

- Maruyama I, Higashi N, Sato M, Senoo H, Ochi T, Yokoyama S, Amano T, Kim J, Gay S, Fukamizu A, Nishioka K, Tanaka K, Nakajima T. Cytoplasmic destruction of p53 by the endoplasmic reticulum-resident ubiquitin ligase 'Synoviolin'. *EMBO J* 26 (1): 113-122, 2007.
- 32) 江口勝美. 抗リウマチ薬各論一本邦未承認薬 7・3生物学的製剤①アダリムマブ②アナキンラ. 抗リウマチ薬の選び方と使い方, 南江堂, p91-100, 2006.
- 33) 江口勝美. 回帰性リウマチ. 今日の治療指針, 医学書院, p91-100, 2006.
- 34) 江口勝美. 関節リウマチは治る病気になってきました. *健康一口* 19: 7, 2006.
- 35) 江口勝美, 折口智樹. 膠原病のステロイド療法の原則. ステロイドの使い方 コツと落とし穴, 中山書店, p40-41, 2006.
- 36) 江口勝美, 折口智樹. 関節リウマチ. *内科* 97 (4): 603-607, 2006.
- 37) 江口勝美, 折口智樹. NSAIDsの中止理由. NSAIDsの使い方 コツと落とし穴, 中山書店, p156, 2006.
- 38) 江口勝美, 折口智樹. アナキンラ (IL-1Ra). *最新医学* 61 (5): 38-45, 2006.
- 39) 佐藤克也, 調 漸, 江口勝美. CJDの診断マーカー. *Clinical Neuroscience* 24 (3): 307-311, 2006.
- 40) 川崎英二, 福島慶子, 森内昭江, 古林正和, 福島徹也, 桑原宏永, 喜多篤志, 阿比留教生, 魚谷茂雄, 山崎浩則, 江口勝美. 少量インスリン投与により進展予防を試みたGAD抗体陽性インスリン非依存状態糖尿病の1例. *糖尿病* 49 (4): 291-294, 2006.
- 41) 江口勝美. TNFと病態「序」. *炎症と免疫* 14 (4): 39-40, 2006.
- 42) 江口勝美. 関節リウマチ治療のWindow of Opportunity. *治療学* 40 (7): 39-42, 2006.
- 43) 江口勝美, 折口智樹. 悪性関節リウマチ. *EXPERT 膠原病・リウマチ 改訂第2版*, p218-226, 2006.
- 44) 安藤隆雄, 江口勝美. 病因の新たな展開. *日本臨床* 64 (12): 2275-2278, 2006.
- 45) 上谷雅孝, 川上 純, 玉井慎美, 江口勝美, 神島 保, 佐川 昭. MRI, 超音波による関節リウマチの画像診断. *リウマチ科* 36 (3): 269-276, 2006.
- 46) 上谷雅孝, 高尾正一郎, 川上 純, 玉井慎美, 江口勝美. 関節リウマチのMRI診断. *分子リウマチ* 3 (2): 67-72, 2006.
- 47) 上谷雅孝, 高尾正一郎, 川上 純, 玉井慎美, 江口勝美. 関節リウマチの画像診断—MRIを中心に—. *カレントセラピー* 24 (5): 18-22, 2006.
- 48) 藤本真澄, 中尾一彦, 藤川敬太, 西村大介, 市川辰樹, 濱崎圭輔, 江口勝美. 肝細胞癌合併C型肝硬変に発症し急速に敗血症性ショックに進展したEdwardsiella tarda感染壊死性筋膜炎の1例. *肝臓* 47(5): 273-274, 2006.
- 49) 江口勝美, 有馬和彦, 折口智樹. リウマチ・膠原病疾患. *総合臨床* 55 (11): 2654-2661, 2006.
- 50) 厨 源平, 和泉泰衛, 佐藤 剛, 田中史子, 宮下賜一郎, 蒲池 誠, 井田弘明, 川上 純, 江口勝美, 林徳真吉. 急速な前脛骨動脈閉塞により左下腿切断に至った皮膚型結節性多発動脈炎の1例. *日本内科学会雑誌* 95 (4): 739-741, 2006.
- 51) 玉井慎美, 川上 純, 上谷雅孝, 江口勝美. 早期関節リウマチの診断と治療. *Medical Practice* 23 (4): 61-625, 2006.
- 52) 井田弘明, 江口勝美. TNFと遺伝性周期性発熱症候群. *炎症と免疫* 14 (4): 518-525, 2006.
- 53) 川上 純, 玉井慎美, 江口勝美. アダリムマブの治療成績. *リウマチ科* 35 (5): 456-458, 2006.
- 54) 上谷雅孝, 高尾正一郎, 川上 純, 玉井慎美, 江口勝美. 関節リウマチの画像診断—MRIを中心に—. *カレントセラピー* 24 (5): 416-420, 2006.
- 55) 和泉泰衛, 江口勝美. RAに対する白血球除去療法. *カレントセラピー* 24 (5): 482-484, 2006.
- 56) 上谷雅孝, 高尾正一郎, 川上 純, 玉井新美, 江口勝美. 関節リウマチのMRI診断. *分子リウマチ* 3 (2): 163-168, 2006.
- 57) 植木幸孝, 江口勝美. 白血球除去療法の現状と位置づけ. *九州リウマチ* 25 (2): 93-98, 2006.
- 58) 岩永 希, 川上 純, 田中史子, 玉井慎美, 和泉泰衛, 有馬和彦, 荒武弘一郎, 蒲池 誠, 中村英樹, 井田弘明, 江口勝美, 折口智樹, 浦山 哲, 河部庸次郎, 坪井雅彦, 松岡直樹, 古山雅子, 宮下賜一郎, 右田清志, 柴富和貴, 中島宗敏, 塚田敏昭, 植木

- 幸孝, 峰 雅宣, 福田孝昭. 関節リウマチに対するinfiximabの治療効果. 九州リウマチ 25 (2): 99-106, 2006.
- 59) 川尻真也, 植木幸孝, 高島宏行, 寺田 馨, 島田弘法, 江口勝美. 関節リウマチに対するエタネルセプトの治療効果. 九州リウマチ 25 (2): 107-114, 2006.
- 60) 福田俊平, 植木幸孝, 高島宏行, 寺田 馨, 島田弘法, 江口勝美. 関節リウマチに対するタクロリムスの治療効果. 九州リウマチ 25 (2): 115-119, 2006.
- 61) 塚田敏昭, 上谷雅孝, 井田弘明, 川上 純, 江口勝美. 強直性脊椎炎との鑑別を要したosteitis condensans illiの一例. 九州リウマチ 25 (2): 158-161, 2006.
- 62) 川尻真也, 植木幸孝, 高島宏行, 寺田 馨, 江口勝美. 関節リウマチに対するエタネルセプトの治療効果. 九州リウマチ 26 (1): 15-22, 2006.
- 63) 植木幸孝, 才川 聡, 斉田裕子, 城風淳一, 江口勝美. リウマチ性疾患と顆粒球・リンパ球除去療法 1)関節リウマチ. リウマチ科 35 (3): 250-257, 2006.
- 64) 藤川敬太, 末永章人, 本村政勝, 福田 卓, 大江宜春, 江口勝美. 髄膜腫摘出後に発症したMycobacterium fortuitum髄膜炎の1例. 臨床神経学 46 (7): 480-484, 2006.
- 65) 川上 純, 玉井慎美, 岩本直樹, 藤川敬太, 有馬和彦, 中村英樹, 江口勝美. HTLV-I感染と関節リウマチ. 分子リウマチ 3 (4): 317-320, 2006.
- 66) 川上 純, 玉井慎美, 藤川敬太, 岩本直樹, 有馬和彦, 江口勝美, 上谷雅孝, 高尾正一郎, 青柳 潔. 関節リウマチの早期診断と早期からの骨病進展予測の試み. 臨床リウマチ 18 (4): 352-357, 2006.
- 67) 佐藤克也, 調 漸, 江口勝美. プリオン病における神経障害のメカニズム. Brain Medical メディカルレビュー社 18 (4): 323-326, 2006.
- 68) 中村龍文, 福島直美, 西浦義博, 井田弘明, 山田恭暉, 江口勝美. インデグリン阻害によるHTLV-I感染T細胞株における解析. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)免疫性神経疾患に関する調査研究 平成17年度総括・分担研究報告書 119-121, 2006.
- 69) 本村政勝, 白石裕一, 江口勝美, 吉村俊郎, 辻畑光宏, Vincent A. 本邦の抗MuSK抗体陽性重症筋無力症70症例の臨床的検討. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)免疫性神経疾患に関する調査研究 平成17年度総括・分担研究報告書 129-130, 2006.
- ## 2. 学会発表
- 1) Kawakami A, Eguchi K, et al. Examination of early joint damage in early-stage rheumatoid arthritis: Results from prospective clinical study. The 15th International Rheumatology Symposium, 2006. 4. 23-26, Nagasaki.
- 2) Tamai M, Eguchi K, et al. Bone marrow oedema and serologic autoantibodies predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis of Japanese population. European league against rheumatism annual European congress of rheumatology, 2006. 6. 21-24, Amsterdam.
- 3) Arima K, Eguchi K, et al. The increased production of VEGF-A is primary disorder in patients with RS3PE syndrome. European league against rheumatism annual European congress of rheumatology, 2006. 6. 21-24, Amsterdam.
- 4) Arima K, Eguchi K, et al. Functional promoter polymorphism of MMP-9 is related with bone marrow edema of anti-CCP negative patients. European league against rheumatism annual European congress of rheumatology, 2006. 6. 21-24, Amsterdam.
- 5) Ida H, Eguchi K, et al. Successful treatment using tacrolimus (FK506) in a patient with TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) complicated by monocytic fasciitis. The 12th Asia pacific league of associations for rheumatology congress, 2006. 8. 1-5, Kuala Lumpur.
- 6) Aramaki T, Eguchi K, et al. Alteration of natural killer (NK) cell activity in patients with rheumatoid arthritis treated by biologic agents. The 12th Asia pacific league of associations for rheumatology congress, 2006. 8. 1-5, Kuala Lumpur.
- 7) Kamachi M, Eguchi K, et al. Genomic plasticity of caspase-8 through mRNA splicing: A Pathophysiological role in activation of normal T cells and sle T cells. American college of rheumatology annual meeting, 2006. 11. 12-14, Washington, DC.
- 8) Tamai M, Eguchi K, et al. Bone marrow edema and autoantibodies are the predictor of progression to rheumatoid arthritis in patients

- with undifferentiated arthritis of Japanese population. American college of rheumatology annual meeting, 2006. 11. 12-14, Washington, DC.
- 9) Fujikawa K, Eguchi K, et al. Association of serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) level and bone damages in magnetic resonance imaging (MRI) of the wrists and finger joints in early-stage rheumatoid arthritis. American college of rheumatology annual meeting, 2006. 11. 12-14, Washington, DC.
 - 10) 玉井慎美, 川上 純, 上谷雅孝, 有馬和彦, 藤川敬太, 井田弘明, 青柳 潔, 江口勝美. 関節リウマチの早期診断と予後予測の試み. 第103回日本内科学会講演会, 2006年4月14日~16日, 横浜.
 - 11) 蒲池 誠, 江口勝美他. RNA スプライシングによる遺伝子の可塑性: SLE における SR 蛋白質翻訳後修飾の役割. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 12) 和田英雄, 江口勝美他. 多臓器障害を呈した IgG4-related autoimmune disease の一例. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 13) 荒牧俊幸, 江口勝美他. 関節リウマチ(RA)に対する生物学的製剤による悪性腫瘍発生リスクの検討: ナチュラル・キラー(NK)細胞への影響. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 14) 藤川敬太, 江口勝美他. CaMKII 阻害による滑膜線維芽細胞アポトーシス感受性の増強. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 15) 川上 純, 江口勝美他. アダリムマブ. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 16) 蒲池 誠, 江口勝美他. Caspase-8 の RNA スプライシングとシグナル伝達経路のクロストーク: SLE での病態的意義の検討. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 17) 岩永 希, 江口勝美他. 関節リウマチに対する infliximab の治療効果: 54週での検討. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 18) 黄 明国, 江口勝美他. グランザイム B による SS-B (La) 蛋白の細胞内局在変化の検討. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 19) 中村英樹, 江口勝美他. シェーグレン症候群における epidermal growth factor (EGF) による PI3K-Akt 経路の活性化と NF- κ B translocation との関係について. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 20) 副島和孝, 江口勝美他. シェーグレン症候群小唾液腺浸潤 T 細胞における MKK4 (SEK1)、JNK and c-Jun の活性化について. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 21) 藤川敬太, 江口勝美他. 難治性ウェジナー肉芽腫症に Infliximab が奏功した一例. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 22) 玉井慎美, 江口勝美他. 関節リウマチの早期診断と予後予測. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 23) 井田弘明, 江口勝美他. TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) 患者への FK506 投与の検討. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 24) 和泉泰衛, 江口勝美他. 九州リウマチ LCAP 研究会症例集積結果報告. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 25) 有馬和彦, 江口勝美他. 関節リウマチにおける骨髄浮腫と遺伝子多型の検討. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 26) 玉井慎美, 江口勝美他. オーバーラップ症候群に Macrophagic myofasciitis を合併した1症例. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23日~26日, 長崎.
 - 27) 中村英樹, 江口勝美他. 石灰化を伴った小児皮膚筋炎に対して probenecid が有効であった一例. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006年4月23

- 日～26日,長崎.
- 28) 江口勝美. 早期関節リウマチの診断と関節破壊の予知. 第50回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会,2006年4月23日～26日,長崎.
- 29) 徳田昌紘, 江口勝美他. 激しい背部の靭帯付着部炎を来した血清反応陰性脊椎関節症の1例. 第273回日本内科学会九州地方会,2006年5月20日,熊本.
- 30) 江口勝美. TNF 阻害薬における現状と展望. 第71回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会,2006年7月7日～8日,兵庫.
- 31) 蒲池 誠, 江口勝美他. RNA レベルでの遺伝子の可塑性:SR 蛋白質のリン酸化状態変化を介した caspase-8 の RNA スプライシング変化とヒトリンパ球の活性化、増殖での役割の検討. 第27回日本炎症・再生医学会,2006年7月11日～12日,東京.
- 32) 荒牧俊幸, 江口勝美他. 多施設における関節リウマチに対するタクロリムスの使用成績. 第32回九州リウマチ学会,2006年9月9日～10日,熊本.
- 33) 藤川敬太, 江口勝美他. 難治性神経ペーチェット病に infliximab が奏功した1例(第2報). 第32回九州リウマチ学会,2006年9月9日～10日,熊本.
- 34) 玉井慎美, 江口勝美他. 高安動脈炎に対して抗 TNF- α 抗体 (infliximab) が著効した3症例. 第32回九州リウマチ学会,2006年9月9日～10日,熊本.
- 35) 塚田敏昭, 江口勝美他. 筋膜炎を伴った MCTD の一例. 第32回九州リウマチ学会,2006年9月9日～10日,熊本.
- 36) 川尻真也, 江口勝美他. 関節リウマチに対するエタネルセプトの治療効果(第3報). 第32回九州リウマチ学会,2006年9月9日～10日,熊本.
- 37) 吉崎 歩, 江口勝美他. 無顆粒球症を来し、血球貪食症候群を合併した成人発症 Still 病に集学的治療が有効であった一例. 第32回九州リウマチ学会,2006年9月9日～10日,熊本.
- 38) 有馬和彦, 江口勝美他. 関節リウマチにおける骨髄浮腫と MMP-9 高発現機能的遺伝子多型の検討. 第34回日本臨床免疫学会総会,2006年10月2日～3日,東京.
- 39) 玉井慎美, 江口勝美他. 診断未確定関節炎から関節リウマチへの進展予測. 第34回日本臨床免疫学会総会,2006年10月2日～3日,東京.
- 40) 井田弘明, 江口勝美他. Monocytic fasciitis の臨床的検討. 第34回日本臨床免疫学会総会,2006年10月2日～3日,東京.
- 41) 藤川敬太, 江口勝美他. シクロフォスファミド大量静注療法を含めた集学的治療により間質性肺炎の改善を認めた Amyopathic dermatomyositis (ADM) の一例. 第34回日本臨床免疫学会総会,2006年10月2日～3日,東京.
- 42) 江口勝美. 早期 RA のとらえ方と画像診断. 第21回日本臨床リウマチ学会,2006年11月21日～22日,東京.
- 43) 塚田敏昭, 江口勝美他. MTX 効果不十分な RA 症例における Mizoribine 1日1回追加併用投与の検討. 第21回日本臨床リウマチ学会,2006年11月21日～22日,東京.
- 44) 岩本直樹, 江口勝美他. 関節リウマチと MMP-13 機能的遺伝子多型の検討. 第21回日本臨床リウマチ学会,2006年11月21日～22日,東京.
- 45) 有馬和彦, 江口勝美他. 関節リウマチの骨髄浮腫とマトリックスメタロプロテアーゼ群機能的遺伝子多型の検討. 第21回日本臨床リウマチ学会,2006年11月21日～22日,東京.
- 46) 藤川敬太, 江口勝美他. Genomic plasticity of caspase-8 through mRNA splicing: a new insight into activation of normal T cells and SLE T cells. 第36回日本免疫学会総会・学術集会,2006年12月11日～13日,大阪.
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

図1. 早期診断基準案の妥当性の検証

血清マーカーとMRIを用いた
診断未確定関節炎(UA)の経過観察

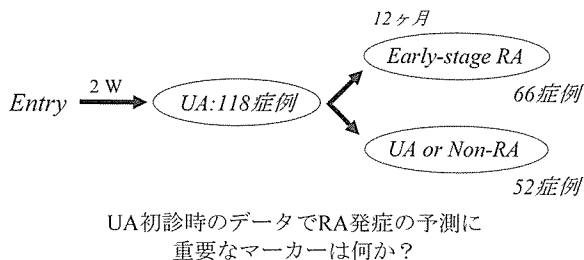


表1. 診断未確定関節炎(UA)から関節リウマチ(RA)への進展が予測される初診時検査所見

初診時検査所見	感度 (%)	特異度 (%)	p 値
血清学的検査 抗 CCP 抗体	57.6	92.3	≤ 0.00001
IgM-RF	51.5	75.0	0.0035
MMP-3	34.8	84.9	0.017
MRI 画像所見 骨髄浮腫	42.4	92.3	0.000014
対称性滑膜炎	75.8	61.5	0.000042
骨浸食	33.3	90.4	0.0018

表2. 抗CCP抗体と骨髄浮腫を用いたUAからRAへの進展予測

初診時検査所見	UA→RA 66例	UA→UA/非RA 52例
抗 CCP 抗体 骨髄浮腫		
(+) (+)	20例 (100%)	0例 (0%)
(+) (-)	8例 (66.7%)	4例 (33.3%)
(-) (+)	18例 (81.8%)	4例 (18.2%)
(-) (-)	20例 (31.2%)	44例 (68.8%)

抗 CCP 抗体あるいは骨髄浮腫があれば、1年後は高率に RA に進展する。
ともに陽性であれば、1年後は全例 RA に進展した。

表3. IgM-RFと骨髄浮腫を用いたUAからRAへの進展予測

初診時検査所見	UA→RA 66例	UA→UA/非RA 52例
IgM-RF 骨髄浮腫		
(+) (+)	15例 (100%)	0例 (0.0%)
(+) (-)	19例 (59.4%)	13例 (40.6%)
(-) (+)	13例 (76.5%)	4例 (23.5%)
(-) (-)	19例 (35.2%)	35例 (64.8%)

IgM-RFあるいは骨髄浮腫があれば、1年後は高率にRAに進展した。
ともに陽性の場合、1年後には全例RAに進展した。

図2. 関節炎発症早期の関節破壊進行の予測

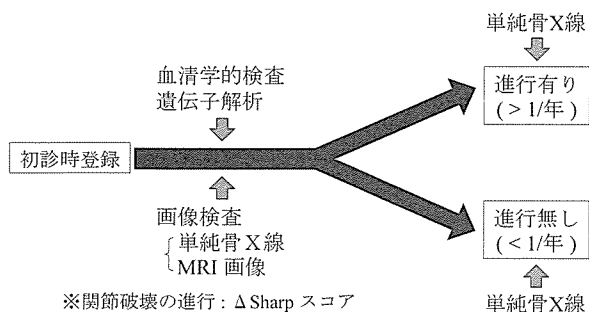


表4. 抗CCP抗体と骨髄浮腫を用いた関節破壊進行の予測

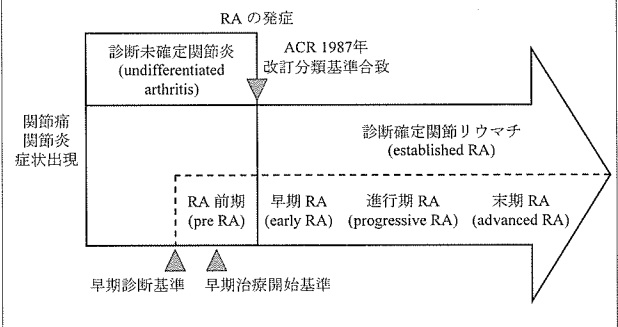
初診時検査所見	進行あり (>1/年)	進行なし (<1/年)
抗 CCP 抗体 骨髄浮腫		
(+) (+)	59.4 %	40.6 %
(+) (-)	20.0 %	80.0 %
(-) (+)	28.6 %	71.4 %
(-) (-)	0.0 %	100.0 %

抗 CCP 抗体と骨髄浮腫があれば、関節破壊を来しやすいRAを抽出できる。

表5. 早期関節炎の遺伝的背景の検討

- HLAタイピングの結果より、早期RAで最も高頻度に検出されるSEは*0405アリルであった。
- 早期RAでPADI4高発現遺伝子多型ディプロタイプは抗CCP抗体陽性症例に高く検出された。
- MMP-1およびMMP-9遺伝子発現調節部位多型の偏りと骨髄浮腫には相関が認められた。

図3. 関節リウマチの早期診断と早期治療開始基準



日本人集団における関節リウマチ発症および臨床経過関連遺伝子の検討

分担研究者：土屋尚之

筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻 教授

研究要旨

IL-10プロモーター領域 -1082, -819, -592の3個所のSNPによって構成されるハプロタイプと日本人関節リウマチ(RA)の疾患感受性との有意な関連は検出されなかったが、Steinbrocker stage III-IV 群および手術歴を持つ患者群において、ACC/ACC ディプロタイプ頻度の増加が検出され、臨床経過と関連する可能性が考えられた。また、RA と HLA-DR との関連を抗 CCP 抗体陽性群、陰性群別に検討したところ、ヨーロッパ系集団同様、HLA-DR shared epitope との関連は抗 CCP 抗体陽性群においてのみ認められた。興味深いことに、日本人集団において、抗 CCP 抗体陰性 RA では、アジア集団においては頻度が高いものの、ヨーロッパ系集団にはほとんど存在しない、*HLA-DRB1*0901* との有意な関連が認められた。

A. 研究目的

日本人集団における関節リウマチ(RA)の発症や臨床経過と関連する因子を見出す目的で、本年度は、IL-10 プロモーター多型と RA の発症、重症度との関連を検討した。IL-10 プロモーター多型は、種々の疾患との関連の解析が行われており、RA に対しても、ヨーロッパ系集団では、発症、臨床経過や TNF 阻害療法に対する反応性との関連の報告があるが、日本では十分検討されていない。

また、近年、ヨーロッパ系集団において、HLA-DRB1 shared epitope と RA の関連は、主として抗 CCP 抗体陽性 RA 群において観察され、抗 CCP 抗体陰性 RA では、日本人集団にはきわめてまれである HLA-DR3 との関連が報告されている。本研究では、日本人における CCP 抗体と HLA との関連を、東京女子医大古谷らとの共同研究により検討した。

B. 研究方法

(1) 東京都赤十字血液センター・湧永製薬が共同開発した Luminex システムを用いた新規タイピング法により、日本人 RA 543 例、健常者 686 例の IL-10 遺伝子プロモーター多型 (-1082A>G, -819T>C, -592A>C) の遺伝子型を決定し、発症、Steinbrocker 分類、関節手術歴との関連を症例対照研究により検討した。(2) 東京女子医大における前向き研究に参加した発症 1 年以内の早期 RA 110 例において、抗 CCP 抗体を ELISA(DIASTAT[®] anti-CCP)にて測定し、*HLA-DRB1* 遺伝子型との関連を検討

した。

(倫理面への配慮)

本研究は、東京大学、東京女子医大をはじめとする、研究参加施設の倫理審査委員会の承認を得た研究計画に則り、研究協力者のインフォームド・コンセントのもとに。匿名化された試料を用いて施行された。

C. 研究結果

(1) IL-10 プロモーター 3 箇所の多型部位により、3 種類のハプロタイプ GCC, ACC, ATA が形成され、健常者における頻度はそれぞれ 5.4%, 26.9%, 67.7%であった。RA 発症との有意な関連は認められなかったが、Steinbrocker stage III または IV と診断された患者群において、stage I または II の患者群及び健常対照群と比較して、ACC/ACC ディプロタイプ頻度の上昇が認められた(stage I - II RA 4.6%, stage III-IV RA 12.0%, 健常群 7.6%, $P=0.023$ (stage I - II vs stage III-IV), $P=0.038$ (stage III-IV vs 健常群)) (表 1)。また、関節手術歴を有する症例における ACC/ACC ディプロタイプ頻度は 15.5%で、健常対照群と比較して有意に上昇していた($P=0.0051$) (表 2)。

(2) 早期 RA コホート 110 例中 82 例(74.5%)に抗 CCP 抗体が陽性であった。*HLA-DRB1*0405* 陽性率は抗 CCP 抗体陽性群では 52.4%と増加していた($P=1.8 \times 10^{-6}$ vs 健常対照群, $P=0.012$ vs 抗 CCP 抗体陰性群)ものの、抗 CCP 陰性群では 25.0%であり、健常対照群の 24.5%

との間に有意差が認められなかった。同様に、*HLA-DRB1* shared epitope 陽性率は、抗 CCP 抗体陽性群 70.7% ($P = 1.6 \times 10^{-7}$ vs 健常対照群, $P = 0.008$ vs 抗 CCP 抗体陰性群) に対し、抗 CCP 抗体陰性群では 42.9%と、健常対照群 37.7%と有意差を認めなかった (表 3)。

一方、抗 CCP 抗体陰性群では、*DRB1*0901* 陽性率が 46.4%であり、抗 CCP 抗体陽性群における 22.0%と比較して有意に増加し ($P = 0.013$)、健常対照群における 29.1%と比較しても、有意差には到達しないものの ($P=0.058$)、増加傾向が認められた (表 3)。*DRB1*0901* アリル頻度の比較では、抗 CCP 抗体陰性群 (26.8%)において、抗 CCP 抗体陽性群 (11.0%)、オッズ比 (OR) 3.0, $P=0.0042$)、健常対照群 (14.5%, OR 2.2, $P=0.016$)と比べて、有意な増加が観察された。

D. 考察

IL-10 プロモーターハプロタイプと RA との関連がヨーロッパ系集団において報告されているが、日本人においても臨床経過との関連が示唆され、今後、前向き研究において検証する必要があると考えられた。また、IL-10 プロモーターハプロタイプと IL-10 産生量との関連は確立しておらず、今後、ACC ハプロタイプの機能を明らかにすることにより、治療に結びつける必要がある。

近年、ヨーロッパ系集団において、*HLA-DRB1* shared epitope と RA との関連は、抗 CCP 抗体陽性 RA においてのみ検出されるとの報告が見られるが、日本人においても同様の結果が観察された。一方、*HLA-DRB1*0901* と RA との関連が抗 CCP 抗体陰性群においてのみ検出されたことは、今回新規に得られた知見である。*HLA-DRB1*0901* はアジア集団には高頻度であるがヨーロッパ系集団には稀な対立遺伝子である。一方、ヨーロッパ系集団に多く、アジア系集団にはほとんど存在しない *HLA-DRB1*0301* は、ヨーロッパ系集団において抗 CCP 抗体陰性 RA と関連する。今回の知見は、日本人集団において、抗 CCP 抗体陰性の関節炎症例が、将来 RA に進展するか否かを推測する上で、*HLA-DRB1*0901* が有用なマーカーとなる可能性を示唆し、日本人を含むアジア集団の RA のゲノム医療を考える上で、有用な知見を提供すると思われる。

E. 結論

IL-10 プロモーター多型と RA の重症度との関連が示唆された。また、日本人集団において、抗 CCP 抗体陽性 RA は *HLA-DRB1* shared epitope と、抗 CCP 抗体陰性 RA は *HLA-DRB1*0901* と関連することが示された。

研究協力者：古谷武文、小竹茂、鎌谷直之 (東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター)、箱田雅之 (安田女子大学)、江原幸和、徳永勝士 (東大人類遺伝)、松下正毅、宮城徹、岡孝紀 (湧永製薬)、柏瀬貢一、佐竹正博 (東京都赤十字血液センター)、松多邦雄 (松多内科医院)

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) Tsuchiya N, Kobayashi S, Hashimoto H, Ozaki S, Tokunaga K. Association of *HLA-DRB1*0901-DQB1*0303* haplotype with microscopic polyangiitis in Japanese. *Genes Immun* 7: 81-84, 2006.
- 2) Miyashita R, Tsuchiya N, Yabe T, Kobayashi S, Hashimoto H, Ozaki S, Tokunaga K. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor (*KIR*) genotypes with microscopic polyangiitis. *Arthritis Rheum* 54: 992-997, 2006.
- 3) Okaji Y, Tsuno NH, Kitayama J, Sakurai D, Tsuchiya N, Saito S, Takegami K, Tsuchiya T, Kawai K, Yazawa K, Asakage M, Yoneyama S, Yamada J, Tokunaga K, Takahashi K, Nagawa H. Effects of Id (inhibitor of DNA binding / differentiation) gene down-regulation in human colorectal cancer cells on early steps of haematogenous metastasis. *Eur J Cancer* 42: 668-673, 2006.
- 4) Tsuchiya N, Honda Z, Tokunaga K. Role of B cell inhibitory receptor polymorphisms for systemic lupus erythematosus: a negative times a negative makes a positive. *J Hum Genet* 51: 741-750, 2006.
- 5) Furuya T, Hakoda M, Ichikawa N, Higami K, Nanke Y, Yago T, Kobashigawa T, Tokunaga K, Tsuchiya N, Kamatani N, Kotake S. Differential association of *HLA-DRB1* alleles in Japanese patients with early rheumatoid arthritis in relationship to autoantibodies to cyclic citrullinated peptide. *Clin Exp Rheumatol*, in press.
- 6) Hitomi Y, Tsuchiya N, Hasegawa M, Fujimoto M, Takehara K, Tokunaga K, Sato S.

Association of human *CD22* gene polymorphism with susceptibility to limited cutaneous systemic sclerosis. *Tissue Antigens*, in press.

- 7) Kawasaki A, Tsuchiya N, Ohashi J, Murakami Y, Fukazawa T, Kusaoi M, Matsuta K, Hashimoto H, Tokunaga K. Role of *APRIL* (*TNFSF13*) polymorphisms in the susceptibility to systemic lupus erythematosus in Japanese. *Rheumatology*, in press.
- 8) Tsuchiya N, Kyogoku C, Miyashita R, Kuroki K. Diversity of human immune system multigene families and its implication in the genetic background of rheumatic diseases. *Curr Med Chem*, in press.
- 9) 土屋尚之. TOPICS: TNF 阻害薬抵抗性の関節リウマチに対する abatacept (CTLA4-Ig) の有効性. *内科* 97: 735-737, 2006.
- 10) 土屋尚之. 関節リウマチ重症度と関連する免疫系機能遺伝子多型. *リウマチ科* 36:294-298, 2006.
- 11) 土屋尚之, 宮下リサ. 顕微鏡的多発血管炎の疾患感受性と KIR-HLA 遺伝子相互作用. *リウマチ科* 36:514-521, 2006.
- 12) 土屋尚之. 全身性エリテマトーデスのゲノム医科学. 「臨床ゲノム科学入門」(永井良三監修, 徳永勝士, 大木秀一, 田中紀子編), 杏林図書, pp 192-205, 2007.
- 13) 土屋尚之. 全身性エリテマトーデス-疾患感受性遺伝子探索の最近の進歩-. *リウマチ科*, 印刷中.
- 5) 川崎綾, 古川宏, 土屋尚之, 草生真規雄, 深沢徹, 松多邦雄, 橋本博史, 小野栄夫, 徳永勝士. SH2D1A (SLAM-associated Protein) 遺伝子多型と若年発症全身性エリテマトーデスの関連. 第 50 回日本リウマチ学会, 2006 年 4 月 23 日~26 日, 長崎.
- 6) 古谷武文, 市川奈緒美, 箱田雅之, 樋上謙士, 南家由紀, 八子徹, 小橋川剛, 土屋尚之, 徳永勝士, 鎌谷直之, 小竹茂. 早期 RA 患者における骨破壊の進行と HLA-DRB1 遺伝子型および抗 CCP 抗体との関連. 第 50 回日本リウマチ学会, 2006 年 4 月 23 日~26 日, 長崎.
- 7) 土屋尚之. ヒト免疫系多重遺伝子ファミリーにおける copy number polymorphism と疾患感受性. 日本進化学会 2006 年大会シンポジウム「多重遺伝子ファミリーの進化: 遺伝子の生成と消滅のダイナミズム」. 2006 年 8 月 29 日~31 日, 東京.
- 8) 江原幸和, 松下正毅, 土屋尚之, 柏瀬貢一, 宮城徹, 松多邦雄, 草生真規雄, 深沢徹, 橋本博史, 高崎芳成, 佐竹正博, 岡孝紀, 徳永勝士. 蛍光ビーズ法を用いた新規タイプピングシステムによる *IL-10* 遺伝子プロモーター多型とリウマチ性疾患との関連の検討. 日本組織適合性学会, 2006 年 9 月 24~26 日, 東京.
- 9) 土屋尚之. 遺伝子解析に基づくリウマチ・膠原病の病因・病態解析. 日本人類遺伝学会シンポジウム, 2006 年 10 月 17~20 日, 米子.
- 10) 江原幸和, 松下正毅, 土屋尚之, 柏瀬貢一, 宮城徹, 松多邦雄, 草生真規雄, 深沢徹, 橋本博史, 高崎芳成, 佐竹正博, 岡孝紀, 徳永勝士. 蛍光ビーズ法を用いた新規タイプピングシステムによる *IL-10* 遺伝子プロモーター多型とリウマチ性疾患との関連の検討. 日本人類遺伝学会, 2006 年 10 月 17~20 日, 米子.

2. 学会発表

- 1) 土屋尚之. リウマチ性疾患の遺伝素因. 第 42 回宮城リウマチ外科研究会特別講演, 2006 年 2 月 18 日, 仙台.
- 2) 土屋尚之. 遺伝子多型解析に基づく全身性エリテマトーデス発症分子機序の検討 (シンポジウム). 第 50 回日本リウマチ学会, 2006 年 4 月 23 日~26 日, 長崎.
- 3) 宮下リサ, 土屋尚之, 小林茂人, 橋本博史, 尾崎承一, 徳永勝士. 顕微鏡的多発血管炎(MPA)の疾患感受性における KIR (killer cell Ig-like receptor)-HLA 遺伝子間相互作用の検討. 第 50 回日本リウマチ学会, 2006 年 4 月 23 日~26 日, 長崎.
- 4) 人見祐基, 土屋尚之, 長谷川稔, 藤本学, 竹原和彦, 佐藤伸一, 徳永勝士. ヒト *CD22* 遺伝子多型と全身性強皮症との関連. 第 50 回日本リウマチ学会, 2006 年 4 月 23 日~26 日, 長崎.
- 5) Furuya T, Hakoda M, Ichikawa N, Higami K, Nanke Y, Yago T, Kobashigawa T, Inoue E, Tsuchiya N, Tokunaga K, Kamatani K, Kotake S. Differential association of HLA-DRB1 alleles in Japanese patients with early rheumatoid arthritis in relationship to autoantibodies to cyclic citrullinated peptide. American College of Rheumatology 2006 Annual Scientific Meeting.
- 12) Kawasaki A, Tsuchiya N, Kyogoku C,

Hashimoto H, Takasaki Y, Behrens TW, Tokunaga K. Association of interferon regulatory factor 5 (IRF) SNPs with systemic lupus erythematosus in Japanese. 2006 年日本免疫学会総会, 2006 年 12 月 11~13 日, 大阪.

- 13) 江原幸和, 土屋尚之, 松多邦雄, 橋本博史, 高崎芳成, 徳永勝士. 蛍光ビーズ法を用いた新規タイピングシステムによる *IL-10* 遺伝子プロモーター多型とリウマチ性疾患との関連の検討. 2006 年日本免疫学会

総会, 2006 年 12 月 11~13 日, 大阪.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表 1. *IL-10* プロモーター -1082, -819, -592 ハプロタイプと Steinbrocker 病期分類との関連

	RA (Steinbrocker stage)				control	
	stage I-II (n=131)		stage III-IV (n=346)			
GCC/GCC	1	(0.8)	1	(0.3)	2	(0.3)
GCC/ACC	1	(0.8)	7	(2.0)	15	(2.2)
GCC/ATA	11	(8.4)	24	(6.9)	55	(8.0)
ACC/ACC*	6	(4.6)	40	(12.0)	52	(7.6)
ACC/ATA	57	(44.0)	113	(33.0)	250	(36.4)
ATA/ATA	55	(42.0)	161	(47.0)	312	(45.5)

* ACC/ACC が stage III-IV において増加(stage I-II との比較で $P=0.023$, 健常対照群との比較で $P=0.038$)

表 2. *IL-10* プロモーターハプロタイプと手術歴との関連

	RA				control	
	手術歴なし(n=204)		手術歴あり(n=116)			
GCC/GCC	2	(1.0)	0	(0)	2	(0.3)
GCC/ACC	5	(2.5)	1	(0.9)	15	(2.2)
GCC/ATA	16	(7.8)	8	(6.9)	55	(8.0)
ACC/ACC*	18	(8.8)	18	(15.5)	52	(7.6)
ACC/ATA	70	(34.3)	45	(38.8)	250	(36.4)
ATA/ATA	93	(45.6)	44	(37.9)	312	(45.5)

*手術歴あり群で ACC/ACC が増加 (健常対照群との比較で、 $P=0.011$)

表 3. 抗 CCP 抗体陽性および陰性 RA における *HLA-DRB1* 陽性率

<i>DRB1</i>	抗 CCP 抗体陽性 RA (n=82)		抗 CCP 抗体陰性 RA (n=28)		健常対照群 (n=265)	
0405	43	(52.4%) ¹	7	(25.0%)	65	(24.5%)
shared epitope	58	(70.7%) ²	12	(42.9%)	100	(37.7%)
0901	18	(22.0%)	13	(46.4%) ³	77	(29.1%)

¹ 健常対照群との比較: オッズ比(OR) 3.4 (95% 信頼区間[95% CI] 2.0 - 5.7), $P = 1.8 \times 10^{-6}$

抗 CCP 抗体陰性 RA との比較: OR 3.3 (95% CI 1.3 - 8.6), $P = 0.012$

² 健常対照群との比較: OR 4.0 (95% CI 2.3 - 6.8), $P = 1.6 \times 10^{-7}$

抗 CCP 抗体陰性 RA との比較: OR 3.2 (95% CI 1.3 - 7.8), $P = 0.0081$

³ 抗 CCP 抗体陽性 RA との比較: OR 3.1 (95% CI 1.2 - 7.6), $P = 0.013$

健常対照群との比較: OR 2.1 (95% CI 0.97-4.59), $P=0.058$

CIITA トランスジェニックマウスによる実験的関節リウマチ発症モデルを用いた、
サラゾスルファピリジンによる炎症性関節炎の治療法の検討結果

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

共同研究者：金澤 智

名古屋市立大学大学院医学研究科細胞分子生物学 助手

研究要旨

関節リウマチ(RA)のメカニズムを解明するために新たに我々が作成した class II transactivator (CIITA) トランスジェニックマウス (DICC マウス; DBA/1, CII promoter/enhancer-driven CIITA) に対してコラーゲン誘発関節炎(collagen induced arthritis:CIA)を発症させた関節炎動物モデルが抗リウマチ薬の治療評価モデルとして有用か否かを実験的に検証した。NF- κ B 阻害活性を持ち抗リウマチ薬として使用されているサラゾスルファピリジン(SASP)を DICC マウスに投与し、CIA による関節炎症状に対する治療効果を調べた。その結果、SASP は RA 様の病態進行を抑えることが明らかとなった。この結果より、DICC は抗リウマチ薬の検定に有用であることが示された。また、DICC マウスに見られる RA 様の関節炎に NF- κ B 活性化経路が強く関与する事が改めて明らかになった。

A. 研究目的

関節リウマチ(RA)は免疫異常を背景に関節を病変の首座とする慢性かつ持続性の全身性の炎症性疾患である。RA のメカニズムを解明するため、CIA 等様々な関節炎の動物モデルが作られた。これらの動物モデルのなかで CIA は急性炎症を引き起こし、軽度な骨粗鬆症、骨破壊を引き起こす。これまで、CIA による RA に関する報告は膨大な数にのぼるが、多くの問題を持つ。CIA では、コラーゲン接種後の関節炎発症率が 60%程度と低く、臨床経過も RA とは異なり、急速進行性の関節炎を引き起こす。さらに関節炎の発症と同時に骨破壊、関節部における骨過形成などを引き起こす一方骨粗鬆症の程度は軽度である。この様に RA モデルとして必ずしも適切であるとは言えない。そこで、これらの点が改善された RA モデル、DICC マウスを新たに作製した。この DICC マウスは、平成 16、17 年度における報告の様に RA 疾患で観察される種々の特徴を示した。そこで実際に DICC マウスが、抗リウマチ薬の治療評価モデルとして利用できるのか否かを検討した。

近年、RA の治療法は大きく変化し、当初の非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)の使用を中心とした治療から、効果が比較的緩やかな疾患修飾性抗リウマチ薬(DMARDs)を早期にお

いて投与するという治療法へと変化した。SASP は、もともと潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患(IBD)の特効薬として用いられていた薬剤である。しかし、特に RA の骨破壊を阻止する作用があることから急速に RA 治療薬として用いられるようになり、リウマチ炎症に対しても有効であることが明らかとなり、現在では DMARDs の中でも代表的な薬剤の一つとして使用されるようになった。また、我々のこれまでの研究より、RA の病態形成に NF- κ B シグナルが重要な役割を演じていることが明らかになっている。そこで、抗 NF- κ B 活性を持ち抗リウマチ薬として使用されている SASP を DICC マウスに投与し、関節炎症状を調べた。

B. 研究方法

DICC マウスにおける CIA 誘導 : DICC マウスは DBA マウス (H-2^d バックグランド) に 15 世代以上バッククロスさせた。本研究では全ての実験においてヘテロマウスを使用した。CIA の誘導は、常法の Col2 濃度の 1/20 (10 μ g) を用いマウス尾根部、および四肢リンパ節近傍に接種した。Col2 誘導により誘発される CIA の炎症性細胞浸潤、パンヌス形成、関節局所における関節破壊等の解析は CIA の評価方法による肉眼的所見および HE

組織染色等により解析した。

CIA の評価方法: 関節炎の重症度の評価は、一肢ずつ次の4段階で点数化した。0=所見なし; 1=1 関節または2関節の軽度の発赤、腫脹; 2=3 関節以上の中等度の発赤、腫脹; 3=一肢全体の重度の発赤、腫脹と機能障害。四肢の合計点数を最大12点(3点x4肢)としスコアとした。関節炎の発症日は、初回免疫からの日数で表し、スコアが3点以上となった時点で発症したものと判定した。

DICCマウスへのSASP投与: Col2抗原接種後生じるRA様の症状が、抗リウマチ薬、SASPにより症状の改善を図れるのか否かについて検討した。Col2の2次免疫直後より、経口投与20mg/kg(低容量群)とその倍量にあたる40mg/kg(高容量群)を開始し、その後12週間に渡り投与を続けた。SASPは原末を乳鉢でパウダー状になるまで充分すりつぶし、1%メチルセルロース溶液に必要量をそれぞれのマウスに接種した。

(倫理面への配慮)

DICCマウスの取り扱いに関しては、大学実験動物施設、動物取り扱いの指針を遵守し、実施した。

C. 研究結果

DICCマウスにおける関節炎は、通常のCIAに比べて徐々に進行する。その炎症過程は慢性かつ進行性で最終的には関節破壊を起こす。この経過は関節での激しい急性炎症に関節破壊が合併する通常の高Col2濃度でのCIAとは著しく異なっている。

関節炎発症時期は、従来法では追加免疫後約1週であるのに比べ、DICCマウスを用いた場合low dose(従来法の1/20量)では3-6週と遅く、症状の進行も徐々に起こる。またスコア2以上の関節炎の持続はCIAでは約6週間でほぼ完全に消退するのに対し、DICCマウスでは13週以上に持続する。この様にDICCマウスを用いた低濃度Col2によるCIA誘導では、関節炎の進行がRA並に緩やかで、その症状の持続時間が2倍ほど長くより慢性の経過をとることが特徴となる。

そこで抗リウマチ薬の治療評価モデルとして利用できるのか否かを検討した。本研究において使用したSASPは、RAの骨破壊を阻止する作用があることから急速にRA治療薬として用いられるようになり、現在はDMARDs

の中でも代表的な薬剤の一つとして使用されている。興味深いことに、SASPは、RAの病態の中核を担う複数の炎症応答関連遺伝子の共通の転写因子であるNF- κ Bに対する抑制作用のあることが報告されている。SASPの投与開始はCol2の追加接種の直後より開始し、マウス用経口ゾンデを用いて12週間に渡り投与を続けた。その結果マウスの関節炎発症率は、対照群; 83%(6匹中5匹)、SASP高用量群; 0%(6匹中0匹)、SASP低用量群; 50%(6匹中3匹)であった(図1)。SASP高用量群では、著明に関節炎の発症が抑制された(カイ2乗検定、 $p < 0.001$)。なお、SASP低用量群においても、対照群と比較すると、関節炎の発症が抑制される傾向にあった(カイ2乗検定、 $p < 0.250$)。

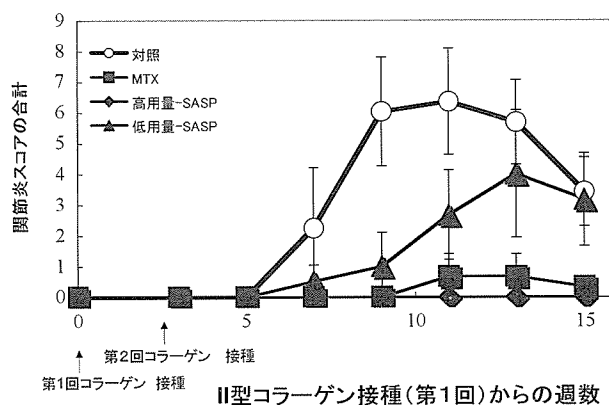


図1 関節炎スコアの経時的変化

初回免疫後12週目の時点での対照群、SASP処理群の各関節組織のHE染色を行ない、組織学的な関節炎の評価を行った(図2)。SASP高用量投与群のマウスでは、正常マウスと同様、明らかな炎症細胞浸潤は認められず、軟骨細胞表面も保たれている(図2a, b, c; cはbにおける関節部強拡大)。しかしながら、滑膜部分に着目すると、SASP高用量群においても、軽度の滑膜細胞肥厚が認められた(図2d)。

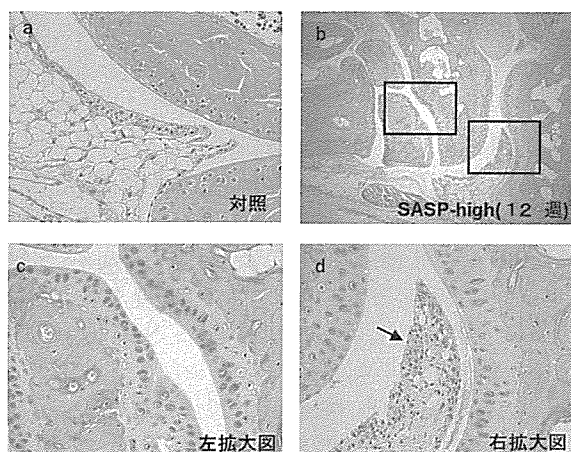


図2 DICC マウスにおけるコラーゲン誘発関節炎の病理組織像

D. 考察

DICC マウスは、関節を主座とする慢性炎症から関節破壊に至る長期間に渡る RA に酷似した病変を臨床的および病理組織学的にも呈した。さらに、免疫学的異常も見られることから、RA における免疫制御系の破綻の分子機構を解析するための適切なモデル動物であることが明らかとなった。従来の CIA とは病態推移のみならず病理組織像および抗 CCP 抗体の出現など多くの点で異なっていた。

現在抗リウマチ薬として使用されている SASP を実際に投与すると関節炎の病態進行が大きく改善された。病理学的な解析から、炎症細胞浸潤や関節軟骨部における破壊が見られないことが明らかとなった。一方滑膜部においては、若干の肥厚が残る事も明らかとなった。この様に DICC マウスを用いることで、抗リウマチ薬の具体的な効果を評価するモデル動物として利用できることが示唆された。

今後は、抗 Col2 抗体や抗 CCP 抗体の出現と関節局所の免疫担当細胞の動態および組織病理学的変化を解析することにより、リウマトイド炎症における免疫学的発症機構の解明が可能となることが期待される。

今後は、RA 治療薬を用いた実験治療モデルとしての有用性を探ると共に、抗 Col2 抗体や抗 CCP 抗体の出現と関節局所の免疫担当細胞の動態および組織病理学的変化を解析することにより、リウマトイド炎症における免疫学的発症機構の解明が可能となる。

さらに、滑膜増殖期と関節破壊期が分離できるため、病態の変化を段階的にモニターできる。このため本マウスは、リウマチ研究に

おける有用性は高く、医薬品開発など産業面における波及効果も高いと考えられる。

E. 結論

SASP を含む DMARDs 系の薬剤は関節破壊の進行を防止する作用もみられることから、骨びらんが出現する以前での投与、または RA の罹患期間が短いほど、DMARDs の効果が高いことが示されている。DICC マウスは、従来法である CIA と比べ、炎症期間が長く続き、DMARDs 等の遅延性の抗リウマチ薬の効果の検討に使用し易い事が明らかとなった。また SASP は抗体産生を強く抑制する作用を持たず、免疫応答から炎症応答、および滑膜細胞の増殖に到る過程に作用している事が示唆された。

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) Tetsuka T, Uranishi H, Sanda T, Asamitsu K, Yang J-P, Wong-Staal F, Okamoto T. RNA helicase A interacts with nuclear factor- κ B p65 and functions as a transcriptional coactivator. *Eur J Biochem* 271: 3741-3751, 2004.
- 2) Sanda T, Iida S, Ogura, H, Asamitsu K, Murata T, Bacon KB, Ueda R, Okamoto T. Growth inhibition of multiple myeloma cells by a novel I κ B kinase inhibitor. *Clin Can Res* 11: 1974-1982, 2005.
- 3) Ota S, Kanazawa S, Kobayashi M, Otsuka T, Okamoto T. Establishment of a simple and quantitative immunospot assay for detecting anti-type II collagen antibody using infrared fluorescence imaging system (IFIS). *J Immunol Methods* 299: 189-198, 2005.
- 4) Tanaka K, Hasegawa J, Asamitsu K, Okamoto T. Prevention of the ultraviolet B-mediated skin photoaging by a nuclear factor κ B inhibitor parthenolide. *J Pharmacol Exp Ther* 315: 624-630, 2005.
- 5) Okamoto T. The epigenetic alteration of synovial cell gene expression in rheumatoid arthritis and the roles of NF- κ B and Notch signaling pathways. *Mod Rheumatol* 15: 79-86, 2005.
- 6) Okamoto T, Sanda T, Asamitsu K. NF- κ B signaling and carcinogenesis. *Curr Pharm Design*, in press.

- 7) Sanda T, Asamitsu K, Ogura H, Iida S, Utsunomiya A, Ueda R, Okamoto T. Induction of cell death in adult T-cell leukemia cells by a novel I κ B kinase inhibitor. *Leukemia* 20: 590-598, 2006.
 - 8) Victoriano AFB, Asamitsu K, Hibi Y, Imai K, Barzaga NG, Okamoto T. Inhibition of HIV-1 replication in latently infected cells by a novel I κ B kinase inhibitor. *Antimicrob. Agents Chemother* 50: 547-555, 2006.
 - 9) Kanazawa S, Ota S, Sekine C, Tada T, Otsuka T, Okamoto T, Sonderstrup G., Peterlin BM. Aberrant MHC class II expression in mouse joints leads to arthritis with extra-articular manifestations similar to rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci NAS* 39: 14465-14470, 2006.
 - 10) Okamoto T. NF- κ B and rheumatic diseases. <Review> *Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders* 6: 359-372, 2006.
 - 11) Imai K, Okamoto T. Transcriptional Repression of Human Immunodeficiency Virus Type 1 by AP-4. *J Biol Chem* 281: 12495-12505, 2006.
 - 12) Katagiri D, Hayashi H, Victoriano Ann Florence B, Okamoto T, Onozaki K. Estrogen Stimulates Transcription and Replication of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1). *Int. Immunopharm* 6: 170-181, 2006.
 - 13) Inoue Y, Itoh Y, Abe K, Okamoto T, Daitoku H, Fukamizu A, Onozaki K, Hayashi H. Samad3 is Acentylated by p300/CBP to Regulate its Transactivation Activity. *Oncogene* 26: 500-508, 2007.
 - 14) Hamamoto T, Matio K, Hibi Y, Victoriano AFB, Takahashi N, Mabuchi Y, Soji T, Irie S, Sawanpanyalert P, Yanai H, Hara T, Yamazaki S, Yamamoto N, Okamoto T. A single nucleotide synonymous mutation in gag gene controls long human immunodeficiency virus type 1 virion production. *J Virol* 3: 1528-1533, 2007.
2. 学会発表
- 1) Okamoto T. International Meeting of the Institute of Human Virology, 2005年8月29日～9月2日, Baltimore, USA.
 - 2) 寺西太, 竹山廣光, 赤毛義実, 金澤智, 真辺忠夫, 岡本 尚. 腹膜中皮細胞表面の接着分子ヒアルロン酸が膵癌細胞の運動能と浸潤能に及ぼす促進効果と分子標的としてのPI3Kの役割. 第64回日本癌学会学術総会, 2005年9月14日～16日, 札幌.
 - 3) 高橋なを子, 小林真哉, 梶野真一, 友田圭介, 金澤智, 今井健一, 岡本尚. 53BP2蛋白によるアポトーシスはミトコンドリア経路を介する. 第64回日本癌学会学術総会, 2005年9月14日～16日, 札幌.
 - 4) 三田貴臣, 飯田真介, 上田龍三, 岡本 尚. 成人T細胞白血病に対する新規IKK阻害剤の抗腫瘍作用. 第64回日本癌学会学術総会, 2005年9月14日～16日, 札幌.
 - 5) Victoriano AFB, Asamitsu K, Hibi Y, Imai K, Barzaga NG, Okamoto T. Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication in Latently Infected Cells by a Novel IKK Inhibitor. 第53回日本ウイルス学会, 2005年11月20日～22日, 横浜.
 - 6) 今井健一, 岡本尚. 転写因子AP-4によるHIV発現抑制機構. 第53回日本ウイルス学会, 2005年11月20～22日, 横浜.
 - 7) 今井健一, 岡本 尚. 転写因子AP-4によるHIV発現抑制機構. 第19回日本エイズ学会学術集会・総会. 2005年12月1日～12月3日, 東京.
 - 8) 今井健一, 朝光かおり, 石橋高宏, 岡本尚. 転写因子AP-4によるHIV発現抑制機構. 第28回日本分子生物学会年, 2005年12月7日～12月10日, 福岡.
 - 9) Okamoto T. Cytokine Synthesis Inhibitors/Modulators. The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 2005年12月15日～12月20日, ハワイ.
 - 10) Okamoto T. Prevention of the ultraviolet B-mediated skin photoageing by NF κ B inhibitors. The Program of the Vth International Symposium on Aesthetic Medicine, 2006年2月18日, ロシア.
 - 11) Gao N, Asamitsu K, Okamoto T. Protein kinase A-interacting protein 1(AKIP1) is a novel interacting partner of p65 subunit of NF- κ B and activates NF- κ B-mediated transcription. 第20回国際生化学・分子生物学会議, 2006年6月18日～23日, 京都.
 - 12) Victoriano AnnFB, Asamitsu K, Hibiand Y, Okamoto T. Novel IKK inhibitor suppresses HIV-1 replication in HIV-1 latently infected cells. 第20回国際生化学・分子生物学会議, 2006年6月18日～23日, 京都.
 - 13) 朝光かおり, 三田貴臣, 田中清隆,

Victoriano AFB, 日比悠里名、岡本 尚:新たな NF- κ B 阻害剤とその作用機序の解析
第 27 回日本炎症・再生医学会 2006 年 7 月 11 日～12 日 東京

- 14) 友田圭介, 日比悠里名, 高橋なを子, 朝光かおり, 藤井義敬, 岡本 尚. RelA associated inhibitor(RAI/iASPP)による p53 の抑制作用の解析. 第 65 回日本癌学会 学術総会, 2006 年 9 月 28 日～30 日, 横浜.
- 15) 朝光かおり, 三田貴臣, 石橋貴宏, 岡本尚. リンパ球系腫瘍細胞株における NF κ B の恒常的活性化の解析. 第 65 回日本癌学会学術総会, 2006 年 9 月 28 日～30 日, 横浜.
- 16) 今井健一, 朝光かおり, 岡本 尚. Cyclin T1 は HIV Tat の安定性に関与する Positive involvement of Cyclin T1 in the protein stability of Tat. 日本分子生物学会 2006 フォーラム, 2006 年 12 月 6 日～8 日, 名古屋.
- 17) 石橋貴宏, 朝光かおり, 田中清隆, 日比悠里名, 岡本尚. オオグルマ抽出物による NF- κ B 転写活性阻害効果の検討 The analysis of inhibitory effect to the NF- κ B transcription activity by Inula helenium extract. 日本分子生物学会 2006 フォーラム, 2006 年 12 月 6 日～8 日, 名古屋.
- 18) 金澤智, 太田周介, 関根知世子, 大塚隆信, 岡本 尚. 関節リウマチ様病変を示す新規トランスジェニックマウス(DICC マウス)の解析. 日本分子生物学会 2006 フォーラム, 2006 年 12 月 6 日～8 日, 名古屋.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

- 1) 岡本 尚、田中 清隆、長谷川 順一:
NF- κ B 活性化抑制剤 (特願 2004-3727)
(特願 2004-3728)
- 2) 金澤 智、岡本 尚: ヒト関節リウマチの病態を再現するトランスジェニック非ヒト哺乳動物 (特願 2004-66218)
- 3) 金澤 智、岡本 尚: ヒト関節リウマチの病態を再現するトランスジェニック非ヒト哺乳動物 (特願 2006-510787) 出願中

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

関節リウマチの新規治療薬に関する研究

分担研究者：塩沢俊一

新潟大学医学部保健学科 教授

研究要旨

RA の病態の本質は、(1)過剰増殖機転、より本質的には(2)炎症が遷延化して変質性転化を遂げる機転にある。RA は抗原特異的に惹起されるが、炎症・関節破壊の進行には関節局所の滑膜間葉系細胞が重要で、*c-fos* 遺伝子の発現亢進に駆動されて関節基質を破壊する。*c-Fos* は *c-Jun* とダイマーを作り遺伝子プロモーターの AP-1 サイトに結合して遺伝子を発現させるが、この際 *c-Fos* の支配下にある遺伝子のほぼ全てが RA に必須の $\text{TNF}\alpha$ 、IL-1 β 、IL-6 等の炎症性サイトカインと関節破壊に不可欠の MMP である点が注目され、実際 *c-Fos* は RA の関節で増加し、作用点 (AP-1 サイト) を拮抗的に阻害すると関節炎は抑制される。すなわち、*c-Fos*/AP-1 過剰が滑膜の腫瘍様増殖と骨粗鬆症など RA に特徴的病変を形作る。そこで私達は、炎症性サイトカイン及び関節破壊に必須の MMP を亢進させる扇の要に位置し、且つ RA の病態の本質をなす *c-fos*/AP-1 に対する経口投与可能な低分子阻害剤を、*c-Fos* の DNA への結合の溶液中 3 次元構造を分子シミュレーションで算出し立体構造を鍵穴として薬物をコンピュータ上で CADD (computer-assisted drug design)により、分子設計した。

本剤はマウス II 型コラーゲン関節炎(CIA)をその発症前及び発症後いずれの投与においても最大 30mg/Kg の用量で完全に抑制した。とくに関節破壊は発症前投与で 100%防止された。IL-1 β 等の炎症性サイトカイン及び関節破壊に関わる MMP3 等は血中で蛋白と mRNA レベルで、関節局所で mRNA レベルで関節炎に比例して抑制された。T-5224 は *in vitro* で滑膜細胞 SW982 の主要産物 MMP-1, MMP-3, IL-6, $\text{TNF}\alpha$ 及び軟骨細胞 SW1353 の主要産物 MMP-3, MMP-13 を IC50 7.1~12.4 μM にて抑制された。抑制はルシフェラーゼアッセイ下に AP-1 特異的で、使用用量を超えて副作用を認めなかった。本研究から、関節炎初期には IL-1 β が作動するのであり、*c-Fos*/AP-1 阻害はこの IL-1 β と MMP を炎症初期に特異的に阻害する初めての薬剤であることが分かった。IL-1 β の特異的阻害作用を有する *c-Fos*/AP-1 阻害剤には、直接 MMP に作用する点からしても、RA の治療薬として臨床的著効が期待される。

A. 研究目的

RA の病態の本質は、(1)過剰増殖機転、より本質的には(2)炎症が遷延化して変質性転化を遂げる機転にある。RA は抗原特異的に惹起されるが、炎症・関節破壊の進行には関節局所の滑膜間葉系細胞が重要で、滑膜細胞は炎症性サイトカインを産生する他、パンヌスの構成要素²⁻⁴⁾として RA の軟骨表面に沈着したフィブロネクチンに誘導されて、或いはまた内的に *c-fos* 遺伝子の発現亢進に駆動されて関節基質を破壊する。こうした過剰増殖は *c-fos*/AP-1 の発現亢進により惹起される。*c-fos* 遺伝子は増殖性のリンパ系細胞の G1 期に一過性に増加するほか間葉系細胞に持続的に発現している。*c-Fos* は *c-Jun* とダイマーを作り遺伝子プロモーターの AP-1 サイトに結合して遺伝子を発現させる。注目すべきは、*c-Fos*

の支配下にある遺伝子のほぼ全てが RA に必須の $\text{TNF}\alpha$ 、IL-1 β 、IL-6 等の炎症性サイトカインと関節破壊に不可欠の MMP である点で、実際 *c-Fos* は RA の関節で増加し、作用点 (AP-1 サイト) を拮抗的に阻害すると関節炎は抑制される。*c-fos* の過剰は骨粗鬆症を誘導し、より本質的には炎症を変質性転化させる。すなわち、*c-Fos* の過剰が直接 Wee1 kinase を増加させて細胞分裂の開始シグナル MPF (mitosis promoting factor)を抑制して増殖するが分裂しない腫瘍様増殖 (変質性転化)を形作る。私達は炎症性サイトカイン及び関節破壊に必須の MMP を亢進させる扇の要に位置し、且つ RA の病態の本質をなす *c-fos*/AP-1 に対する経口投与可能な低分子阻害剤を開発した。

B. 研究方法

私達と北里大学・広野修一教授、富山化学工業(株)は共同研究(科学技術振興機構20億円)で、c-FosのDNAへの結合の溶液中3次元構造を分子シミュレーションで算出し立体構造を鍵穴として薬物をコンピュータ上でCADD(computer-assisted drug design)により分子設計した。

(倫理面への配慮)

研究は本学医学研究倫理委員会および遺伝子研究倫理委員会の承認の元に行われた。

C. 研究結果

本剤はマウスII型コラーゲン関節炎(CIA)をその発症前及び発症後いずれの投与においても最大30mg/Kgの用量で完全に抑制した。とくに関節破壊は発症前投与で100%防止された。IL-1 β 等の炎症性サイトカイン及び関節破壊に関わるMMP3等は血中で蛋白とmRNAレベルで、関節局所でmRNAレベルで関節炎に比例して抑制された。T-5224は*in vitro*で滑膜細胞SW982の主要産物MMP-1, MMP-3, IL-6, TNF α 及び軟骨細胞SW1353の主要産物MMP-3, MMP-13をIC₅₀ 7.1~12.4 μ Mにて抑制された。抑制はルシフェラーゼアッセイ下にAP-1特異的で、使用用量を超えて副作用を認めなかった。

D. 考察

本剤を用いることによって、関節炎初期にはIL-1 β が作動するのであり、c-Fos/AP-1阻害はこのIL-1 β とMMPを炎症初期に特異的に阻害する初めての薬剤であることが分かった。

E. 結論

IL-1 β の特異的阻害作用を有するc-Fos/AP-1阻害剤には、直接MMPに作用する点からしても、RAの治療薬として臨床的著効が期待される。

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) Kitagawa A, Miura Y, Saura R, Mitani M, Ishikawa H, Hashiramoto A, Yoshiya S, Shiozawa S, Kurosaka M. Anchorage on

fibronectin via VLA-5 (α 5 β 1 integrin) protects rheumatoid synovial cells from Fas-induced apoptosis. *Ann Rheum Dis* 65: 721-727, 2006.

- 2) Tsuchida K, Chaki H, Takakura T, Kotsubo H, Tanaka T, Aikawa Y, Shiozawa S, Hirono S. Discovery of nonpeptidic small-molecule AP-1 inhibitors: Lead hopping based on 3D pharmacophore model. *J Med Chem* 49: 80-91, 2006.
 - 3) Takami N, Osawa K, Miura Y, Komai K, Taniguchi M, Shiraishi M, Sato K, Iguchi T, Shiozawa K, Hashiramoto A, Shiozawa S. The promoter region of death receptor 3 (DR3) is specifically hypermethylated in rheumatoid synovial cells. *Arthritis Rheum* 54: 779-787, 2006.
 - 4) Hayashi S, Miura Y, Nishiyama T, Mitani M, Tateishi K, Sakai Y, Hashiramoto A, Kurosaka M, Shiozawa S, Doita M. DcR3 expressed in rheumatoid synovial fibroblasts protects the cells from Fas-induced apoptosis. *Arthritis Rheum*, in press.
- ### 2. 学会発表
- 1) Yamane T, Hashiramoto A, Tsumiyama K, Okamura H, Shiozawa S. Disruption of circadian rhythm aggravates experimental arthritis: study in cry gene-knockout mice. *Arthritis Rheum* 54 (9 Suppl): S176, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
 - 2) Hashiramoto A, Tanaka K, Nagahama T, Miura Y, Shiozawa S. Mutant type human death receptor 3 acts on the onset of collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 54 (9 Suppl): S180, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
 - 3) Yamane T, Shiozawa K, Hashiramoto A, Tanaka Y, Tsumiyama K, Miura Y, Shiozawa S. Anti-CCP2 assay accurately predicts future development of rheumatoid arthritis as early as 3 months from onset of arthritic symptoms. *Arthritis Rheum* 54 (9 Suppl): S194, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
 - 4) Aikawa Y, Morimoto K, Yamamoto T, Chaki H, Hashiramoto A, Narita H, Hirono S, Shiozawa S. A novel small molecule AP-1 inhibitor T-5224 resolves mouse type II collagen-induced arthritis in a c-Fos/AP-1-specific fashion. *Arthritis Rheum* 54 (9

- Suppl): S232, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
- 5) Tsumiyama K, Isaka S, Hashiramoto A, Shiozawa S. Once-energized T cell in autoimmune-prone MRL/lpr mice cannot be reactivated from anergy and generate autoantibodies after repeated priming with exogenous antigen. *Arthritis Rheum* 54 (9 Suppl): S355, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
- 6) Morimoto K, Aikawa Y, Yamamoto T, Chaki H, Hashiramoto A, Narita H, Hirono S, Shiozawa S. Therapeutic efficacy of a novel small molecule AP-1 inhibitor T-5224 on collagen-induced arthritis in mice: characterization of anti-arthritic effect directly inhibiting IL-1 β and matrix degrading MMPs. *Arthritis Rheum* 54 (9 Suppl): S358, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
- 7) Komai K, Saito M, Shiozawa S. Aberrant splicing mechanism of dbl proto-oncogene as the rheumatoid arthritis disease gene. *Arthritis Rheum* 54 (9 Suppl): S612, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
- 8) Tsumiyama K, Nishikawa M, Matsuyama H, Hashiramoto A, Shiozawa S. Natural killer T cell is *Sine Qua Non* for the reactivation of once-energized T cell after repeated priming with antigen and induction of autoimmunity. *Arthritis Rheum* 54 (9 Suppl): S640, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
- 9) Tsumiyama K, Hashiramoto A, Shiotsuki T, Miura Y, Shiozawa K, Shiozawa S. Distribution of apoptosis-inducing death receptor 3 (DR3) and fas is significantly different among T cell subsets: DR3+ naïve CD8+ T cell population is contracted in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 54 (9 Suppl): S751, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
- 10) Matsuda S, Miura Y, Hayashi S, Yoshida K, Hashiramoto A, Kurosaka M, Shiozawa S. Angiopoietin-1 acts onto $\alpha 5 \beta 1$ integrin (VLA-5) to activate MAP kinases in rheumatoid synovial cells. *Arthritis Rheum* 54 (9 Suppl): S812, 2006. American College of Rheumatology 70th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, Nov. 10-15, 2006.
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表 (平成 18 年度)

<書 籍>

主任研究者：江口勝美

著者名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
江口勝美	抗リウマチ薬各論—本邦未承認薬7・3生物学的製剤①アダリムマブ②アナキンラ.	川合真一	南江堂	2006
		抗リウマチ薬の選び方と使い方	東京	91-100
江口勝美.	回帰性リウマチ.	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢	医学書院	2006
		今日の治療指針	東京	91-100
江口勝美, 折口智樹.	NSAIDs の中止理由.	水島 裕	中山書店	2006
		NSAIDs の使い方 コツと落とし穴,	東京	156

分担研究者：三森経世

著者名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
Mimori T.	Autoantibodies in rheumatoid arthritis.	Pollard M	Wiley-VCH	2006
		Autoantibodies and Autoimmunity	Weiheim, Germany	277-290
三森経世.	膠原病, および類縁疾患の治療の動向.	山口徹, 北原光夫, 福井次矢	医学書院	2006
		今日の治療指針	東京	586
三森経世.	混合性結合組織病.	住田孝之	診断と治療社	2006
		EXPERT 膠原病・リウマチ 改訂第2版	東京	298-306

分担研究者：土屋尚之

著者名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
土屋尚之.	全身性エリテマトーデスのゲノム医学.	永井良三監修, 徳永勝士, 大木秀一, 田中紀子編	杏林図書	2007
		臨床ゲノム科学入門	東京	192-205

分担研究者：岡本 尚

	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
岡本 尚	ELL	田村 隆明, 山本 雅之	羊土社	2006
		転写因子・転写制御キ ワードブック	東京	92-93
岡本 尚	DSIF	田村隆明, 山本 雅之	羊土社	2006
		転写因子・転写制御キ ワードブック	東京	86-87
岡本 尚	NELF	田村隆明, 山本雅之	羊土社	2006
		転写因子・転写制御キ ワードブック	東京	145
岡本 尚	エロンゲーター	田村 隆明, 山本 雅之	羊土社	2006
		転写因子・転写制御キ ワードブック	東京	248
岡本 尚	S II	田村隆明, 山本雅之	羊土社	2006
		転写因子・転写制御キ ワードブック	東京	183
岡本 尚	エロンギン	田村隆明, 山本雅之	羊土社	2006
		転写因子・転写制御キ	東京	246-247