

厚生労働科学研究費補助金

—厚生労働省免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業—

関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療開発研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 越智隆弘

平成18(2006)年3月

目 次

I. 総括研究報告	3
関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療開発研究 越智隆弘 (資料) 研究計画書 組織図 患者様への説明・同意文書 倫理委員会承認書類	
II. 分担研究報告書	
A) RA・骨粗鬆症の臨床的研究	31
1) RA 重症化の早期診断マーカー開発研究 大阪大学大学院医学系研究科 教授 吉川秀樹	
2) 薬物治療法確立研究 大阪市立大学大学院医学研究科 教授 西沢良記	
3) 人工骨開発適用研究 大阪大学大学院医学系研究科 教授 吉川秀樹	
B) 重症化機序解明と治療法開発研究	39
1) ナース細胞（線維芽細胞様細胞）病態解析研究	
①未分化骨髄からのナース細胞分化機序解明研究 帝京大学医学部内科学膠原病リウマチ科 助教授 広畑俊成	
②滑膜（ナース）細胞特定目的の病理学的解析研究 大阪大学大学院医学系研究科 教授 吉川秀樹	
2) 破骨細胞解析研究	
①破骨細胞に特異的に発現する MMP12 大阪大学大学院医学系研究科 教授 吉川秀樹 国立病院機構相模原病院臨床研究センター診断・治療研究室 室長 鈴木隆二	
②遺伝子改変マウスによる MMP12 遺伝子の病態解析研究 徳島大学大学院整形外科学 助手 松井好人、 熊本大学発生医学研究センター 教授 山村研一	
③RANKL 依存性破骨細胞における RANKL 切断活性の意義 東京大学医学部附属病院整形外科・脊椎外科 助手 田中栄	
④脂肪組織による RA 特異的破骨細胞抑制効果 大阪大学大学院医学系研究科・生命機能研究科 教授 下村伊一郎	
C) RA の病因遺伝子解明と治療法開発研究	59
1) RA 骨髄細胞特異的遺伝子の gene chip 解析 国立病院機構相模原病院臨床研究センター診断・治療研究室 室長 鈴木隆二 塩野義製薬株式会社創薬研究所 主任研究員 前田朋子	
2) 段階的サブトラクション法による解析 大阪大学微生物病研究所難治疾患バイオ分析部門 教授 野島博	
D) リウマチ医療体制実態調査研究	67
日本大学医学部整形外科学 主任教授 龍順之助	

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	71
-------------------------	----

Ⅳ. 研究成果の刊行物	77
-------------------	----

Ⅴ. リウマチ医療体制実態調査研究

日本大学医学部整形外科学 主任教授 龍順之助

Ⅵ. RA患者自己管理法開発・周知研究

国立病院機構相模原病院 病院長 越智隆弘
日本大学医学部整形外科学 主任教授 龍順之助

I 平成17年度 総括研究報告書

(関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療開発研究)

主任研究者 越智 隆弘

主任研究者 越智 隆弘
独立行政法人国立病院機構相模原病院 院長

分担研究者：下村 伊一郎 大阪大学大学院医学系研究科・生命機能研究科 教授
鈴木 隆二 独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センター診断・治療研究室 室長
田中 栄 東京大学医学部附属病院整形外科・脊椎外科 助手
西沢 良記 大阪市立大学大学院医学系研究科 教授
野島 博 大阪大学微生物病研究所難治疾患バイオ分析部門 教授
広畑 俊成 帝京大学医学部内科学膠原病リウマチ科 助教授
前田 朋子 塩野義製薬株式会社創薬研究所 主任研究員
松井 好人 徳島大学大学院整形外科学 助手
山村 研一 熊本大学産生医学研究センター 教授
吉川 秀樹 大阪大学大学院医学系研究科 教授
龍 順之助 日本大学医学部整形外科学 教授
研究協力者：中山 久徳 独立行政法人国立病院機構相模原病院リウマチ内科 医員
行岡 正雄 行岡病院 病院長
島岡 康則 行岡病院 副院長
坪井 秀規 大阪大学大学院医学系研究科 研究生
中村 宣雄 協和会病院整形外科 部長
桃原 茂樹 東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター 講師
安藤 貴信 独立行政法人国立病院機構盛岡病院整形外科 部長

A. 研究目的

社会の高齢化を迎え、加齢に伴う骨粗鬆症、骨折、続発する機能障害が増し、社会的および医療経済的問題も大きく、その予防や治療に国家的対応が迫られている。中でも、従来免疫異常の克服を治療目標にしてきた、関節破壊による機能障害をもった関節リウマチ(RA)患者の高齢化に伴って、いわゆる原発性骨粗鬆症を大きく上回る高頻度、高度な骨粗鬆症と骨折による機能障害が合併し重度の機能障害に陥っていることが認識され、大きな社会問題として注目され始めた。主任研究者らはRAの重症化に伴う自立障害防止のために、重症病型RAの機能障害の主因となる高度の骨粗鬆症(骨吸収亢進)と骨破壊の病態解明と治療開発研究を進めている。本研究では、研究目的を以下の大項目の柱に分けて、相互に関連しながら遂行している。

I) RA・骨粗鬆症の臨床的研究、II) RA・骨粗鬆症機序解明と新治療法開発研究、III) RAの病因遺伝子解明と治療法開発研究、IV) RA医療体制実態調査研究、V) RA患者自己管理マニュアル開発・周知研究

B. 方法

臨床研究から分子生物学的研究まで、広範な分担研究者および研究協力者連携の下、調査研究に関して必要なインフォームドコンセントを患者あるいは試料提供者から得て、以下の方法で研究を進めている。

I) RA・骨粗鬆症の臨床的研究；

- 1) RA重症化の早期診断マーカー開発研究；主任研究者らがRA重症化マーカーとして報告し、海外の追試、肯定をうけた血清中C1q値(Arthritis Rheum 1988)に関して当時困難だったモノクロー抗体作成による予後診断試薬開発を始めている。
- 2) 薬物治療法確立研究；重症RAに顕著な骨粗鬆症に対して薬物治療効果検討研究として、先ず、ビスホスホネート薬(アレンドロネート)投与による骨量減少抑制効果を腰椎と大腿骨頸部で評価し、治療法検討を進めている。
- 3) 人工骨開発適用研究；新たに開発した内孔つきハイドロキシアパタイト、連通多孔体人工骨(NEOBONE)をウサギ膝関節近傍に移植し、骨の再生を検討した。さらに、人工骨内に骨形成蛋白(BMP)、骨髄間葉系細胞を導入し、骨再生の促進を試みた。

II) 重症化機序解明と治療法開発研究；

- 1) ナース細胞(線維芽細胞様細胞)病態解析研究
 - ① 未分化骨髄からのナース細胞分化機序解明研究；RA、OA患者の腸骨骨髄液精製CD34+細胞よりcDNAを合成し、Realtime PCRによりNFκB1(p50)、NFκB2(p52)、RelA(p65)のmRNAを定量し、データはβ-actinのmRNAのcopy数に対する比で表した。
 - ② 滑膜(ナース)細胞特定目的の病理学的解析研究；RA患者から採取した滑膜および骨髄ナース細胞を組織学的に検討した。免疫染色(CD68;KP-1, PGM-1, CD34, D2-40)、電子顕微鏡解析なども併せて、ナース細胞特定を進めている。
- 2) 破骨細胞解析研究；平成16年の研究で注目された破骨細胞のMMP12, MMP14, adiponectineなどの詳細である。
 - ① RA破骨細胞に特異的に発現するMMP12:CD14陽性単球をRANKL+M-CSF刺激で誘導される正常破骨細胞について、一般的な破骨細胞マーカーの、TRAP, CA2(carbonic anhydrase), CTSK(cathepsin K), CALCR(calcitonin receptor), ITGAV(integrin αV), MMP-9の6種類と、平成16年度に報告したMMP-12について、RT-PCRで発現解析を行った。
 - ② 遺伝子改変マウスによるMMP12遺伝子の病態解析研究。(i) データベース等による検索、(ii) 遺伝子の完全破壊あるいは条件的遺伝子破壊等が可能なベクターをこれまでに開発した遺伝子トラップベクターpU-17, pU-21等を用いて開発する。(iii) MMP12遺伝子の破壊マウスを作製するための相同組換えベクターを作製する。
 - ③ RANKL依存性破骨細胞におけるRANKL切断活性の意義；本年度の研究では、種々のmatrix metalloproteinase(MMP)およびadisintegrin and metalloproteinase(ADAM)ファミリーのRANKL切断活性を検討した。
 - ④ 脂肪組織によるRA特異的破骨細胞抑制効果；アディポネクチンの検討；(i) RA患者由来の線維芽細胞様細胞(ナース様

細胞) およびこの細胞を用いて誘導される RA 特異的破骨細胞に対するアディポネクチンの作用検討を行う。(ii)リコンビナントアディポネクチン投与やアデノウイルスを用いたアディポネクチン強発現系 RA モデルマウスによる検討。

III) RA の病因遺伝子解明と治療法開発研究:

- 1) RA 骨髄細胞特異的遺伝子の gene chip 解析; 健康人末梢血由来 CD14 陽性細胞から誘導した諸種の破骨細胞から mRNA を調整し、Affimetrix 社の gene chip 解析を行い群間比較解析、クラスターリング解析、gene ontology 解析を行なった。
- 2) 段階的サブトラクション法による解析; 独自開発の段階的サブトラクション法により RA 優位に、あるいは OA 優位に転写誘導されている遺伝子群を単離・同定した。
- IV) リウマチ医療体制実態調査研究; 全国の特に活発なリウマチ診療施設の中から約 50 施設を抽出して、
 - ・各施設での診療現況、
 - ・各施設からの診療連携の状況、
 - ・各施設での診療実態の問題点、及び、今後どのように改善するべきか、また国あるいは地方自治体に対して、どのような施策を期待するか、
 - ・患者の長期経過観察に必要な診療情報をどのように管理しているか、などについての報告を依頼した。
- V) RA 患者自己管理法開発・周知研究; 特に在宅の RA 患者が留意すべき自己管理マニュアル作成班を平成 17 年度中に完成する。

C. 結果

I) RA・骨粗鬆症への臨床的研究;

- 1) RA 重症化の早期診断マーカー開発研究 (吉川分担研究者); 血中 C1q 値測定系開発の 1 次選択として 71 クローンを選択、2 次選択として反応性の強いもの 31 クローン (凍結保存済み)、さらに、安定なクローンとして 12 クローンを選択した。12 クローンに対してマウス腹腔移植を行ったなか、10 クローンについては少量ながらも腹水を得ることができた。現在までに各培養液 1 リットルが終了したので、今後、11 クローンにつき抗体精製をおこない、得られた抗体にそれぞれビオチンを標識し、固相化した抗体と標識抗体とのサンドイッチ ELISA を検討し測定キットを完成した。予備研究として RA 患者血清中の C1q 測定を始めている。
- 2) RA 骨粗鬆症の薬物治療法確立研究 (西澤分担研究者); RA 女性患者の腰椎 BMD は対照の閉経後女性に対して有意な低下を示した。踵骨 OSI でも同様の傾向を示した。逆に brachial-ankle (ba)PWV(cm/sec)は、対照群に比べて有意な上昇が認められた。一方、RA 患者の腰椎 BMD と ba PWV との間では有意な負の相関を認め、この関係は踵骨 OSI と ba PWV との間にも認められた。RA 患者にアレンドロネート 1 日量 5 mg を 1 年間投与した症例で有意に低下したのに対し、非投与群では、尿中 NTX/Cre 比 (nmol BCE/mmol Cr) は上昇した。その前後での比較では、アレンドロネート非投与群では、尿中 NTX/Cre 比 (nmol BCE/mmol Cr) は上昇したのに対し、投与群では有意に低下した。Bone alkaline phosphatase (BAP)(IU/L)についても、非投与群で上昇したのに対して、投与群では変化は認められなかった。投与群で、腰椎 BMD は大腿骨頸部 BMD は上昇を認めたが、非投与群では両部位で変化は認めなかった。この間の baPWV の変化は、投与群で低下を認めたが、非投与群では増加した。引き続き、重症 RA に顕著に見られる骨粗鬆症に対して骨量減少抑制効果を腰椎と大腿骨頸部で評価し、治療法確立へと研究を進めている。
- 3) 人工骨開発適用研究 (吉川分担研究者); 新たに開発したポア (連通孔) 内蔵ハイドロキシアパタイトは移植後 4 週で、人工骨中央部まで骨髄形成を伴う良好な骨形成を認め、BMP 含有人工骨では、さらに旺盛な骨再生を認めた。骨髄幹細胞含有人工骨では、筋肉内に移植後 4 週で、マイクロ CT 評価により、全ての気孔内に豊富な骨形成を観察することができた。臨床研究として高度の骨吸収症例に同人工骨を手術的に挿入したが強度増強とともに疼痛消失、機能回復を得て臨床があるので、次年度以後の臨床検討に期待がもてる。

III) 重症化機序解明と治療法開発研究:

1) ナース細胞解析研究

- ① 未分化骨髄からのナース細胞分化機序解明研究 (広畑分担研究者); RA 患者骨髄 CD34+細胞においては NFκB1(p50) mRNA の発現が OA 患者に比して有意に亢進していたが、NFκB2(p52)および RelA(p65)の mRNA については有意な差は認められなかった。従って、NFκB1(p50)は CRP などで評価される炎症の変動や、薬物治療効果とは無関係な RA 疾患重症度固有のものと思われた。
- ② ナース細胞特定目的の病理学的解析研究 (吉川分担研究者); ナース細胞を特定するために、基本的には諸種の血球系細胞と反応するモノクロー抗体を用いて、新鮮な滑膜組織の細胞を検討した。その中では CD68 に対する反応が顕著であった。CD68 陽性細胞は RA 滑膜表層細胞のみでなく、表層下ないし深層にも多数存在した。対照としての OA 患者では滑膜表層に限局しているのと明瞭に異なった。滑膜および骨髄細胞を免疫染色(CD68;KP-1, PGM-1, CD34, D2-40) の解析、引き続きの電子顕微鏡解析を予定している。局所所見では滑膜ライニング細胞には Macrophage-like 細胞と Fibroblast-like 細胞あり、前者が組織球系、後者が線維芽細胞系と言われているが、本結果では、細い線維芽細胞様細胞にも CD68 陽性細胞が存在し、従来線維芽細胞由来と考えられている Fibroblast-like 細胞の中にも組織球系細胞が含まれている可能性が示唆された。また血管周囲においては、骨髄から動員された前単球性細胞が血管から出てくるところであり、近年間葉系幹細胞も骨髄から動員されて滑膜中に入ると考えられていることから、その現象を示していると考えられる。現在、症例数を増やし、詳細に検討中である。

2) 破骨細胞解析研究;

平成 16 年までの研究で示された MMP12, MMP14, adiponectine に関して破骨細胞分化過程での病態を検討した。

- ① RA 破骨細胞に特異的に発現する MMP12 (鈴木分担研究者、前田分担研究者); CD14 陽性単球を RANKL+M-CSF 刺激で誘導される正常破骨細胞について、一般的な破骨細胞マーカーの、TRAP, CA2(carbonic anhydrase), CTSK(cathepsin K), CALCR(calcitonin receptor), ITGAV(integrin αV), MMP-9 の 6 種類と、平成 16 年度に報告した MMP-12 について、RT-PCR で発現解析を行った。以上 6 種類の既知破骨細胞マーカーのうち MMP-9 以外の 5 種類の発現が RA 破骨細胞に確認された。しかし、正常破骨細胞では発現を有する MMP-9 は、RA 破骨細胞では発現が無く、正常破骨細胞で発現が確認されない MMP-12 の発現が RA 破骨細胞では認められた。関節部病理組織で抗 MMP-12 抗体を用いた免疫染色を行っ

た結果、RA 患者全例で TRAP 陽性破骨細胞の 50%~10%が陽性を示したが、対照 OA 患者全例で MMP-12 破骨細胞を認めなかった。

- ② 遺伝子改変マウスによる MMP12 遺伝子の病態解析研究(山村分担研究者、松井分担研究者) ;(i) International Gene Trap Consortium のデータベースを検索したが、Mmp12 のトラップクローンはまだ登録されていなかった。(ii) 相同組換え用のベクターとしては、MC1-DT'A-pA-(poly cloning sites)-lox71-PGK-neo-loxP-pA-lox2272 を完成している。これを元に汎用性のベクターを作製中である。このベクターは、第 1 段階で遺伝子を完全破壊し、その後別の遺伝子で置換できるように設計している。すなわち、lox71 と loxP または lox2272 で挟まれている部分を、別の遺伝子で置換できる。このためには、別途置換用ベクターが必要となる。そこで、置換用ベクターとして 2 種類作製した。すなわち、lox66-splice acceptor-cloning site-polyA-Frt-PGK promoter-puro-Frt-loxP と lox66-splice acceptor-Frt-cloning site-PGK promoter-Puro-polyA-lox2272-MC1 promoter-DT'A-polyA-loxP である。後者を用いれば、Frt を認識する FLP を組織特異的に発現するトランスジェニックマウスと交配すれば、条件的遺伝子破壊も可能である。(iii) 上記のベクターを利用して、Mmp12 を組込み、相同組換え用のベクターを作製する予定である。
- ③ RANKL 依存性破骨細胞における RANKL 切断活性の意義(田中分担研究者) :複数の MMP, ADAM の中で、MMP14、ADAM10 に比較的強い RANKL 切断活性が認められた。そこに生じた sRANKL は 2 本のバンドとして検出され、MMP14 のノックダウンにより低分子量のバンドが消失し、ADAM10 のノックダウンにて高分子量のバンドの減少が見られた。MMP14 ノックアウトマウス骨芽細胞と正常マウス脾細胞との共存培養では破骨細胞形成の促進が認められた。
- ④ 脂肪組織による RA 特異的破骨細胞抑制効果(下村分担研究者) : (i) これまでに、in vitro における予備検討にて、ナース様細胞を用いて誘導される RA 特異的破骨細胞に対して、リコンビナントアディポネクチンを生理的濃度として、5・30ug/ml と高濃度に存在するアディポネクチンは RA 特異的破骨細胞の増殖・分化が著しく抑制されるという結果を得た。(ii) これまでに、II 型コラーゲン抗体を用いた関節炎モデルマウスおよびアディポネクチン強発現アデノウイルスを作製した。今後、マウスリコンビナントアディポネクチンの作製および投与実験を進めている。

IV) RA の病因遺伝子解明と治療法開発研究 :

- 1) RA 骨髄細胞特異的遺伝子の gene chip 解析(鈴木分担研究者、前田分担研究者) ; 健康人末梢血由来 CD14 陽性細胞を用いて得た、①M-CSF+RANKL(正常破骨細胞)で刺激誘導された破骨細胞、②RA ナース細胞で分化誘導された破骨細胞前駆細胞、③破骨細胞前駆細胞を M-CSF+RANKL で刺激誘導した破骨細胞、④破骨細胞前駆細胞を GM-CSF で刺激誘導した破骨細胞、⑤新鮮末梢血由来 CD14 陽性細胞の 5 群から、gene ontology 解析を行なった。Gene chip 解析は経過途中であるが、新鮮 CD14 陽性細胞と比較して、①群では 230 遺伝子、②群では 273 遺伝子の発現増加が確認された。また、①群と③群との比較では 302 遺伝子、①群と④群では 302 遺伝子の発現増強が確認され、③群と④群では 25 遺伝子の発現増強が認められた。さらに、①群と③群との比較から 305 遺伝子の発現増強、①群と④群では 293 遺伝子の発現増強が確認された。また、③群である RA ナース細胞で誘導される破骨細胞前駆細胞に特徴的に発現している遺伝子についても解析が終了し、12 個の遺伝子の選択を終了した。以上の結果を詳細に検討中であるが、RA ナース細胞により誘導された破骨細胞前駆細胞を経由する二種類の破骨細胞には、正常破骨細胞と異なる遺伝子発現があることが確認された。このうち、RA ナース細胞で誘導され更に GM-CSF で最終分化する(非 RANKL+M-CSF) 破骨細胞について特異的に発現する遺伝子の解析結果から、MMP-12, CDW52 antigen(CAMPATH-1 antigen), PLA2 group VII, Galanin, IL-1Ra を選択している。これらは遺伝子は、RT-PCR 解析を並行して進めているが、Galanin については、正常破骨細胞での発現は認められていない事を確認している。
- 2) 段階的サブトラクション法による解析(野島分担研究者) ; 独自に開発した段階的サブトラクション法を主とし、OA あるいは健康人に比べて RA 優位に転写誘導されている遺伝子 (R>O と仮称する) を単離・同定した。このうちノーザンブロット解析で検出できるほど本来の発現量が大きい遺伝子は 2 割弱であった。塩基配列を決定して確認したところ、単離・同定した遺伝子のうち 15%程度は cDNA として遺伝子バンクに登録されているものの、機能解析はほとんど行われていない新規な遺伝子であった。既知の遺伝子の中には細胞機能を制御する多彩な遺伝子が含まれていた。幾つかの遺伝子をピックアップしたうち R>O-9 と仮称した遺伝子の解析を進めた。RA の滑膜細胞では R>O-9 の受容体の量が OA に比べて顕著に多いこと、その下流の MAP カイネース・シグナル伝達経路の構成因子のリン酸化が亢進していることが分かった。さらに小胞体ストレス応答因子の発現量も増大していた。
- V) リウマチ医療体制実態調査研究 : 全国各地で治療実態の詳細な調査。
各地区県庁、医師会などに実態調査報告が送られて地域医療に役立つ事が期待されている。
- VI) RA 患者自己管理法開発・周知研究 : 特に在宅の RA 患者が留意すべき自己管理マニュアル作成班によって完成して周知事業を始めている。

D. 考察

- I) RA・骨粗鬆症への臨床的研究 ; 重症化抑制の薬物治療や人工骨適用による大腿骨頸部骨折予防治療は適切に進んでいる。臨床効果を高めるには早期の重症化予知が必要である。C1q モノクロー抗体を用いての ELISA システムがうまく進んでいるので、予後診断マーカー開発と、それに基づく早期治療方針決定が可能と考えて次年度研究に入る。
- II) RA 骨粗鬆症機序解明と新治療法開発研究 : 骨破壊重症化の原因は RA 病巣を形成するナース細胞機能をもった線維芽細胞様細胞と RA 特異的な破骨細胞との活性化である。ナース細胞が組織球系の可能性、分化の特徴、特異的遺伝子などが解明され、また RA 特異的な破骨細胞に発現する MMP12、アディポネクチンによる抑制、特異的遺伝子などの解明が進んでいるので、平成 18 年度には順次標的遺伝子を絞り込み相同タンパクの生体内病態解析とともに病態解明研究、更に治療研究が大きく進み始める。
- III) RA の病因遺伝子解明と治療法開発研究 :
今回の研究では、RA 骨髄中の特異的遺伝子を網羅的に把握して、現在絞り込みにかかっている。引き続き、相同タンパクの作成をすすめてきた。生物学的活性の評価などから病因遺伝子あるいは重症化誘発遺伝子を判別する。原因遺伝子解明と治療法解析に期待が寄せられている。

IV) リウマチ医療体制実態調査研究：

RA 重症化予防に対する地方自治体と医療機関との現状が示されたので、理想的な共同取り組みに期待が寄せられる。

E. 結論

平成17年から10年計画の、RA 重症化制圧目標が順調に推進される進捗で、RA 病因、病態、治療研究が進められた。

I) RA・骨粗鬆症重症化の予後診断薬（C1q 蛋白量）開発を進めた。

II) 早期の薬物治療法、人工骨治療法確立を進めた。

III) 重症化機序解明と治療法開発研究を進めた。

1) ナース細胞解析研究 では病理学的特性、分化特性、遺伝特性解明が進み治療法開発の進行。

2) 破骨細胞解析研究では RA 特異的破骨細胞の特異的 MMP12 発現、遺伝子改変マウス開発、特異的遺伝子解明などにより、特性解明と治療法解明が大幅に進んでいる。また脂肪組織由来のアディポネクティンによる破骨細胞抑制活性解明もすすみ、治療薬開発の進行。

IV) RA の病因遺伝子解明と治療法開発研究の進行。； 1) RA 骨髄細胞特異的遺伝子の gene chip 解析（鈴木分担研究者、前田分担研究者）、 2) 段階的サブトラクション法による解析（野島分担研究者）などの方法で解析を進めてきたが MMP-12, CDW52 antigen (CAMPATH-1 antigen), PLA2 group VII, Galanin, IL-1Ra などの標的遺伝子への絞り込み。

V) リウマチ医療体制実態調査結果や RA 患者自己管理法開発・周知研究を完成して治療政策推進にも貢献できた。

研究計画書

1: 課題名

関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療開発研究

2: 研究責任者(所属・職名・氏名)

独立行政法人国立病院機構 相模原病院・病院長・越智 隆弘

3: 本研究の背景

社会の高齢化を迎え、加齢に伴う骨粗鬆症、骨折、続発する機能障害が増加し、社会的及び医療経済的問題を大きくしている。その予防や治療に対して、平成 17 年度から「介護予防」の呼称での国家的対応が予定されている。その中でも、従来免疫異常の克服を治療目標にされてきた RA 患者の、特にその 30%を占める重症 RA 患者には極めて高頻度、重度な骨粗鬆症が発症し、高頻度な骨折と共に、重度な関節機能障害が発症することから、RA は「介護予防」方針の中でも重要課題となることが、平成 16 年度までの班研究で明示され、極めて重要な社会的問題であり、RA 重症化防止、更に根治療法開発は急務となった。

申請者らは当面の問題として、既存の抗 RA 薬と骨吸収抑制薬を適切に組み合わせることにより骨粗鬆症進行を抑えることが出来るかを検討する。更に、根本的な究明として、このような骨吸収亢進と骨破壊拡大の病因・病態は骨髄にあるものとして厚生労働科学研究を続け、骨病態抑制、原因解明に繋がる研究成果を得てきた。本研究で企画している骨髄病態解明及び骨吸収機序亢進抑制目的での治療法開発により、RA の重症化が抑制され自立が保たれる。社会の高齢化により高齢発症 RA が増しているなかで、自立喪失の抑制は国民にとって大きな利となる。社会的にも、行政的にも、高齢者の自立喪失の減少は、現代の重要課題解決への途であり、必要性は大きい。

本研究計画は各項目で平行して進める。平成 17 年度からの 2 年間で、RA 特異的破骨細胞、病巣形成マース細胞の特異的表面抗原及び特異的遺伝子の解明が出来る。やはり、この期間に、RA 骨髄血から病因遺伝子、病原体候補遺伝子が単離ができる。これらを目的とする遺伝子がコードする蛋白について細胞生物学的に解析することにより、平成 19 年度以降、RA の原因病原体を特定して、一次予防への手がかりを得て、リウマチゼロ作戦を進めることが出来る。上記の研究から、RA の重症化予防とならんで予防・治療に対応可能となり、RA の社会的及び医療経済的問題解消へと一歩進む。

「リウマチの主病巣が骨髄」という考え方は厚生科学研究費や医薬品機構研究費などに支援された日本発の独創的な研究であり欧米からも評価され、日本の共同研究体制で解明を急ぐことが NIH の主任研究員である Lipsky 博士などからも求められている。以上のような背景のもの、この研究を急ぎ、成果に基づき高い有効性を示す治療薬の開発研究

急がれている。

4: 研究の概要

本研究は、高齢者の運動機能低下を防止し、更に、向上をはかる世界運動、「運動器の10年運動(Bone And Joint Decade)」の日本委員会として、国内での施策検討目的での研究班構成案である。

(1)RA・骨粗鬆症の臨床疫学的研究：申請者らは平成16年度までに、関節リウマチ(RA)患者には特異的な骨粗鬆症が合併し、骨折リスクは高く、骨・関節破壊の重症化に到る事と、X線臨床診断法を示した。本研究では、①RA・骨粗鬆症重症化の予後診断マーカー開発研究が一項目である。更に、②進行抑制・改善の治療法に関して、現在使用可能な抗RA薬と骨吸収抑制薬との組み合わせでの可能性について、多数例疫学研究を行う。

(2)重症化機序解明研究：加齢にRA特異的骨吸収が加わった重度な骨粗鬆症と高頻度な骨折リスクを防ぐ治療法開発研究である。申請者らが研究してきたRAの骨髄病巣と、引き続く滑膜病巣重症化抑制の為の、重症化病態解明と治療法開発研究である。申請者らは平成16年までに、既に、根治療法への重要な手がかりを得ている。

①RA患者の破骨細胞病態解明と治療薬開発研究：(i)RA患者の骨髄および関節病巣に存在する特異的な(RANKL非依存性の)破骨細胞様細胞を見出し、分化機序、遺伝子構造などを解明し、モノクロナル抗体作成にも成功している。この細胞を標的に、本研究では、重症RAの骨吸収機序抑制治療法へと開発研究を進める。(ii)従来から知られているRANKL依存性破骨細胞のRA患者における病態を解明して、治療法検討を進める。

②RA病巣形成ナース細胞病態解明と治療薬開発研究：(i)ナース細胞の生物学的特性の解明。(ii)骨髄細胞からナース細胞への分化機序解明と抑制法開発。(iii)病巣における骨・関節破壊機序解明と抑制法開発。(iv)ナース細胞の特異的マーカーを特定することによって、滑膜および骨髄間質細胞を標的とする病巣形成阻止治療が可能になる。平成16年の班研究で、ナース細胞特異的遺伝子を得ている。これを手がかりに病巣形成阻止治療薬開発を進める。

③RA骨髄に存在する脂肪組織による骨吸収抑制病態解明と治療薬開発研究：骨髄中には多数の脂肪組織が存在することは外科医には周知の事実である。この組織が骨吸収をコントロールしていることが平成16年度の研究で認識された。この病態解明と治療薬開発を進める。

(3)病因解明と根治療法開発研究：申請者らによって、RA骨髄液中に発現する疾患特異的遺伝子のほぼ全体が選択的トランスクリプトーム法で解析された。RAと非RAでの詳細な比較検討がなされ、数種類のRA特異的遺伝子の探索に成功している。本研究ではこれらの遺伝子がコードする蛋白を発現させ、RA発症あるいは増悪との関連を調べて、RA増悪の原因遺伝子、原因蛋白を解明する。これは原因解明と一次予防成功を目指す研究である。(i)RA特異的遺伝子の探索続行。(ii)RA骨髄での特異的発現による選別。(iii)蛋白形成と生物学

的活性検討。(iv)発生工学的検討。(v)病因解明。(vi)完治療法開発へ。

(4)リウマチ医療体制に関する調査研究：上記の研究と併せて、現在の関節リウマチ診療現場での問題点を調べ、今後診療ネットワークを作るには、どのような点に考慮すべきかを、各地区、各診療形態からの事例集を集約して、検討材料とする。

5: 本研究の目的

社会の高齢化を迎え、加齢に伴う骨粗鬆症、骨折、続発する機能障害が増し、社会的および医療経済的問題も大きく、その予防や治療に国家的対応が迫られている。その中でも、従来免疫異常の克服を治療目標されていた関節リウマチ(RA)患者には、非RA対照のいわゆる原発性骨粗鬆症に対して更に高頻度、高度な骨粗鬆症が、関節機能障害に併せ発症することが認識され始め、社会問題を大きくしている。そのような背景からRAの病因・病態解明、そして治療法開発研究は急務である。従来、滑膜における免疫異常機序解明を目標に世界中で諸研究が進められながら未解明の現状に対して、骨粗鬆症という特異的な臨床症状を引き起こす骨髄を重要な場とした組織破壊の病因・病態解明という新たな突破口が得られたと考えられる。RA患者の約30%が陥る重症化と重度な骨粗鬆症進行抑制と原因解明を行い、完治療法開発を最終目的とする。

6: 研究期間

2005年4月1日～2008年3月31日

7: 研究状況及び前年度までの実績

(1)RA・骨粗鬆症の臨床疫学的研究：申請者らは平成16年度までに、RA患者には加齢に伴う原発性骨粗鬆症による骨粗鬆症よりも顕著な骨粗鬆症を併発し、高頻度に骨折が起きていることを明示した。そしてその診断のための骨密度測定は、原発性骨粗鬆症での評価部位(腰椎)より、RA徴的な骨粗鬆症部位は股関節、手関節などの関節近傍を測定・評価することが必要であることを明らかにした。今後、この成果に基づく評価法による治療評価が急がれる。

(2)RA骨粗鬆症病態解明研究：RA病態は、病巣を形成する異常活性化した線維芽細胞様細胞(ナース細胞)による病巣と、炎症あるいは骨破壊を引き起こす異常活性化した血球系細胞から形成される病態が普遍的病態であることを、厚生科学研究や医薬品機構研究に支持されて、明らかにしてきた。当該研究プロジェクトで問題とする重症病態では、血球系細胞の中でも、単球系CD14(+)細胞からの破骨細胞分化が最大の問題となることも、申請者の研究結果から明らかとなっている。本研究では、重症病巣を構成するナース細胞、単球系CD14(+)細胞からの破骨細胞分化の分子生物学的解明研究になるが、その前段階は終了して準備状態はできている。また生体で骨髄環境として重要な脂肪組織に関する研究も、予備検討を終了して、重症化との関連実験にはいることが出来る。

(3) RA の病因解明研究：申請者らの RA 骨髄病因研究からウイルス関与の可能性を強く示唆するデータを得て研究企画を進めてきた。既に RA の末梢血細胞および骨髄細胞に発現する遺伝子のほぼ全体が登録された。RA に見出されるこれら遺伝子群を包括的に解明することにより、原因遺伝子を捕らえることができる。

(4) 治療法開発の研究：上記の結果から、破骨細胞機能抑制、ナース細胞抑制による治療薬開発を進める基礎研究は大幅に進んでいる。

8: 研究方法

(1) 疫学的研究：RA 患者の骨粗鬆症、特に重症化の懸念のある症例を大腿骨近位部または手首の X 線所見で 診断する方向と、既存治療薬での抑制効果を調べる臨床疫学研究を行う。

- ① RA・骨粗鬆症重症化の予後診断マーカーを、遺伝子、血清蛋白から解析する。
- ② 予後診断マーカーで評価した症例を経過観察し、重症の予後診断を確立する。
- ③ 重症経過の症例に対して、進行抑制・改善の治療法を、現在使用可能な抗 RA 薬と吸収抑制薬との組み合わせで試みる多数例疫学研究を行う。

(2) 重症化機序解明研究：RA の重症化の原因である破骨細胞機能亢進機序制圧の為骨髄病巣と骨膜病巣抑制目的の為の重症病態解明と治療法開発研究である。

① 特異な破骨細胞分化機序解明と治療薬開発研究：RA 特異破骨細胞(重症化関連)と非 RA 破骨細胞(通常代謝系)との比較検討を行い、RA 特異的破骨細胞の膜上に発現する蛋白をコードする遺伝子の特徴を解明する。重症 RA 及び非 RA 対照群から、それぞれの単球から回収した RNA 由来の siRNA 発現ベクターライブラリーを作製し、このライブラリーを前駆破骨細胞に導入後、目的とする遺伝子を同定する。また、既にその特異性を確認した新規 4 回膜貫通型蛋白の機能解明を RNAi を用い解明する。その上で、RA 破骨細胞を標的にした治療法開発を進める。

② 病巣形成するナース細胞の細胞学的特異性解明と治療薬開発研究：重症 RA 患者由来ナース細胞 RNA 由来の siRNA 発現ベクターライブラリーを導入したナース細胞と、取り込み能を消失したナース細胞を回収し、特異的機能を持った目的遺伝子を同定する。それを標的として滑膜及び滑膜間質細胞病巣形成阻止治療が可能になる。平成 16 年の班研究で得ているナース細胞特異的遺伝子を標的に病巣形成阻止治療開発を進める。

③ RA 骨髄の脂肪組織による骨吸収抑制病態解明と治療薬開発研究：骨髄中には多数の脂肪組織が存在する。この組織が骨吸収をコントロールしていることが平成 16 年度の研究で示された。アディポネクチンの破骨細胞の文化成熟抑制効果が示唆されたわけであるが、これを有効に骨粗鬆症形成あるいは骨吸収機序抑制治療に用いる開発研究を進める。

RA 重症化に伴い、骨とともに大関節面の変性破壊が進むが、その機序を調べる。

④ RA 重症化による関節破壊抑制機序解明と治療薬開発研究：重症 RA 患者の病態から、関節表面のみでなく、骨髄側からも軟骨破壊が引き起こされる。分子生物学的手法を駆使して、病態解明と抑制治療薬の開発を進める。

(3) 病因解明と根治療法開発研究：平成 16 年度の班研究で、RA 骨髄液中に発現する疾患特異的遺伝子のほぼ全体が選択的トランスクリプトーム法で解析され、RA と非 RA での詳細な比較検討がなされ、数種類の RA 特異的遺伝子の探索に成功している。本研究では選択的トランスクリプトーム解析で選択した遺伝子に対して、siRNA を設計し、特定の表現系に及ぼす影響を解析することにより、候補遺伝子の絞込みを行う。また、細胞への siRNA 導入が低い場合には、siRNA 発現アデノウイルスベクターやレンチウイルスベクターを構築する。これらの遺伝子がコードする蛋白を発現し、RA 発症あるいは憎悪との関連を検討することにより、RA 憎悪の原因遺伝子、原因蛋白を解明する。RA 患者重症化の予後診断指標に応用するとともに、RA 原因解明と一次予防を目指す研究である。

9: 予想される成果

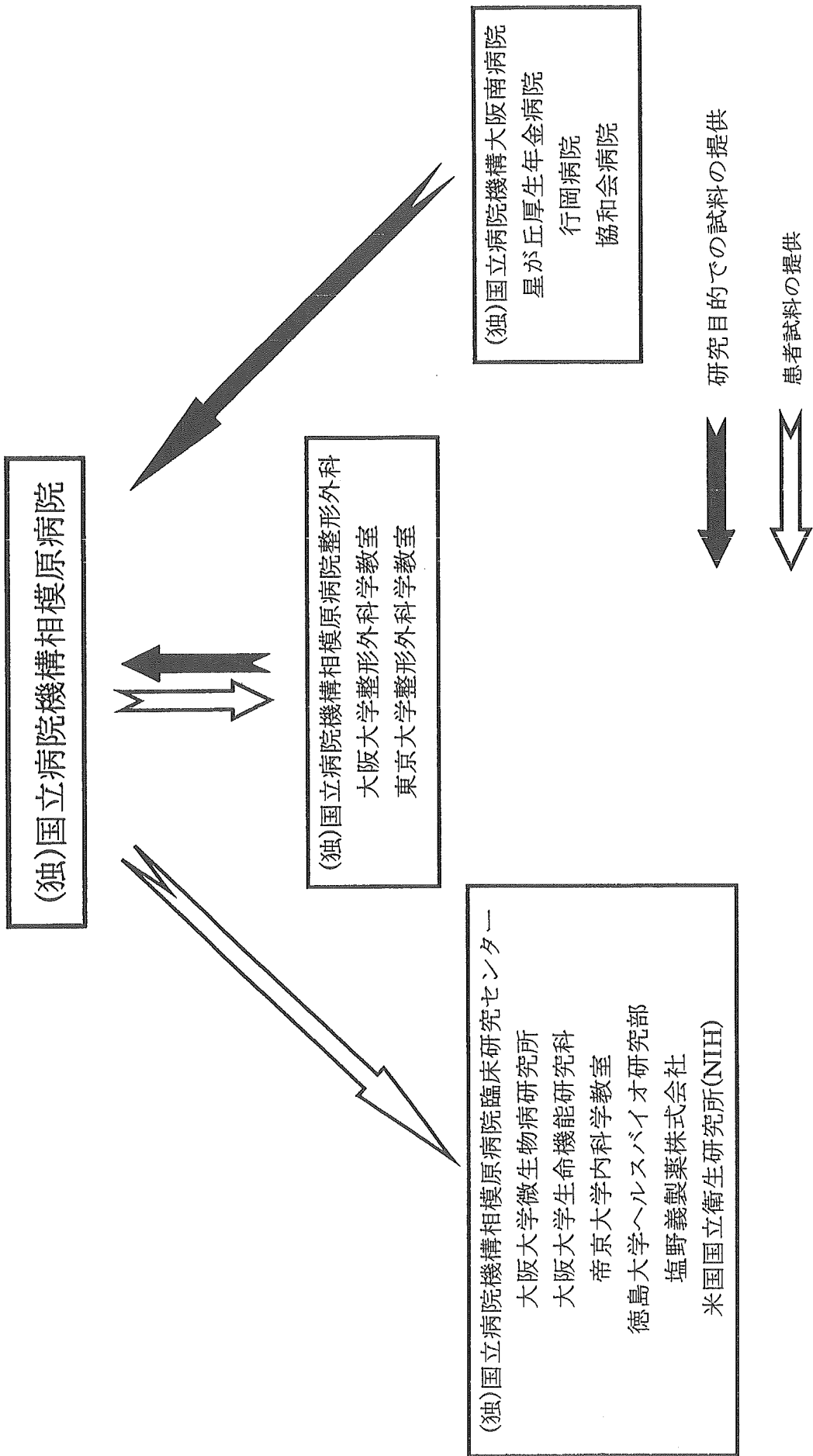
高齢化社会に於ける RA 患者などの生活機能病についての基礎的、臨床的、免学的解明、再建治療の基本コンセプトとしての骨関節破壊様式の解明、根治治療開発、機能障害再建などの課題を解決する社会的必要性は大きく、成果として機能障害減少の社会的恩恵は大きい。更に、本研究は RA の未解決病因・病態解明と予防法、根治治療につながるものである。

10: 研究組織

以下のような研究者のサブグループを構成して推進する。

- 1) 疫学的実態調査研究：独立行政法人国立病院機構相模原病院(越智隆弘病院長)、大阪市立大学第二内科学教室(西沢良記教授)、東京大学整形外科学教室(田中栄助手)、大阪大学整形外科教室(吉川秀樹教授)などの国公私立診療・研究協力施設。
- 2) RA・骨粗鬆症病態解明研究：独立行政法人国立病院機構相模原病院(越智隆弘病院長、鈴木隆二室長)、東京大学整形外科学教室(田中栄助手)、大阪大学整形外科学教室(吉川秀樹教授)、熊本大学発生医学研究センター(山村研一教授)、徳島大学整形外科学教室(松井好人助手)などの国公私立診療・研究協力施設。大阪大学生命機能研究科(下村伊一郎教授)、行岡病院(行岡正雄病院長、島岡康則副院長)、協和会病院(中村宣雄部長)、塩野義製薬株式会社(前田朋子主任研究員)などの国公私立診療・研究協力機関、および米国国立衛生研究所(NIH)(Peter Lipsky 主任研究員)。
- 3) 病因解明研究：独立行政法人国立病院機構相模原病院(越智隆弘病院長、鈴木隆二室長)、大阪大学微生物病研究所(野島博教授)、大阪大学整形外科学教室(吉川秀樹教授)、帝京大学内科学教室(広畑俊成助教授)などの国公私立診療・研究協力施設、および米国国立衛生研究所(NIH; Peter Lipsky 主任研究員)。
- 4) 治療法開発の研究：独立行政法人国立病院機構相模原病院(越智隆弘病院長、鈴木隆二室長)、塩野義製薬株式会社(前田朋子主任研究員)。
- 5) リウマチ医療体制に関する調査研究：日本大学医学部整形外科学教室(龍順之助教授)。

— 研究組織図 —



本研究を遂行するに必要なヒト臨床サンプルの取り扱いに関して

本研究とは「関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療法開発研究(H-免疫-007)」を言う。

1: ヒト臨床サンプルを用いる理由と目的

本研究では、関節リウマチ・骨粗鬆症の臨床免学的の実態調査に始まり、腸骨骨髓細胞を用いて関節リウマチの原因・病態解明および変形性関節症など対照疾患との比較検討の上で遺伝要素を含む組織破壊機序解明と、その結果に基づく基本的治療開発を急ぐことである。

2: 試料等が必須である理由

患者臨床試料を用いて実施される本研究は、本疾患に特異的な病態機序に焦点を合わせて遂行される。その成果を標的とし最終的に創薬研究に資す。本疾患に完全に類似もしくは模倣した病態動物モデルは現状では無い。そのため、本疾患患者試料等を用いた病態解明アプローチ・創薬アプローチは、その目的に必須である。

3: 臨床サンプルを用いた試験方法

- 1) 試料の取得：担当医師が治療を目的とした外科切除により取得した関節疾患組織とその周辺組織、同時に採取骨髓血、抹消血を用いる。
- 2) 試料等の保管：取得後 -80°C で冷凍保存されたものを使用する。また、それらから調整されたタンパク・遺伝子サンプルはコード番号を付け、鍵付き冷凍庫に保管する。また、試料は電子媒体で管理し、共同研究機関の研究責任者および研究担当者以外は使用できない。
- 3) 細胞生物学的解析：取得試料を公知の方法により細胞生物学的解析を行う。
- 4) 遺伝要素の解析：切除された組織、同時に取得した骨髓血・抹消血などから公知の手法により遺伝子発現および genechip による遺伝子解析を行う。

4: ヒト臨床サンプルを用いた本研究から予想される結果

病変部組織は正常組織と比較して、異なった多くの炎症性、組織破壊および細胞増殖に関与するタンパクと遺伝子の発現または抑制が観察されると予想される。これら線常時と異なった因子の発現状況と関節リウマチおよび骨粗鬆症・変形性関節症などの対照疾患の病態形成に対する関連性を比較することにより、根本的治療薬開発という本研究の目的が達成される。

5: 研究成果の発表

本試験計画に基づいて実施された研究成績は共同研究者全員のものとし、本研究に参

加した研究者合意の下に公表する。

6: 本研究協力依頼の対象疾患選択基準

- 1) 対象疾患：研究協力施設において治療目的で手術が行われた関節疾患症例を言う。
- 2) 選択基準：関節リウマチおよび骨粗鬆症、変形性関節症などの対照疾患であることが診断され、機能再建目的などで手術を受ける患者のうち、手術時切除試料・骨髄液・血液などの試料を採取して研究目的で用いることに関して文書で説明し、本人(本人死亡の場合は代諾者)から同意書で承諾が得られえた症例。
- 3) 種類と数量：採取試料は、①関節切除標本、②骨髄液(5 - 10ml)、③血液(5 - 10ml)、④尿(5 - 10ml)、⑤滑液(5 - 10ml)。年間 200 症例を予定。
- 4) 使用薬剤： 該当なし。
- 5) 検査および評価項目：該当なし。
- 6) モニタリング：該当なし。
- 7) 除外基準：①HBs 抗原・抗体いずれかが陽性である患者。②HCV 抗体または HCV - RNA 陽性である患者。③その他、健常人に重篤な感染症を引き起こす可能性のある患者。④主治医が本研究遂行上、不相当と判断した患者。

7: 症例の登録方法

- 1) 患者の登録：対象患者の適格条件を満たした患者に対し、切除後組織・骨髄液・末梢血・尿など試料に関する本研究へのしよを依頼し関連する書類を手渡す。患者が試料の使用を同意した場合、同意書に署名し本研究責任医師に提供する。

登録場所と方法： 先ず試料採取施設に匿名登録(連結可能匿名化)したうえで、本研究総括事務局である独立行政法人国立病院機構相模原病院に匿名登録される。

- 2) 割付方法：該当なし。

8: 試料および遺伝情報の外部機関への提供、保存と破棄

研究試料を得た時点で当該施設にて試料の名前を暗号化(連結可能匿名化)し個人情報
の流失を防ぐ。その後、本研究事務総括局である独立行政法人国立病院機構相模原病
院に匿名登録、保存した後に、適切な共同研究施設は必要分のみ送られる。研究実施終
了後に共同研究機関との協議の上、すべての試料および試料から得られた細胞・タンパ
ク・遺伝子は独立行政法人国立病院行機構相模原病院臨床研究センターに返却して保存
する。それは本研究で得られた結果をさらに詳細に検討する際に使用する。保存に必要
性が無いと判断された試料に関しては匿名のまま密閉容器に破棄するか、または焼却処
分する。

9: ヒト細胞・遺伝子・組織バンクへの試料等の寄託

無し。

10: データの蓄積および解析

1) 関節疾患の活動性・重傷度の評価：臨床担当医師が共同研究施設間で申し合わせた一定の臨床評価基準による。

2) 患者およびデータの取り扱い：データ解析後、研究責任者が個人情報を一括管理し責任持って個人情報を保護する。

データ解析」

3) 症例登録状況の集計：独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センターで行う。

4) 疾患重傷度などの評価：独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センターでまとめた一定の評価基準による。

5) 安全性の解析：独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センターでまとめた一定の評価基準による。

11: 個人情報の保護の方法

本研究では個人情報保護のために試料と提供者との連結可能匿名化を実施し、試料と提供者との対応付けは出来ない。

12: インフォームド・コンセントを取得するための手続きおよび方法

1) 説明項目：担当医師は患者本人の試料を使用に際し下記の内容を詳しく説明する。説明・同意文書は説明する時に患者本人に手渡す(患者説明文書および同意書添付)。

① 手術時切除組織片・骨髓液・抹消血・尿を解析する本研究は、関節リウマチ患者・骨粗鬆症および変形性関節症など対照疾患による骨関節破壊の原因・病態解明の研究、そして治療薬開発研究を行う目的であること。

② 本研究から得られた結果を元に国公立(製薬企業を含む)の外部研究機関で治療薬開発研究を行うこと。

③ 研究の成果が特許権など知的財産権を生み出した場合は、その権利が国あるいは研究に関わった研究機関に帰属し、試料等の提供者には帰属しないこと。

④ 遺伝子情報を開示しない場合は、説明文書にその旨を記載してあること。

⑤ この研究への試料提供は自由で、提供に承諾しなくても不利益を受けないこと。

⑥ この研究への試料提供に同意した場合でも随時これを撤回できること。

⑦ その他プライバシーや医療記録が守秘されること。

2) 同意の取得：説明を行った当日または翌日以降、患者がこの研究の内容をよく理解したことを確認した上で、試料提供について同意を依頼する。患者本人が試料提供に同意した場合は、説明文書に自筆による署名を得る。

3) 同意取得時期： 同意の取得は登録の前とする。

4) 既提供試料等の使用： 使用する。既に採取されている試料に関しては、本研究に

対する同意が得られたのち登録する。

5) 同意書の保管・管理： 同意書は研究責任者が保管する。説明文書と同意書(コピー)は患者本人に手渡す。

13: 予想される試料提供者に対する危険および不利益

試料は手術適応患者について手術時に摘出・採取されたものを用いる。また、通常の処置時に採取される滑液・血液・尿を使用するために、危険性および不利益は無い。

14: 遺伝子情報の開示に関する考え方

個々の試料提供者の遺伝情報が明らかになった場合、試料提供者が自ら遺伝情報の開示を希望する場合には開示し、試料採取施設の研究責任者あるいは本研究の総括責任者である越智隆弘が説明にあたる。

15: 遺伝子カウンセリングの必要性

遺伝子発現に関して正常のそれとの比較検討である。多種多様な遺伝子の発現の差異が認められると予想されるが、それらの機能を明確にするには長期の詳細な解析が必要となる。現在までの研究結果から RA の遺伝素因の関与を予想させるそれは無い。以上から遺伝子カウンセリングの必要性は無い。

患者さんへの説明・同意文書

研究課題名：関節リウマチ・骨粗鬆症患の重症化防止治療開発研究(H-免疫-007)

1: 患者さんあるいは代諾者の方への御願い

この文書では、あなたに「関節リウマチ・骨粗鬆症患の重症化防止治療開発研究」への御協力を御願いするため、研究の内容や研究協力に同意していただくための手続きなどについて御説明します。この説明を十分に理解し、研究に御協力頂ける場合には「関節リウマチ・骨粗鬆症患の重症化防止治療開発研究説明・同意書」に署名または記名・押印し、同意したことをはっきり示して下さるよう御願い申し上げます。

2: この研究の目的とあらまし

関節リウマチは世界中で人口の約0.5-1%に発症し、日本でも約50-70万人の患者がいると考えられています。慢性炎症持続と共に全身性の骨・関節破壊が進行し、更に加齢に伴って取り分け顕著な骨粗鬆症が進行するため、機能障害も重度で大きな社会問題になっています。リウマチの原因や、なぜ骨・関節破壊が進行するかという病態も尚不明ですが、近年、骨髄に重要な病巣があることがわかり、リウマチでは顕著な骨粗鬆症が進行し、骨・関節破壊の誘因になっていることなどが見いだされてきました。

今回、厚生労働省から研究費の支援を得て、日本の骨・骨粗鬆症研究を活発に行ってきた独立行政法人国立病院機構相模原病院、東京大学整形外科教室、大阪大学整形外科教室、大阪大学微生物研究所、大阪大学生命機能研究科、独立行政法人国立病院機構大阪南病院、松本歯科大学、帝京大学内科学教室、日本大学整形外科学教室、徳島大学整形外科学教室、市立池田病院、行岡病院、協和会病院、塩野義製薬株式会社研究所などの国公立および私立の医療・研究施設、および米国国立研究所(NIH)が加わった研究グループを作り間接リウマチ・骨粗鬆症の重症化に伴う骨・関節破壊の病態解明と予防方法・治療開発研究を進めることになりました。

既にリウマチ骨髄には独自の病的変化が起き、特異な破骨細胞(骨を破壊する細胞)などが多数生じて骨・関節破壊、骨粗鬆症を引き起こしているらしいことなどが明らかにされてきました。手術時に切除する病変部分と併せて全身状態を知るために血液など採取して行う今回の研究は長年行われてきましたが、従来の解析では病因・病態は解明できませんでした。今回の研究班では、手術時切除の病変部分、血液と尿そして骨髄病変を知るために骨髄液を採取して、従来の解析方法とともに遺伝要素解析研究も含めて、広範な研究施設協力で行われる研究で大きな期待が寄せられています。

3: この研究への御協力をお願いするにあたって

関節リウマチ、骨粗鬆症さらに対照疾患としての変形性関節症などの関節疾患で未だ不明の、「なぜ病気が起きるのかの原因、なぜ高度な骨・関節破壊や骨粗鬆症が起きるのか？」の病態を解明して、その結果に基づいて根本的治療薬を開発するために、国内外の有力な研究者による研究班が作られました。

あなたは関節疾患に罹って治療・手術を受けられますが、その時に切除した病的な部分を研究材料として使わせて頂きたいと共に、血液(5-10ml)、滑液(5-10ml)、腸骨骨髓血(5-10ml)と尿(5-10ml)を採取して、あなたに起きている病変を正確に把握させて頂きたいのです。

— 次にあなたに研究への御協力をお願いするにあたって御理解頂きたい事項について順次御説明します—

研究協力はあなたの任意ですし、撤回もできます

研究協力に同意されるかどうかは任意です。あなたの自由意志で決めて下さい。研究協力に同意されてもされなくても、当院では同じように最善の医療を提供します。

一旦同意された場合でも不利益を受けることなく、いつでも一方的に文書により同意を撤回することができます。その場合は提供いただいた組織、血液、腸骨骨髓液や研究結果は破棄され、診療記録もそれ以降は本研究のために用いられることはありません。ただし同意を撤回したとき既に研究結果が論文などで公表されていた場合や試料等が誰のものか完全に分からないようにする連結不可能匿名化されていた場合など、研究結果を破棄できない場合があります。

なぜ、あなたに御願しているか

この研究では、関節リウマチや変形性関節症などの関節疾患で手術を受けられる方に研究の協力を御願しています。

代諾者が選定されることもあり得ます

患者本人が不幸にして既に死亡している場合でも、御本人に生前頂いた医学研究に対するインフォームドコンセントおよび御自身の組織を提供する意思が明らかな場合に限り、代諾者に手術時試料を用いての研究に対する協力・同意をお願いしています。

1) 研究の方法、期間、試料等の種類

① 方法：手術時に切除した関節病変組織、血液、尿、腸骨骨髓液から病理学所見、細胞、蛋白、遺伝子発現などを解析し、関節疾患の病因、骨・関節破壊機序、炎症持続や関節破壊の重傷度、疾患の予後とどのような関係があるかを検討し、その結果に基づいて根本的治療薬開発へと研究を進めます。

② 期間：平成17年4月1日(申請が許可された時点)から平成19年3月31日までを予定しています。

③ 試料：手術切除された病的組織、腸骨骨髓血、滑液、血液と尿を使用します。