S., Nagafuchi H., Akashi K., Taira Y., Tukikawa S., Oowada S. and Nakano S.:

- The role of HMGB-1 on the development of necrosis during hepatic ischemia and hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *J. Surg. Res.* 124(1):59-66,2005.
6. Akaogi J., Akasaka N., Yamada H., Hama N., Satoh M., Nichols C. and Ozaki S.: Intravenous cyclophosphamide therapy in a case with refractory thrombotic microangiopathic hemolytic anemia and SLE. *Clin. Rheumatol.* (in press)
 7. Ito G., Ozaki S., Nakagawa M. and Suzuki Y.: Vascular endothelial growth factor plays a key role in osteoclastic bone destruction by cultured rheumatoid synovium. *臨床リウマチ* 16:11-19,2004.
 8. 岡寛、中野弘雅、木俣敬仁、松田隆秀、尾崎承一:シェーグレン症候群の口腔乾燥症状に対するレバミピドの有用性。 *Progress In Medicine.* 24(10): 2591-2596, 2004.
 9. 岡寛、木俣敬仁、中野弘雅、清水篤、山本直弘、尾崎承一:関節リウマチの膝関節滑膜炎に対する高分子ヒアルロン酸ナトリウム(スベニール®)の効果。 *Journal of Joint Surgery.*23(12)118-124,2004.
2. 学会発表
1. Ozaki S. et al: A novel autoantigen for anti-endothelial cell antibodies (AECA) identified by proteomic surveillance. 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress.2004.9., Jeju, Korea.
 2. Azuma K., Yamasaki Y., Yamasaki M., Okubo M., Yamada H. and Ozaki S.: Intravenous cyclophosphamide for the treatment of interstitial lung disease associated with amyopathic dermatomyositis, dermatomyositis and polymyositis: a comparative study with cyclosporine and azathioprine. The 68th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2004.10., San Antonio, Texas, U.S.A.
 3. Karasawa R., Ooka S., Sekine T., Nishimura H., Nukina N., Mitsui K., Ozaki S., Nishioka K. and Kato T.: Targets of anti-endothelial cell antibodies in patients with systemic vasculitis: Identification by the proteomic approach. The 68th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2004.10., San Antonio, Texas, U.S.A.
 4. Akaogi J., Yamada H., Dina Nacionales Kindra Kelly, haoyang Zhuang, Kuroda Y., Westley Reeves, Ozaki S. and Satoh M.: Prostaglandin E2 receptor subtypes EP2/EP4 work synergistically with ICOS toward Th2 skewing through cAMP/PKA and ICOS/PI3K signaling pathways. The 68th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2004.10., San Antonio, Texas, U.S.A.
 5. Tanaka M., Ozaki S. and Mimori T.: Cloning of the molecules Interacting with a novel anti-arthritis factor, follistatin-related protein/FSTL1. The

- 68th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2004.10., San Antonio, Texas, U.S.A.
6. Nozaki T., Yamada H., Akaogi J., Kikukawa T., Mori T., Takahashi K. and Ozaki S.: Prostaglandin E2 receptor subtype EP4 mediated Inhibition of osteoclasts' development and MMP-9 production in rheumatoid synovitis. The 68th National Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. 2004.10., San Antonio, Texas, U.S.A.
 7. Imamura Y., Matsuda T., Nikai A., Nakagawa T., Ozaki S. and Tsukikawa S.: MTX therapy In Intestinal Behcet's disease: A case report. The 11th International Conference on Behcet'S Disease. 2004.10., Antalya, Turkey.
 8. Kimata T., Oka H., Matsuda T. and Ozaki S.: A case met criteria of HLA-B27 related reactive arthritis and Behcet's disease has erosive arthritis of bilateral knee joints. The 11th International Conference on Behcet'S Disease. 2004.10., Antalya, Turkey.
 9. Nakano H., Oka H., Ohya N., Matsuda T. and Ozaki S.: A case of tattoo induced eyes attack and intestinal symptoms in patients with Behcet's disease. The 11th International Conference on Behcet'S Disease. 2004.10., Antalya, Turkey.
 10. 尾崎承一: 血管炎の病因 発症の分子メカニズム。「シンポジウム 4: 血管炎症候群 遺伝子解析から病因・病態、診断・治療まで」第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。2004年4月15-17日 岡山。
 11. 尾崎承一: ANCA 関連血管炎—その病因と治療。「シンポジウム 9: 膠原病の免疫治療の進歩」第54回日本アレルギー学会総会。2004年11月4-5日。横浜。
 12. 伊藤彦、中川美弥子、尾崎承一、鈴木康夫: 血管内皮増殖誘導因子(VEGF)は関節リウマチ滑膜組織培養において破骨細胞による骨破壊に重要な役割を果たす。第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。2004年4月15-17日 岡山。
 13. 加藤智啓、中村洋、山田秀裕、尾崎承一、西岡久寿樹: 関節リウマチにおけるプロテオーム診断の可能性。第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。2004年4月15-17日 岡山。
 14. 西岡真樹子、秋本美津子、中村洋、尾崎承一、西岡久寿樹: 線維筋痛症の進行度に基づくステージ分類の提唱。第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。2004年4月15-17日 岡山。
 15. 大久保道子、山田秀裕、山前正臣、山崎宜興、中野弘雅、尾崎承一: 皮膚筋炎・多発性筋炎に合併する心筋炎の臨床像と予後に与える影響。第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。2004年4月15-17日 岡山。
 16. 林彩子、吉田智彦、中野弘雅、柴田朋彦、菅田文彦、山田秀裕、尾崎承一: ステロイド大量投与により微小血管障害(TMA)を発症した強皮症(SSc)の3症例。

- 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。 特になし
2004年4月15-17日 岡山。
17. 野崎俊子、山田秀裕、大久保道子、山崎 2. 実用新案登録
宜興、東浩平、尾崎承一：皮膚筋炎・多 特になし
発性筋炎136名の長期生命予後の解析。
第48回日本リウマチ学会総会・学術集会。 3. その他
2004年4月15-17日 岡山。 特になし
18. 唐澤里江、関根太一、大岡正道、西村裕 之、尾崎承一、西岡久寿樹、加藤智啓：
血管炎における抗内皮細胞抗体の対応
抗原に関する検討。第48回日本リウマチ
学会総会・学術集会。2004年4月15-17
日 岡山。
19. 田中真生、尾崎承一、三森経世：新規リウ
マチ関節炎抑制因子であるホリスタチン
関連蛋白(FRP/FSTL1)のリガンドのク
ローニング。第48回日本リウマチ学会総
会・学術集会。2004年4月15-17日 岡
山。
20. 岡寛、尾崎承一、西岡久寿樹：関節リウマ
チにおけるインフリキシマブ(レミケード)
治療のクリニカルパス。第48回日本リウマ
チ学会総会・学術集会。2004年4月
15-17日 岡山。
21. 岡寛、尾崎承一、西岡久寿樹：レフルノミド
(アラバ)の市販後の実態調査。「ワークシ
ョップ1：新規リウマチ治療薬レフルノミド
の功罪」第19回日本臨床リウマチ学会総
会。2004年11月26-27日。東京。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

サイトカインによるリウマチ破骨細胞の制御に関する研究

分担研究者 高柳 広 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学・特任教授

研究要旨

関節リウマチ(RA)骨破壊においては、破骨細胞による骨吸収の亢進が重要な役割を果たす。TNFファミリーのサイトカインであるRANKL(破骨細胞分化因子)は、破骨細胞分化誘導において必須の因子であるが、その細胞内シグナル伝達機構は不明の点が多く、リウマチ破骨細胞を特異的に抑制する有効な治療法は知られていない。本年度は、RANKLによる破骨細胞分化制御機構を詳細に解析し、RANKLには免疫グロブリン様受容体シグナルからの補助シグナルが必要であることを明らかにした。破骨細胞を制御する新たな免疫受容体群の発見は、今後のRA骨破壊に対する新たな治療戦略に道を開くと考えられる。

A.研究目的

関節リウマチ(RA)骨破壊で中心的な役割を果たす破骨細胞の分化誘導には、RANKL(破骨細胞分化因子)が重要である。しかし、その細胞内シグナル伝達機構は不明の点が多く、リウマチ破骨細胞を特異的に抑制する有効な治療法は知られていない。新たな関節リウマチ治療の標的を同定するために、RANKLシグナル伝達系を制御する機構を明らかにすることを目的とした。昨年度までの研究により、破骨細胞の分化を制御するマスター転写因子がNFATc1であることを同定したが、その活性化は、カルシウムシグナルに依存することが知られている。RANKLのようなTNFファミリーのサイトカインが直接カルシウムを活性化することは考えにくく、破骨細胞の前駆細胞においてカルシウムシグナルを活性化する機構を解明すれば、破骨細胞を制御するための新しい標的となる受容体を発見することができるため、このような受容体を探索した。

B.研究方法

免疫細胞に発現する受容体には、immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM)と呼ばれるアミノ酸配列が共通して見られ、リン酸化依存性に下流にシグナル伝達を行う。ITAMモチーフはT細胞受容体、B細胞受容体、Fc受容体のコンポーネントに含まれているが、NK細胞やmyeloid系細胞においては、ITAMをもつアダプター分子が種々の免疫グロブリン受容体と会合してシグナル伝達に寄与していることが知られている。このようなITAMアダプター分子であるDNAX activating protein 12(DAP12)とFc receptor common・subunit (FcR・)のダブルノックアウトマウス(DKOマウス)を作成し、骨組織を病理学的に検討した。また、培養細胞を用いてこれらのアダプター分子と会合する受容体を同定し、破骨細胞分化過程に

おいてカルシウムシグナルを活性化する経路を検討した。特に、RANKLによる転写因子NFATc1の誘導に注目して解析した。

(倫理面への配慮)

動物実験、遺伝子組み換え実験に関する施設内委員会の承認に基づいて実験を遂行した。ヒト試料の使用にあたっては、インフォームドコンセントを徹底したが、DNAなどの個人情報を扱う実験は含まれていない。

C.研究結果

DKOマウスは、破骨細胞分化が障害され、骨髄腔が形成されない重篤な大理石骨病を呈した。この結果、ITAMモチーフを介したシグナルが破骨細胞の分化に必須であることが明らかになった。DKO由来の破骨細胞前駆細胞にレトロウイルスでDAP12を発現させると、WTのDAP12では効率よくレスキューされるが、ITAMのリン酸化部位に変異をいれたDAP12においては、レスキューされないことから、破骨細胞分化においてITAMを介したシグナルが重要な意義をもつことが示唆された。さらに、破骨細胞前駆細胞において、DAP12やFcR・と会合している受容体を検索した結果、FcR・と会合する受容体はpaired immunoglobulin-like receptor (PIR)-A, osteoclast-associated receptor (OSCAR)であり、DAP12と会合する受容体はtriggering receptor expressed by myeloid cells (TREM)-2, signal-regulatory protein (SIRP)-1であることが明らかになった。また、これらの4種類の受容体を抗体を用いてクロスリンクして活性化すると破骨細胞分化を促進できた。このように、ITAMモチーフを持ったアダプター分子と会合する免疫グロブリン様受容体が破骨細胞分化を制御する新たな受容体であることが