

X, Bowtell D, Aburatani H, Leung SY, Tan P. Topological and functional discovery in a gene coexpression meta-network of gastric cancer. *Cancer Res.* 66(1):232-41. 2006

2. 学会発表

平成18年度

- ・第95回日本病理学会総会（新宿、5/2）ワークショップ- 分子病因からみたトキシコロジー- 「化合物の作用予測と個人差」
- ・日本人類遺伝学会第51回大会シンポジウム

「ゲノム科学の成果を臨床現場へ」（米子、10/20）「ヒトゲノムコピー数多型マップ」

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

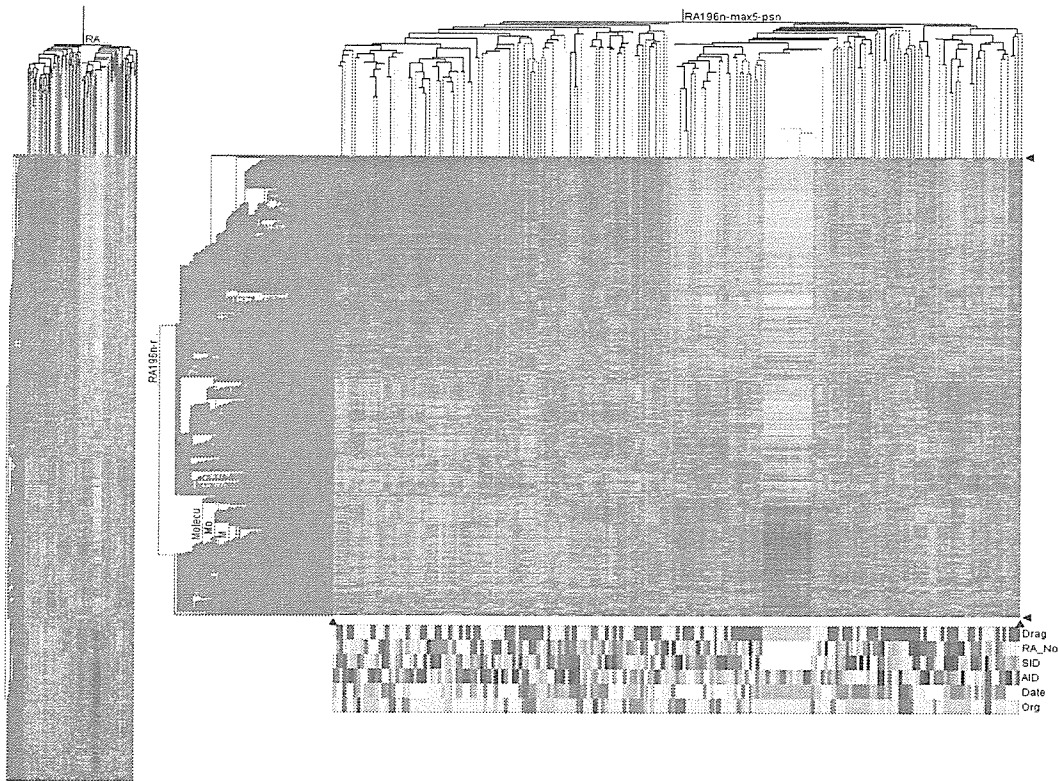
なし

3. その他

なし

図1 全症例の階層的クラスタリング

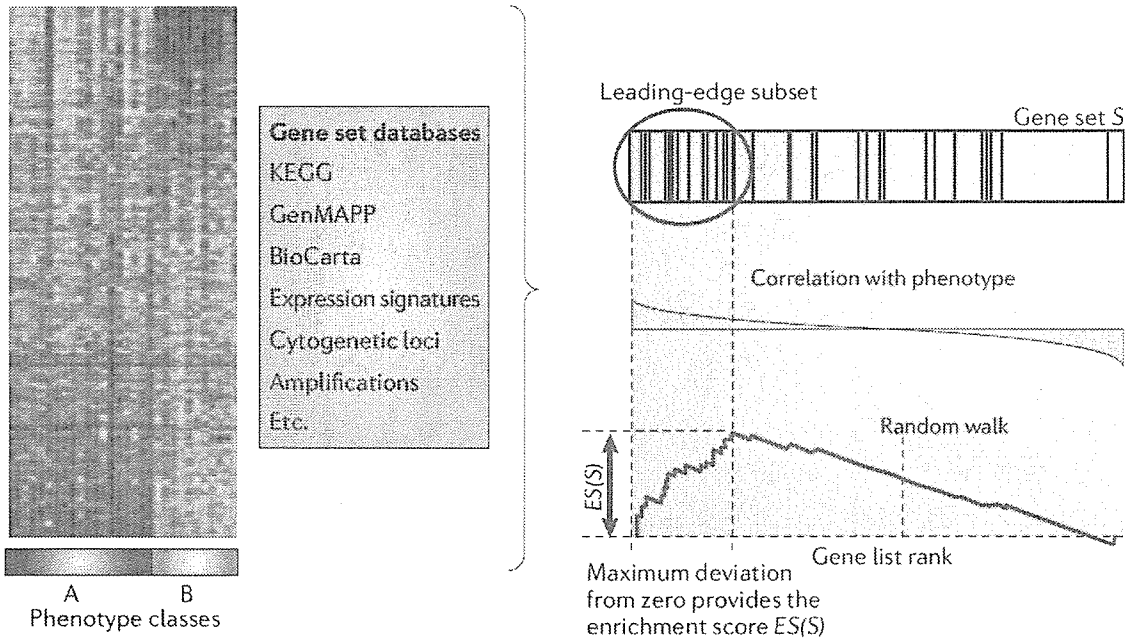
91 症例の投薬前後それぞれの合計 192 検体とコントロール (LN-mix) 検体について 2 方向階層的クラスタリング (ピアソン相関) を行った。用いた遺伝子はいずれかの検体で発現値が 5 を超えた 17, 549 プローブ。



Selected Gene Tree	RA196n-max5-psn	Colored by	RA196n (Default Interpretation)
Selected Condition Tree	RA196n-max5-psn	Gene List	RA196r-max5 (17549)
Branch color parameter	Drag		

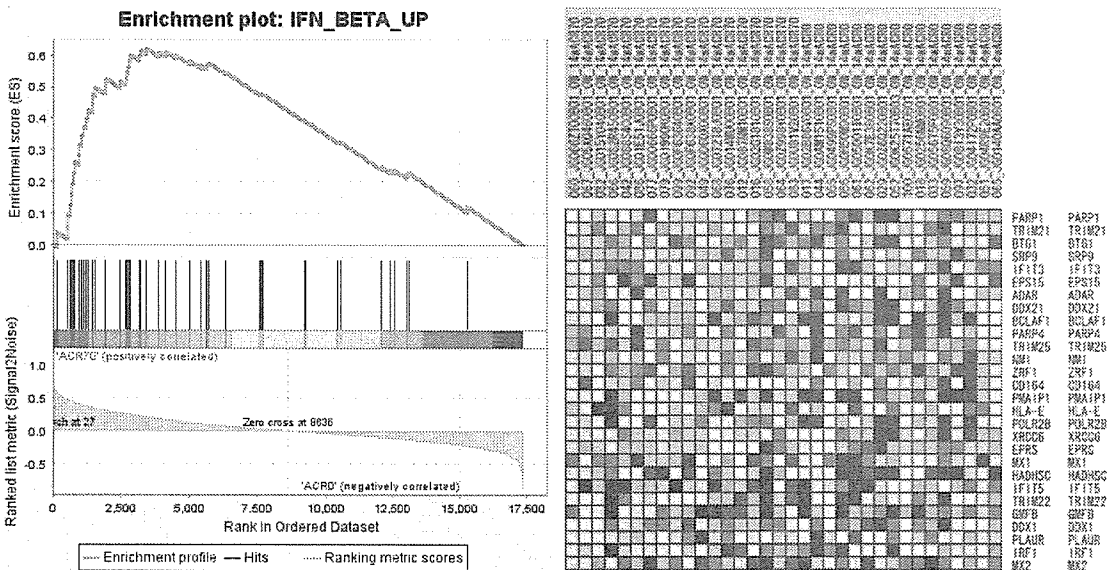
図3 GSEA

a. GSEA について



b. 14 週における治療応答に相関する遺伝子群と相関する signature

14 週時の ACRO (16 例、右図黄色) と ACR70 (18 例、同灰色) の 2 群間比較で、ACR70 群で発現が高い順に左側からランキングして、sigDB データベースのそれぞれの signature との重複を算出した。左図の縦線はインターフェロン誘導遺伝子 signature にヒットした遺伝子を縦線で示しており、βインターフェロンで誘導される遺伝子群が上位に濃縮されていることを示す。右図は今回の解析での発現をヒートマップ表示した。



関節リウマチ疾患関連遺伝子の解析とその民族差

分担研究者 山本 一彦 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 教授
研究協力者 森美賀子（東京大学大、理化学研究所）
小林香子、山田亮、鈴木亜香里、高地雄太（理化学研究所）

研究要旨

関節リウマチ（RA）の個別医療を推進するためには疾患関連遺伝子の検索が重要である。近年、RAについてもHLA以外の疾患関連遺伝子の報告が出つつある。我々はRAのゲノム要因についてゲノムワイドな関連解析を行い、PADI4とFCRL3が関連遺伝子であることを明らかにした。そこでこの遺伝子多型をB細胞機能との関係を検討した。さらに、これらの疾患関連遺伝子が民族に特有のものである可能性が示唆されていることから、白人集団でRA関連遺伝子多型として報告のあるPTPN22の多型などを、我が国のRAと非RAサンプルで検討した。その結果、多型自体が存在しない場合や多型が存在しても頻度が異なる場合があり、いずれもRAとの関連が見いだされることが判明した。今後、民族差を含めて疾患関連遺伝子多型をどのように考えていくかの問題が提起された。

A.研究目的

関節リウマチ（rheumatoid arthritis, RA）は発症や病態の進展に複数の遺伝要因および環境要因が関連する、いわゆる多因子疾患の1つであると考えられている。RAの将来的な個別医療を推進する為には、これらの要因の同定と臨床症例との詳細な解析が重要である。すなわち、これらの解析は、RAの新しいメカニズムの解明だけでなく、薬剤に対する反応性、副作用予測、治療の標的の確定など、RA診療に大きく寄与すると期待されている。従来からRAの遺伝要因としてはHLA-DRの共通アミノ酸配列（シェアードエピトープ）が注目されてきており、これはほとんどの民族で概ね追認されていた。最近、HLA以外に疾患関連遺伝子が報告され始めた。我々も日本人RAでの疾患関連遺伝子として、peptidylarginine deiminase type 4(PADI4)やFc receptor-like 3(FCRL3)などを報告した。そこで、本研究では、B細胞機能に関係

するものに注目して、遺伝子多型と抗体産生との関連を解析した。

さらに、これらの関連遺伝子多型は、日本人やアジア人では追認されるものの、白人（コーカサス人）では追認されないとの報告が多く、疾患関連遺伝子に民族差があることが大きな問題となりつつある。そこで、今回、主に白人においてRA関連遺伝子多型として報告されている、Cytotoxic T lymphocyte-associated 4 (CTLA4), MHC class II transactivator (MHC2TA), Programmed cell death 1 (PDCD-1), Protein tyrosine phosphatase, nonreceptor-type 22 (PTPN22), Tumor necrosis factor α (TNF), Tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2)などの遺伝子多型を日本人サンプルについて検討した。

B.研究方法

報告したRA関連遺伝子PADI4とFCRL3のジ

ェノタイプと自己抗体産生について検討した。抗 CCP 抗体は市販のキットを用い、抗シトルリン化フィラグリンはリコンビナントフィラグリンをラビット由来の PADI で試験管内でシトルリン化したものを用い、ELISA 法にて測定した。

白人で報告されている RA 関連遺伝子多型頻度について日本人の患者(1010 名)と非 RA 罹患患者(752 名)を用いて TaqMan アッセイ法にてジェノタイプングした。さらに性別、HLA-DR による層別化検定も行った。

(倫理面への配慮) 研究対象者には人権擁護上の配慮を行った上で、研究方法による不利益、危険性とそれらを排除する方法等について十分なインフォームドコンセントを行った。

C. 研究結果

PADI4 の機能的ハプロタイプに関しては、RA 感受性ハプロタイプ(haplotype2)と RA 非感受性ハプロタイプ(haplotype1)について、抗 CCP 抗体および抗シトルリン化フィラグリン抗体の陽性率を測定した。感度の高い抗 CCP 抗体とは明らかな相関は見出されなかったが、抗シトルリン化フィラグリン抗体の陽性率は、haplotype2 をホモに持つ患者群では 87%の陽性率であったが、それ以外の群では 50%であり、有意な関連がみられた。一方、FCRL3 のプロモーターに存在する機能的遺伝子多型(-169C/T)については、リウマトイド因子および抗 CCP 抗体の関連を検討した。148 名の RA 患者の調べる経過中で最も高いリウマトイド因子抗体価は、感受性多型-169C のホモ、ヘテロ、非感受性多型-160T ホモそれぞれについて相関することが回帰分析で明らかになった。また、感受性多型-169C のホモの RA 患者は抗 CCP 抗体の陽性率が 100%であるのに対して、ヘテロの患者は 94.3%、非感受性多型-160Tホモの患者は73.7%の陽性に留まり、遺伝子多型と自己抗体産生に関連があることが明らかとなった。

白人で RA の疾患関連遺伝子とされている PTPN22 および PDCD-1 については、当該疾患関連 SNP が日本人には存在しなかった。また、CTLA4 , MHC2TA, TNF, TNFR2 については関連が

認められなかった。さらに、性別、HLA DR による層別分類によってもアレル頻度は変化がなかった。

D. 考察

RA の疾患関連遺伝子として同定された2つの遺伝子多型が、B 細胞の標的形成と機能という異なる状況で関連していることが想定された。

それぞれの疾患関連遺伝子多型が民族により異なる場合、その遺伝子が民族特有の要因である可能性と当該遺伝子は疾患の成立に関与しているが、遺伝子多型に有意差が検出されない場合があり得る。例えば、アフリカ系米国人では HLA-DR の shared epitope 仮説が追認されないが、これはこの民族の RA には HLA-DR 遺伝子が関与していないことを示すものではない。すなわち、民族特有の関連遺伝子として検出されている遺伝子多型の中には、RA の共通要因として重要な遺伝子ないしカスケードに関するものが多く含まれている可能性が多い。しかし、多型自体の存在しない場合や、他の背景や環境の影響などで、ある民族ではそれらの多型が疾患関連遺伝子として有意に検出されない可能性がある。遺伝学的解析と病態生理学的解析を融合して判断する必要がある。

E. 結論

疾患関連遺伝子の解析と自己抗体の関連から、RA の病態における B 細胞機能の重要性が浮き彫りにされた。抗 CD20 モノクローナル抗体の治療効果をあわせて、RA における B 細胞を指標にしたモニタリングが、RA 診療の上で重要であると考えられる。

一方、RA のように浸透率が低く複数の遺伝子座が発症に関与する可能性が考えられている疾患においては、さらなる疾患関連遺伝子同定のために日本人検体の確保、SNP データベースの充実などが急務と考える。また民族間の比較を平行して行う必要があると考える。

F. 健康危険情報

特になし

G.研究発表

1. 論文発表

1. Yamamoto K, Okamoto A, Fujio K. Antigen specific immunotherapy for autoimmune diseases. *Expert Opin Biol Ther.* 7:359-367, 2007.
2. Okazaki Y, Suzuki A, Sawada T, Ohtake-Yamanaka M, Inoue T, Hasebe T, Yamada R, Yamamoto K. Identification of citrullinated eukaryotic translation initiation factor 4G1 as novel autoantigen in rheumatoid in rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Commun.* 341:94-100, 2006.
3. Nakagome K, Dohi M, Okunishi K, To Y, Sato A, Komagata Y, Nagatani K, Tanaka R, Yamamoto K. Antigen-sensitized CD4⁺ CD62L^{low} memory/ effector T helper 2 cells can induce airway hyperresponsiveness in an antigen free setting. *Respir Res.* 28:6-46, 2006.
4. Nagatani K, Dohi M, To Y, Tanaka R, Okunishi K, Nakagome K, Sagawa K, Tanno Y, Komagata Y, Yamamoto K. Splenic dendritic cells induced by oral antigen administration are important for the transfer of oral tolerance in an experimental model of asthma. *J Immunol.* 176:148-1489, 2006.
5. Fujio K, Okamoto A, Araki Y, Shoda H, Tahara, Tsuno NH, Takahashi K, Kitamura T, Yamamoto K. Gene therapy of arthritis with TCR isolated from the inflamed paw. *J Immunol.* 177: 8140- 8147, 2006.
6. Kochi Y, Shimane K, Yamamoto K. The genetics of systemic lupus erythematosus: differences across ethnicities. *APLAR J Rheumatology.* 9:353-358, 2006.
7. Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, Harley JB, Shirasawa S, Sawada T, Bae SC, Tokuhira S, Chang X, Sekine A, Takahashi A, Tsunoda T, Ohnishi Y, Kaufman KM, Kang CP, Kang C, Otsubo S, Yumura W, Mimori A, Koike T, Nakamura Y, Sasazuki T, Yamamoto K. A functional variant in FCRL3, encoding Fc receptor-like 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities. *Nature Genet.* 37:478-485, 2005.
8. Suzuki A, Yamada R, Ohtake-Yamanaka M, Okazaki Y, Sawada T, Yamamoto K. Anti-citrullinated collagen type I antibody is a target of autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Commun.* 333:418-426, 2005.
10. Sato K, Sato U, Tateishi S, Kubo K, Horikawa R, Mimura T, Yamamoto K, Kanda H. Aire downregulates multiple molecules that have contradicting immune-enhancing and immune- suppressive functions. *Biochem Biophys Res Commun.* 318:935-940, 2004.
11. Iikura M, Ebisawa M, Yamaguchi M, Tachimoto H, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K. Transendothelial migration of human basophils. *J Immunol.* 173:5189-5195, 2004.
12. Fujio K, Okamoto A, Tahara H, Abe M, Jiang Y, Kitamura T, Hirose S, Yamamoto K. Nucleosome-specific regulatory T cells engineered by triple gene transfer suppress a systemic autoimmune disease. *J Immunol.* 173:2118-2125, 2004.
13. Zhang D, Fujio K, Jiang Y, Zhao J, Tada N, Sudo K, Tsurui H, Nakamura K, Yamamoto K, Nishimura H, Shirai T, Hirose S. Dissection of the role of MHC class II A and E genes in autoimmune susceptibility in murine lupus models with intragenic recombination. *PNAS.* 101: 13838-13843, 2004.
14. Setoguchi K, Masaki Y, Kawahata K, Shimada K, Juji T, Tanaka S, Oda H, Shukunami C, Nishizaki Y, Hiraki Y, Yamamoto K. Suppression of T cell responses by chondromodulin I, a cartilage-derived angiogenesis inhibitory factor. *Arthritis Rheum.* 50:828-839, 2004.

H.知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

抗リウマチ薬の薬理ゲノム学的研究

分担研究者 谷口敦夫 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 助教授

研究要旨

抗リウマチ薬は関節リウマチ薬物治療において中心的な役割を担っている。しかし、その効果や副作用の発現には個体差が大きい。したがって、投与前に抗リウマチ薬に対する反応性が予測できれば臨床的に有用性が高いと考えられる。抗リウマチ薬の薬効の個体差の原因のひとつに薬物代謝酵素遺伝子多型が考えられる。我々は以前、methotrexate (MTX) の投与量あるいは副作用の発現に methylenetetrahydrofolate reductase 遺伝子多型が、sulfasalazine (SSZ) の副作用発現に N-acetyltransferase-2 遺伝子多型が関与することを報告した。今回の研究で、異なる対象症例においてこれらの結果の再現性を検討したところ、同様の結果が得られた。したがって、これらのゲノム情報と薬効の関連は RA 患者の MTX あるいは SSZ を用いた治療に応用可能であると考えられ、現在臨床応用を進めている。また、ゲノム情報に基づくオーダーメイド医療において、遺伝子情報として遺伝子型でよいか、ハプロタイプあるいはディプロタイプ形を用いる必要があるかを検討する必要があること、コンピューターソフトウェアを用いたディプロタイプ形の決定法が臨床応用に際して有用であることが示唆された。一方、MTX の効果・副作用については 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase (FTD) 遺伝子、thymidylate synthase (TYMS) 遺伝子、reduced folate carrier (RFC) 遺伝子、serine hydroxymethyltransferase (SHMT) 遺伝子の多型との関連性が示唆された。今後、再現性を確認したうえでオーダーメイド医療への応用について検討すべきであると考えられた。

A.研究目的

ヒトのゲノム計画によりヒトの全遺伝子の配列が明らかになるとともに、遺伝子配列そのものから、遺伝子配列がどのような形質(特定の疾患の有無、薬効の程度、副作用の有無など)と結びついているかについての研究が重視されている。特定の遺伝子の多型と薬物の反応性との関連を検討する領域においては、ポストゲノム時代になって遺伝情報の量が飛躍的に増大するとともにゲノムレベルでの関連性の検討を行うことが可能になり、薬理ゲノム学として発展している。現在では、遺伝統計学を用いた薬理ゲノム学的検討で得られ

た情報をもとにして個々の患者に至適化した治療方針を立てるオーダーメイド医療が実現可能ではないかと考えられている。

関節リウマチ (RA) の治療の中心である抗リウマチ薬は、その効果・副作用発現の個人差が大きいこと、副作用の発現頻度は 25-30%と比較的高く、稀に重篤な副作用も認められるが、全く副作用を発現しない症例もあること、などが特徴とされている。薬物代謝酵素などの遺伝子多型はこのような個体差が生じる原因のひとつであると考えられる。したがって、個人の遺伝子多型に基づくオーダーメイド医療を導入することにより、抗リウ

マチ薬を用いたRAの治療はより効率的になると考えられる。このような視点から、我々は最もよく使われる抗リウマチ薬である methotrexate (MTX) と sulfasalazine (SSZ) についての薬理ゲノム学的検討を行っている。MTX の作用機序の少なくとも一部には葉酸代謝が関与していると考えられる。

Methylenetetrahydrofolate reductase

(MTHFR) は葉酸代謝経路の主要な酵素であり、アミノ酸置換を伴う single nucleotide polymorphism (SNP) として、C677T、A1298C 多型があり、677C>T、1298A>C により酵素活性が低下することが報告されている。我々はこの点に着目し、MTHFR 遺伝子の C677T 多型の T アレルが MTX の副作用発現に関連し、A1298C 多型の AA 遺伝子型が MTX 投与量の増加 (すなわち有効性) に関連することを見出している

(Urano W, et al: Pharmacogenetics 2002;12:183)。また、SSZ の主要な代謝酵素である N-acetyltransferase-2 には rapid acetylator と slow acetylator という2つの表現型があり、これは NAT2 遺伝子の複数の多型に起因している。すなわち、NAT2 の遺伝子多型から構築されるハプロタイプのうち変異型 (M 型) を2つ持つ個体 (M/M) は slow acetylator、野生型を少なくともひとつ持つ個体 (W/W、W/M) は rapid acetylator に相当するとほぼ考えて良い。我々は M/M 型の個体では W/W あるいは W/M に比べて全副作用あるいは重症副作用の発現頻度が有意に高いことを報告した (Tanaka E, et al: J Rheumatol 2002;29:12)。これらの結果は MTX や SSZ の投与に薬理ゲノム学的アプローチが有効である可能性を示唆する。しかし、実際にこれらの結果を臨床応用するにあたっては、結果の再現性を確認する必要がある。また、MTX の関連する代謝には MTHFR 以外の代謝酵素も関与する。そこで、今回我々は以下の3点について検討を行った。

1. MTX の効果 (投与量) ・副作用発現と MTHFR 遺伝子多型の関連を以前の報告とは異なる症例において再現性を確認する。

2. NAT2 ディプロタイプ形と SSZ 副作用発現の関連を以前の報告とは異なる症例において再現性を確認する。

3. MTHFR 以外の代謝酵素の遺伝子多型と MTX の効果・副作用との関連について検討する。

B. 研究方法

1. 対象

東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センターに通院中のRA患者384例を対象とした。

2. 方法

対象患者のなかでMTX投与歴のある209例において、MTX週6mg以下で開始された症例における12ヶ月後の増量の有無およびMTX総投与量300mg以内に生じた副作用と、MTHFR遺伝子C677T・A1298C多型との関連を検討した。また、SSZ投与歴のある186例でSSZの副作用とNAT2ディプロタイプ形との関連を検討した。副作用については診療記録からMTXあるいはSSZによる副作用を抽出した。MTXによる肝機能異常については、ALT 45 IU/lを超える場合を肝機能異常ありとした。

対象患者の末梢血からゲノムDNAを抽出した。MTHFR遺伝子C677T、A1298C多型のタイピングにはTaqMan法 (Applied Biosystems) を用いた。また、NAT2遺伝子の多型のなかから4種を選択し、TaqMan法でタイピングを行った。得られた結果と表現型をPENHAPLO (Ito T, et al: Genetics. 2004;168:2339) を用いて解析し、ディプロタイプ形と表現型の関連について統計学的に検討した。

MTX が関与する代謝経路の MTHFR 以外の代謝酵素の遺伝子多型について、機能 (酵素活性など) に与える影響が報告されているものを中心に選択し、TaqMan 法あるいは PCR-RFLP 法で遺伝子型を決定した。診療記録から MTX の投与量、副作用などを収集し、これらと遺伝子型との関について統計学的に解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は東京女子医科大学の遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会で承認された計画に基づいて行われた。

C. 研究結果

1) MTXの効果(投与量)・副作用発現とMTHFR遺伝子多型の関連のvalidationについて:

MTX週6mg以下で開始され、12か月以上経過した症例は159例であった。このなかで、12ヶ月後のMTX投与量が週6mgを超えていた症例は95例(high dose group)、6mg以下であった症例は64例(low dose group)であった。MTHFR遺伝子A1298C多型において、AAあるいはACを持つ症例は有意にhigh dose groupに多く($P=0.008$, $RR=1.84$, $95\%CI$ 1.12-3.01)、gene dose effectが認められた。C677T多型では関連性は認められなかった。

一方、MTX総投与量300mgを超えた症例は170例であった。既存の肝疾患を有する症例(慢性ウイルス性肝炎など)を除いた156例を用いて副作用と遺伝子型との関連を検討した。MTX総投与量300mg以内に副作用が生じた症例は43例であった。C677T多型のCTあるいはTTを有する症例群はCCを有する症例群に比し副作用が生じた症例が有意に多かった($P=0.006$, $RR=2.2$, $95\%CI=1.20-4.02$)。また、副作用の中で肝機能異常($GPT>45IU/l$)を認めた症例もCTあるいはTT群で有意に多く、gene dose effectも認められた。A1298C多型との関連は認められなかった。

2) NAT2ディプロタイプ形とSSZ副作用発現の関連のvalidation:

SSZ投与症例においてSSZによる副作用は33例に認められた。ハプロタイプ解析では野生型ハプロタイプ(W)であるNAT2*4、変異型ハプロタイプ(M)であるNAT2*5B、NAT2*5E、NAT2*6A、NAT2*7B、NAT2*13が認められた。Slow acetylatorと関連するM/Mディプロタイプ形を有する症例群は、rapid acetylatorと関連するW/WあるいはW/Mディプロタイプ形を有する症例群に比し、有意に副作用発現が高

かった($P=0.001$, $RR=3.31$, $95\%CI=1.76-6.22$)。また、副作用の中でも特に重症と考えられる3症例のうち2症例がMMディプロタイプ形であり、重症副作用も有意にMMディプロタイプ形を有する症例に多いことが示された($P=0.015$, $RR=24.6$, $95\%CI$ 2.37-254.53)。

3) MTHFR以外の遺伝子多型とMTXの効果・副作用との関連について:

全副作用の発現については10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase (FTD) 遺伝子、thymidylate synthase (TYMS) 遺伝子の多型において有意な関連が認められた。副作用を肝機能異常のみに限ると reduced folate carrier (RFC) 遺伝子にも弱い関連が認められた。投与量については、serine hydroxymethyltransferase (SHMT) 遺伝子で有意な関連が認められた。しかし、5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase、5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide transformylase、folylpolyglutamyl synthase、dihydrofolate reductase、gamma-glutamyl hydrolase、MTHFD1、GARTについては検討した遺伝子多型において有意な関連を認めなかった。

D. 考察

多くの疾患で薬理ゲノム学的検討が行われており、抗リウマチ薬についても薬理ゲノム学的データが集積しつつある。しかし、遺伝子多型の頻度には人種差があり、検討方法の違いなども結果に影響する可能性がある。したがって、我々は、薬物に対する反応性とゲノム情報との関連を臨床応用するにあたっては、「1. 仮説検定(遺伝情報により表現型が異なる)、2. 再確認(検定で確認された結果を独立のサンプルで再確認し、本質的に同じ結果が得られる)、3. ゲノム情報を治療に応用するアルゴリズムが構成でき、医療介入の結果が患者に有利であると予測される」、という3つのステップが必要であることを提唱している(Taniguchi A, et al.:

Pharmacogenet Genomics in press)。今回の検討によりMTXの投与量増加とMTHFR遺伝子A1298C多型、MTXの副作用発現とC677T多型、NAT2遺伝子ディプロタイプ形とSSZ副作用発現の関連がvalidateされた。すなわち、異なる対象群において、前回の結果が確認された。このことは、RA患者のMTX治療にオーダーメイド医療を導入する際に重要であると考えられる。また、MTHFR遺伝子とMTXの反応性との関連についてはgene dose effectが認められているが、このことは薬理ゲノム学的データの臨床応用を容易にすると思われる。さらに、NAT2遺伝子ディプロタイプ形についてはSSZの重症副作用とも関連しており、臨床的にも有用であると考えられた。以上の結果に基づき、MTHFR遺伝子の多型とMTXの効果・副作用との関連、NAT2遺伝子多型とSSZ副作用発現との関連を臨床応用し、治療アルゴリズムの有用性の検討を開始している。

今回の検討から、オーダーメイド医療について、対象となる遺伝子情報として遺伝子型で充分であるか、ハプロタイプあるいはディプロタイプ形を用いるべきかを検討する必要があることも明らかになった。たとえば、NAT2遺伝子についてはディプロタイプ形との関連が重要であるが、MTHFR遺伝子については遺伝子型のみで充分であった。また、我々はNAT2遺伝子のディプロタイプ形の決定にコンピューターソフトウェア(Ito T, et al: Genetics. 2004;168:2339)を用いているが、遺伝子情報情報としてハプロタイプあるいはディプロタイプ形を用いる場合、コンピューターソフトウェアを用いたアプローチは臨床応用においても現実的な方法であると考えられた。

一方、MTHFR 遺伝子以外の遺伝子の多型とMTXの効果・副作用発現との関連についてはTMYS、SHMT、FTD、RFC遺伝子の多型において有意な関連が認められたが、これらについてはvalidationを行い、今後さらに検討する必要がある。

E.結論

MTX や SSZ の薬効にはいくつかの薬物代謝(関連) 酵素の遺伝子多型が関与していることが示された。特に MTHFR 遺伝子 C677T 多型・A1298C 多型と MTX の副作用発現・投与量、NAT2 遺伝子ディプロタイプ形と SSZ 副作用発現の関連が validate された。MTX あるいは SSZ による RA の治療において、これらの遺伝子情報をもとに構築した治療アルゴリズムに基づいたオーダーメイド医療を行うことにより、これらの抗リウマチ薬の効果を高め、副作用を減少させることが期待できる。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1.論文発表

- 1) 谷口敦夫、鎌谷直之：日本臨床 RA テーラーメイドとゲノム創薬 日本臨床 63増刊号1関節リウマチ：686-690, 2005
- 2) 谷口敦夫：関節リウマチのテーラーメイド医療 日医雑誌 135(5):1052,2006
- 3) Atsuo Taniguchi , Hisashi Yamanaka , Naoyuki Kamatani : Pharmacogenomics in the treatment of rheumatoid arthritis: clinical implication and perspective. Personalized Medicine 3(2):151-163, 2006
- 4) 谷口敦夫、鎌谷直之：抗リウマチ薬の薬理ゲノム学とオーダーメイド医療への展開 日本臨床 65(2): 371-379, 2007
- 5) Atsuo Taniguchi, Wako Urano, Eiichi Tanaka, Shiori Furihata, Shigeo Kamitsuji, Eisuke Inoue, Mariko Yamanaka, Hisashi Yamanaka, Naoyuki Kamatani: Validation of the associations between single nucleotide polymorphisms or haplotypes and responses to diseasemodifying antirheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis: a proposal for prospective pharmacogenomic study in clinical practice Pharmacogenet Genomics in press

2.学会発表

- 1) Taniguchi A, Urano W, Yamanaka M, Tanaka E, Yamanaka H, Kamatani N: Validation of the association between the C677T polymorphism of the MTHFR gene and methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis. *Modern Rheumatology* 15(suppl):S138, 2005
- 2) 谷口敦夫、浦野和子、降籐志おり、山中麻里子、田中栄一、山中寿、鎌谷直之：関節リウマチ（RA）におけるmethotrexateの効果・副作用発現とMTHFR遺伝子多型：RAへのオーダーメイド医療の導入をめざして 第50回日本人類遺伝学会 2005.9.21倉敷
- 3) Atsuo Taniguchi, Shiori Furihata, Wako Urano, Mariko Yamanaka, Eiichi Tanaka, Hisashi Yanamaka, Naoyuki Kamatani : Validation of pharmacogenetic data necessary to put personalized medicine into practice in rheumatoid arthritis 55th Annual meeting of American Society of Human Genetics 2005.10.27 Salt Lake City
- 4) 谷口敦夫、浦野和子、降籐志おり、上辻茂男、井上永介、山中麻里子、山中寿、鎌谷直之：関節リウマチにおけるmethotrexateの効果・副作用発現とMTHFR遺伝子多型 痛風と核酸代謝 30 : 47, 2006
- 5) 谷口敦夫、浦野和子、田中栄一、降籐志おり、上辻茂男、山中麻里子、山中寿、鎌谷直之：抗リウマチ薬の薬理遺伝学—オーダーメイド医療への応用をめざして. 日本内科学会雑誌 2006 95（臨時増刊号）,166: 2006
- 6) Atsuo Taniguchi, Wako Urano, Shiori Furihata, Shigeo Kamitsuji, Eisuke Inoue, Mariko Yamanaka, Hisashi Yanamaka, Naoyuki Kamatani: Validation of pharmacogenomic evidence necessary to put personalized medicine into practice for rheumatoid arthritis: (1)MTHFR polymorphisms and responses to MTX. *Mod Rheumatol* 16(suppl):125,2006
- 7) Atsuo Taniguchi, Eiichi Tanaka, Shiori Furihata, Mariko Yamanaka, Wako Urano, Hisashi Yanamaka, Naoyuki Kamatani : Validation of pharmacogenomic data necessary to put personalized medicine into practice for rheumatoid arthritis: (2)NAT2 polymorphisms and adverse effect of sulfasalazine. *Mod Rheumatol* 16(suppl) : 85, 2006
- 8) 谷口敦夫、浦野和子、降籐志おり、山中麻里子、田中栄一、山中寿、鎌谷直之：抗リウマチ薬の薬理遺伝学的検討の validation : RAへのオーダーメイド医療の導入をめざして. 第13回遺伝子診療学会 2006年7月28-29日, 東京
- 9) 谷口敦夫、浦野和子、山中麻里子、川本学、山中寿、浦野真理、斎藤加代子、鎌谷直之：関節リウマチにおけるオーダーメイド医療の試み 日本人類遺伝学会第51回大会 2006年10月17-20日、米子

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

関節リウマチの病態に関する免疫・シグナル伝達経路に関する研究

分担研究者 田村直人 順天堂大学膠原病内科 講師
深沢 徹 浦安市川市民病院内科 助教授
小林茂人 順天堂大学附属順天堂越谷病院内科 助教授
共同研究者 三宅幸子 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部 室長

研究要旨

関節リウマチにおけるテーラーメイド治療の基礎となる疾患マーカーや病態に関連する免疫やシグナル伝達の異常を明らかにするため、以下の研究を行った。まず、疾患マーカーの検索を DNA マイクロアレイを用いて網羅的に行った。早期 RA では、他の臓器特異的自己免疫疾患とは異なる遺伝子の発現の上昇や減少がみられ、疾患特異的マーカーとなる可能性が示された。また、関節リウマチにおける Th1/Th2 サイトカインバランスに注目し、Th1 サイトカインである IFN- γ の産生の調節に関与している CD4 陽性 T 細胞上の SLAM 発現、およびサイトカイン産生における MTX の影響について検討したところ、MTX は活性化 CD4 陽性 T 細胞上の SLAM を経て末梢血中 IFN- γ 及び IL-4 の産生を抑制している可能性が示唆された。また、ホスファチジルイノシトール3 (PI3) キナーゼ選択的阻害薬 ZSTK474 を用いて、コラーゲン誘発性関節炎モデルマウスにおける PI3 キナーゼ阻害による抗リウマチ効果を検討した。PI3 キナーゼ阻害薬が、関節炎モデルマウスにおいて明らかな副作用なく関節炎を抑制し、関節リウマチ治療に有用である可能性があること等が明らかになった。

A. 研究目的

早期リウマチ診断に有用な遺伝子に関する研究

関節リウマチ(RA)は、早期から積極的に抗リウマチ薬を使用することによって軟骨・骨破壊を防ぐことが必要であり、早期診断の重要性はこれまで以上に高まっている。そこで、リウマチを専門としない医師が専門医に紹介するかどうかの判断材料として使用するのに適当な診断試薬が発達すると、より効率的に早期診断が可能になると考えられる。以上のことから、早期 RA の診断に有用な DNA 診断チップを作製することを目的とした。

RA 患者における MTX の CD4 陽性 T 細胞上の SLAM 発現とサイトカイン産生に対する影響に関

する研究

SLAM は Th1 サイトカインである IFN- γ の産生の調節に関与していることが知られている。本研究では、RA 患者の CD4 陽性 T 細胞上の SLAM 発現およびサイトカイン産生における MTX の影響について検討した。

ホスファチジルイノシトール3キナーゼ阻害による関節炎制御に関する研究

PI3 キナーゼ阻害薬の抗リウマチ作用を検討するため、コラーゲン誘発性関節炎モデルマウスに新しい PI3 キナーゼ阻害薬である ZSTK474 を投与し、関節炎抑制効果を検討した。また、PI3 キナーゼ阻害薬の作用について *in vitro* での解析を行った。

B.研究方法

早期リウマチ診断に有用な遺伝子に関する研究

初診時に RA が強く疑われ、初診時から6ヶ月後に RA の診断が確定した患者の末梢血リンパ球の遺伝子プロファイルを、関節痛を主訴として来院したが、RA の可能性が低いと判断され、その後も RA と診断されなかった症例、変形性関節症と診断された症例、健常人と比較し、発現に優位に差がある遺伝子を DNA マイクロアレイを用いて網羅的に抽出する。検体は、全血から total RNA を調整し、マイクロアレイは、Affimetrix 社の Human Genome U133Plus2 を用い解析した。

RA 患者における MTX の CD4 陽性 T 細胞上の SLAM 発現とサイトカイン産生に対する影響に関する研究

RA 患者 18 例、健常人 20 例の末梢血単核球を PHA で刺激後、MTX 存在下 ($0.01 \mu\text{M}$) または非存在下で 48 時間培養し、培養前後の細胞内及び、細胞表面上の SLAM 発現を、フローサイトメトリーを用いて解析した。細胞内 IFN- γ , IL-4 の発現量の解析の場合には培養 40 時間後に Brefeldin A ($1 \mu\text{g/ml}$) を添加した。

ホスファチジルイノシトール3キナーゼ阻害による関節炎制御に関する研究

コラーゲン誘発性関節炎モデルマウスに新たに合成されたトリアジン系化合物である PI3 キナーゼ阻害薬(ZSTK474)を投与し、その効果を検討し、関節炎スコアおよび関節の病理所見を評価し、関節炎抑制効果を検討した。さらに、in vitro にてヒト関節リウマチ患者由来の滑膜細胞増殖、破骨細胞誘導への ZSTK474 の影響を platelet-derived growth factor (PDGF)で刺激し添加の影響を検討した。

(倫理面への配慮)

検体の採取は、倫理委員会の承諾の後に、患者から文書によるインフォームド・コンセントを得て行った。

IFN- γ /IL-4 ratio(%)

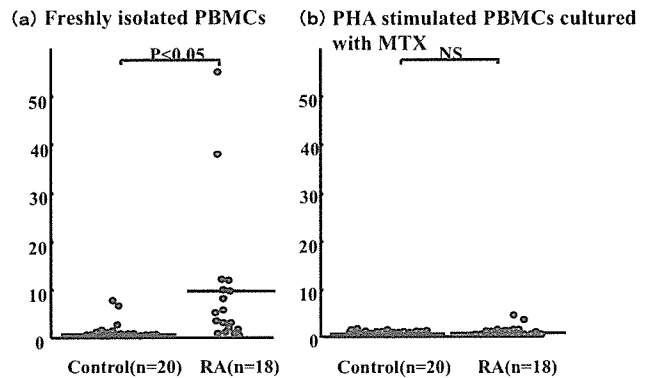


図1. 細胞内 IFN- γ /IL-4 比

C.研究結果

早期リウマチ診断に有用な遺伝子に関する研究

RA 9 例、健常人 7 名を比較したところ、RA 末梢血で健常人と比較して 2 倍以上に上昇していた遺伝子は、急性期反応性蛋白や赤血球系遺伝子、またシグナル抑制因子などの遺伝子であった。また、RA 末梢血で健常人と比較して 2 倍以上に減少していた遺伝子は、370 遺伝子以上あり、シグナル伝達に関与する分子、細胞接着に関与する分子、細胞内の vesicle transport に関する遺伝子、細胞周期に関する遺伝子であり、他の臓器特異的自己免疫疾患(多発性硬化症など)でみられたものとは、著しく異なる遺伝子プロファイルを示した。

RA 患者における MTX の CD4 陽性 T 細胞上の SLAM 発現とサイトカイン産生に対する影響に関する研究

細胞内 IFN- γ , IL-4 の発現および IFN- γ / IL-4 比は健常人と比較して RA 患者において有意に高く、MTX 存在下で低下した(図1)。培養前の CD4 陽性 T 細胞上の SLAM 発現量は健常人と RA 患者で有意差を認めなかったが、RA 患者において SLAM 陽性 CD4 陽性 T 細胞質内 IFN- γ , IL-4 の発現量は有意に MTX 存在下で低下した(図2)。

ホスファチジルイノシトール3キナーゼ阻害による関節炎制御に関する研究

コラーゲン誘発性関節炎モデルマウスにおいて、ZSTK474 100mg/kg 投与群では、明らかに関節炎の抑制が認められた。病理学的にも炎症細胞浸潤、滑膜増殖および軟骨・骨破壊の抑制

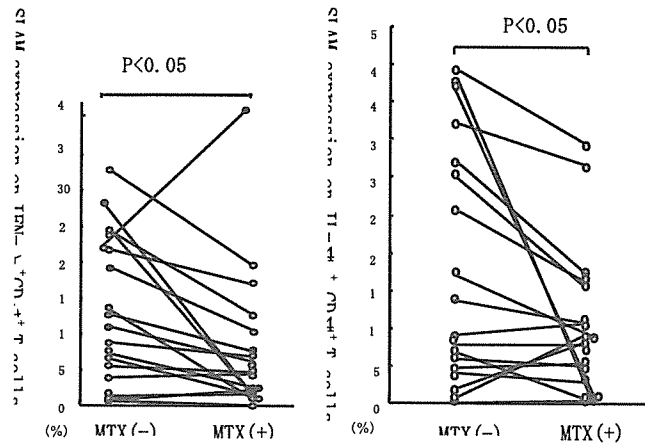


図2. SLAM 陽性細胞質内 IFN- γ 、IL-4 の発現

が認められた(図3)。投与群で、抗コラーゲン抗体価の有意な低下は認められなかった。投与群で体重減少や重篤な臓器障害は認められなかった。滑膜細胞を PDGF で刺激時に ZSTK474 を添加したところ、細胞数の減少が認められた(図4)。さらに、ZSTK474 による PI3 キナーゼ阻害により、破骨細胞誘導の抑制が認められた。

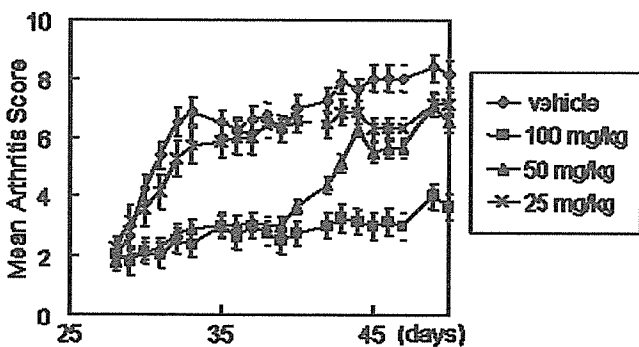


図3. 関節炎モデルにおける ZSTK474 の効果

D. 考察

早期リウマチ診断に有用な遺伝子に関する研究
 早期 RA でみられた遺伝子プロファイルは他の臓器特異的自己免疫疾患とは異なったものの、変

形性関節症などの他の関節疾患と区別しうる特異的なものを検討することが重要と考えられた。今後、さらに廉価で解析できるシステムの開発が必要であり、特異的な遺伝子数が限られたものであれば、蛋白質発現を簡易に測定できるチップの開発がコスト的には実現性が高いと思われる。

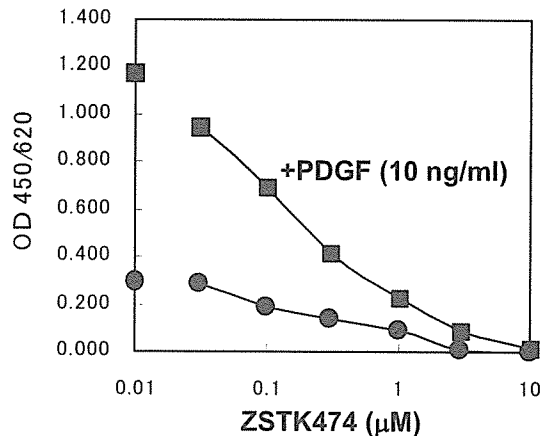


図4. PI3 キナーゼ阻害による滑膜細胞増殖抑制

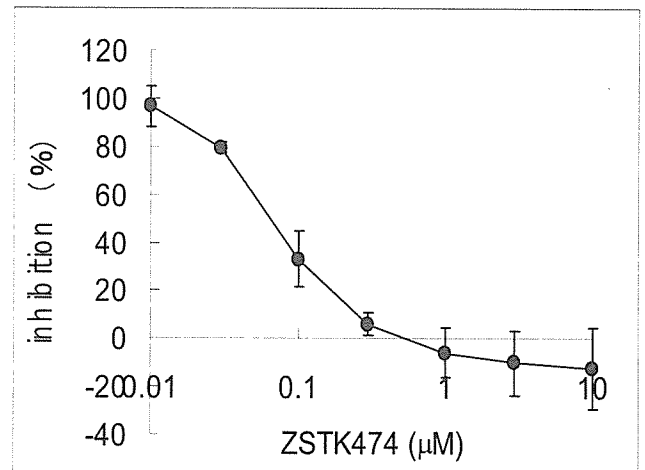


図5. ZSTK474 阻害によるT細胞増殖抑制

RA 患者における MTX の CD4 陽性 T 細胞上の SLAM 発現とサイトカイン産生に対する影響に関する研究

MTX の作用点は解明されていないが、MTX が Th1/Th2 バランスを是正することにより、その作用を発現するという報告がある。SLAM 発現に

おける MTX の効果が T 細胞の活性化抑制によるものか、SLAM 特異的なものかを今後解明する必要があるが、本研究より MTX が SLAM を介し、サイトカイン産生経路に作用している可能性が示唆された。

ホスファチジルイノシトール3キナーゼ阻害による関節炎制御に関する研究

PI3 キナーゼ阻害により関節炎は抑制がみられたことから、PI3 キナーゼの関節炎の病態形成への関与が考えられた。抗コラーゲン抗体価は投与群・非投与群で差がなかったことから、その抑制機序については T 細胞あるいは関節滑膜への作用などが推察された。PI3 キナーゼ阻害において、サブタイプ特異的な阻害薬を用いることにより副作用の軽減がはかれる可能性があるが、滑膜細胞や破骨細胞に対する直接的な効果は期待できない。本研究で用いられた ZSTK474 はサブタイプ非特異的な阻害薬であるが、重篤な副作用もマウスでは認められなかった。今後は、病態に応じてサブタイプ特異的あるいは非特異的な阻害を試みることにより、その時点での病態に効果があり、より副作用が少ない治療を選択できる可能性が考えられた。

E. 結論

早期 RA では、他の臓器特異的自己免疫疾患とは異なる遺伝子の発現の上昇や減少がみられ、疾患特異的マーカーとなる可能性が示された。

また、RA 患者において MTX は活性化 CD4 陽性 T 細胞上の SLAM を経て末梢血中 IFN- γ 及び IL-4 の産生を抑制している可能性が示唆された。最後に、PI3 キナーゼ阻害薬 ZSTK474 は、コラーゲン誘発性関節炎を抑制し、RA 治療薬として有用である可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Zhong B, Tajima M, Takahara H, Nochi H,

Tamoto K, Tamura N, Kobayashi S, Tamura Y, Ikeda M, Akimoto T, Yoshino S, Hashimoto H. Inhibitory effect of mizoribine in matrix metalloproteinase-1 production in synovial fibroblasts and THP-1 macrophages. Mod Rheumatol 15:264-268, 2005.

2) Morita Y, Fukazawa T, Hirashima M, Kaga K, Kusaoi M, Morita T, Touyama S, Morita K, Takasaki Y, Hashimoto H: The effect of methotrexate (MTX) on expression of signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) in patients with rheumatoid arthritis (RA) and its role in regulation of cytokine production. Scand J Rheumatol 35:268-272, 2006.

2. 学会発表

1) 守田優子, 深沢徹, 平島美賀, 加賀薫, 頭山尚子, 草生真規雄, 守田貴浩, 橋本博史. MTX のサイトカイン産生に与える影響: SLAM との関連解. 日本免疫学会総会 34:159, 2004, 札幌.

2) 守田優子, 深沢徹, 平島美賀, 加賀薫, 頭山尚子, 草生真規雄, 守田貴浩, 橋本博史. MTX の Th1 細胞における作用機序 signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) との関連解析. 第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2004, 岡山.

3) 秋元智博, 小林茂人, 田嶋美智子, 春田和彦, 田村直人, 池田真, 多田久里守, 鐘彬彬, 橋本博史: 悪性関節リウマチ由来免疫複合体による好中球 L- セレクチン shedding の機序解析. 第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2004, 岡山.

4) 田村直人, 李鍾碩, 戸叶嘉明, 小林茂人, 橋本博史. リウマチ性疾患治療中のニューモシスチス・カリニ肺炎合併例についての検討. 第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2004, 岡山.

5) 田嶋美智子, 田村直人, 池田真, 多田久里須, 小林茂人, 橋本博史: MAP kinase 阻害剤のラット破骨細胞分化誘導におよぼす影響についての検討. 第 49 回日本リウマチ学会総

- 会・学術集会, 2005, 横浜.
- 6) 田村直人, 春田和彦, 小林茂人, 橋本博史:
ホスファチジルイノシトール3キナーゼ阻害剤
の関節炎モデルに対する抑制作用. 第50回
日本リウマチ学会総会・学術集会, 2006, 長
崎.
- 7) Tamura N, Haruta K, Tohyama S, Mori S,
Kobayashi S, Yamaguchi S, Yamori T,
Takasaki Y. Anti-rheumatic effect of
ZSTK474, a novel phosphoinositide 3-kinase
inhibitor. *Arthritis Rheum* 54(suppl):s413,
American College of Rheumatology, 2006

Annual Scientific Meeting, 2006, Washington
DC, USA.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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

関節リウマチ患者におけるインフリキシマブの治療反応性の予測に関する研究

分担研究者 伊藤 聡 筑波大学大学院人間総合科学研究科
先端応用医学専攻臨床免疫学 講師

研究要旨

インフリキシマブを使用した患者の1年後の状態を評価し、1)臨床的な有効群と無効群(研究1)、2)手足のX線で判断した関節破壊進行群と非進行群(研究2)で、インフリキシマブ使用前と2週後の臨床症状、検査成績等を比較した。研究1: AU-rich element binding proteinの遺伝子発現がTNF α の遺伝子発現に影響を与える可能性が示唆され、高TIA-1/HuR比がインフリキシマブの有効性と相関する可能性が考えられた。研究2: 進行群、非進行群ともに、2WでESR、MMP-3、腫脹関節数、関節点数、医師VAS、患者疼痛評価、患者全般評価が改善していた。しかし、進行群では、RF、圧痛関節数、HAQの改善は認められなかった。非進行群では、2WでTTP/HuRが有意に低下し、TIA-1/TNF α が有意に上昇していた。また、1例ではインフリキシマブ使用前後にコンパクトMRIによる評価を行なったところ、骨びらんが明らかに改善していた。インフリキシマブはある程度骨破壊を防いでいる可能性があること、投与初期の反応性で1年後の反応性や骨破壊の進行を予測できる可能性があることが明らかになった。

A.研究目的

インフリキシマブの有効例と無効例を、1)臨床的な反応性について2)関節破壊の進行について、インフリキシマブ使用前の所見、使用2週後の所見で予測が可能であるかを検討する。

B.研究方法

研究1:インフリキシマブ使用患者の臨床的反応性についての研究。

Tristetraprolin (TTP)、T cell intracellular antigen-1 (TIA-1)、Hu antigen R (HuR)はTNF- α mRNAの3'非翻訳領域にあるadenine-uridine rich element (AU-rich element)に結合し、TNF- α の転写後制御をする蛋白質(AU-rich element binding protein: ABP)である。TTPはmRNAの分解の促進、TIA-1は翻訳の抑制として働く一方で、

HuRはmRNAを安定化させることが知られている。インフリキシマブの有効性とABP発現について検討した。インフリキシマブ治療を受けたRA患者38例の0週、2週、54週の末梢血単核球(PBMC)よりmRNAを合成し、TNF- α 、TTP、TIA-1およびHURの遺伝子発現を定量PCR法により測定した。20人の健常人のPBMCをコントロールとした。また、ELISAを用いて血中抗glucose-6-phosphate isomerase (GPI)抗体を測定した。抗GPI抗体は、ヒトGPI抗原、ラビットGPI抗原を用いた系の両方で陽性のものを、真の陽性と判断した。

研究2:インフリキシマブ使用患者の関節破壊についての研究。

インフリキシマブを使用し、54週(1年後)を経過した25例(男性10例、女性15例)のRA患者の、手、足のX線を評価し、骨破壊の

進行について放射線科医の診断を基に検討した。放射線科医は、インフリキシマブ使用患者であることは知らされているが、臨床症状や検査データは知らされずに診断を行った。その後も半年おきに評価し、最長2年半まで追跡した。平均年齢は 52.2 ± 12.1 才、平均罹病期間は 9.6 ± 6.3 年、Steinbrocker の Stage, Class の平均は、それぞれ 2.8 ± 1.0 、 1.9 ± 0.9 であった。1年後の ACR 改善率は、0: 9例 (36.0%)、20: 5例 (20.0%)、50: 4例 (16.0%)、70: 7例 (28.0%) であった。1年後に X 線上骨びらの進行を認めた6例 (関節破壊進行群) と、進行を認めなかった19例 (関節破壊非進行群) で、インフリキシマブ使用前(0W)、使用后2週目(2W)での臨床症状、検査成績を比較し、使用初期の状態での1年後の骨破壊を予測できるかを検討した。また、末梢血単核球中 TNF- α 、TTP、TIA-1、HuR の遺伝子発現を 0W、2W で測定し、同様に、関節破壊進行群と、非進行群で比較した。2) 1例については、筑波大学附属病院の外来に設置したコンパクト MRI を用いて、インフリキシマブ使用前、6回使用后 (30 週後) に両手を撮像した。

(倫理面への配慮)

研究計画は筑波大学倫理委員会の承認を得た。患者には研究計画を口頭と文書で説明し、文書による同意を得た。

C. 研究結果

研究 1: 38 例のうち、54 週まで治療を継続したものは 27 例であり、ACR20 18 例 (66.7%)、ACR50% (51.9%)、ACR70 8 例 (29.6%) であった。インフリキシマブ投与前の TTP および HuR 遺伝子発現および TTP/TNF- α ($p < 0.0001$)、TTP/HuR ($p < 0.0001$) および TIA-1/TNF- α 遺伝子発現比 ($p = 0.014$) は、RA 患者で健常人に比較して有意に低値であった。一方で、TNF- α ($p < 0.0001$)、TIA-1 ($p < 0.0005$) と TIA-1/HuR 比 ($p < 0.0001$) は RA 患者で有意に高値であった (図 1)。

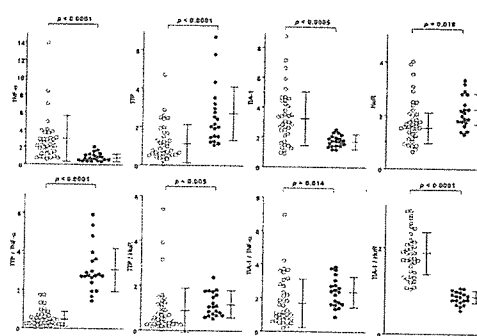


図1 インフリキシマブ投与前のABP遺伝子発現 (○RA群 ●健常人)

RA 患者と健常人双方で TNF- α と TTP、TNF- α と TIA-1、TIA-1 と HuR および TNF- α と HuR との間には有意な正の相関が認められた。インフリキシマブ投与 54 週において、TNF- α ($p = 0.015$) と TIA-1/HuR 比 ($p = 0.010$) が投与前に比較して有意に上昇した。54 週で ACR50 を達成した有効群と ACR20 を達成できなかった無効群との間で、インフリキシマブ投与前の TIA-1/HuR 遺伝子発現比が高い傾向にあった ($p = 0.059$) (図 2)。抗 GPI 抗体は、無効群 1 例でのみ陽性であった。

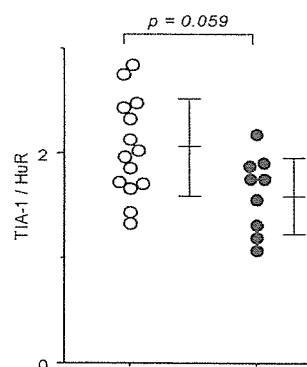


図2 有効群無効群のインフリキシマブ投与前の遺伝子発現比の比較 (○有効群、●無効群)

研究 2: 手足 X 線の変化

右手では、半年後、1 年後、1 年半後、2 年後、2 年半後にそれぞれ 21/25 例 (84.0%)、21/25 例 (84.0%)、8/11 例 (72.7%)、4/8 例 (50.0%)、2/6 例 (33.3%) で進行を認めなかった (図 3 a)。左手の進行も全く同じ%であった。1 年半後では、進行のない 8 例のうち、1 例は改善と判

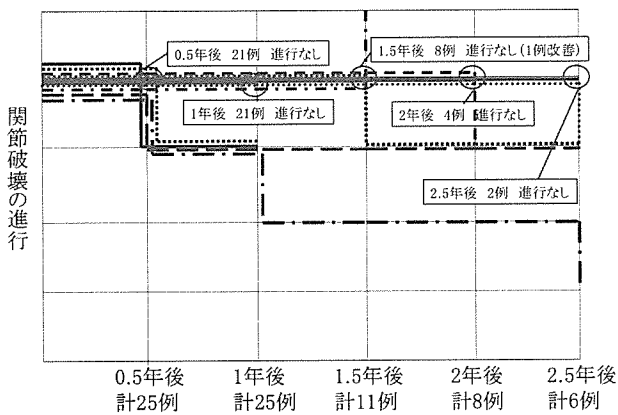


図3a 右手X線での骨破壊の進行

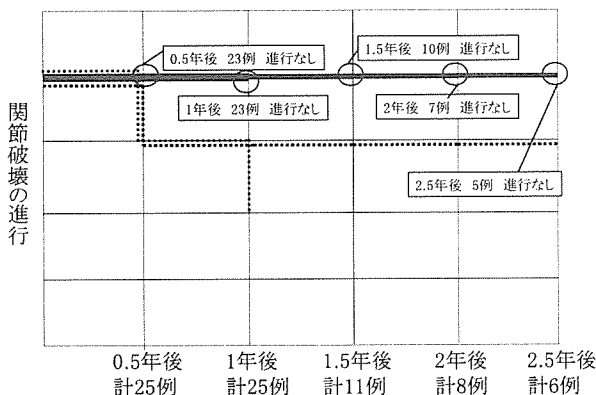


図3b 右足X線での骨破壊の進行

断されていた。右足では、半年後、1年後、1年半後、2年後、2年半後にそれぞれ 23/25 例 (92.0%)、23/25 例 (92.0%)、10/11 例 (90.9%)、7/8 例 (87.5%)、5/6 例 (83.3%) で進行を認めなかった (図 3b)。左足では、半年後、1年後、1年半後、2年後、2年半後にそれぞれ 22/25 例 (88.0%)、22/25 例 (88.0%)、8/11 例 (72.7%)、6/8 例 (75.0%)、4/6 例 (66.7%) で進行を認めなかった。両手足でまったく進行のない症例は、半年後、1年後、1年半後、2年後、2年半後にそれぞれ 19/25 例 (76.0%)、19/25 例 (76.0%)、10/11 例 (90.9%)、2/8 例 (25.0%)、0/6 例 (0%) であった。1年後に X 線上骨びらんの進行を認めた 6 例の ACR 改善率は、ACR 0: 1 例、ACR 20: 1 例、ACR 50: 3 例、ACR 70: 1 例であった。研究期間中 1 例が右股関節の関節置換術

を施行されていたが、インフリキシマブ使用前にすでに関節は破壊されていた。関節破壊進行群と、非進行群では、年齢、罹病期間、Stage、Class、プレドニゾロンや MTX の使用量に差はなかった (表 1)。

表1 関節破壊進行群と非進行群の比較

	関節破壊非進行群 19例 (M 8, F 11)	関節破壊進行群 6例 (M 2, F 4)	
年齢(歳)	49.9 ± 12.7	59.3 ± 6.7	ns
罹病期間(年)	9.5 ± 5.6	8.5 ± 8.7	ns
Stage	3.0 ± 1.0	2.2 ± 1.0	ns
Class	1.9 ± 1.0	1.7 ± 0.8	ns
PSL量(mg/day)	8.1 ± 6.3	8.5 ± 2.5	ns
MTX量(mg/week)	6.9 ± 4.3	8.3 ± 4.9	ns

進行群、非進行群ともに、2W で ESR、MMP-3、腫脹関節数、関節点数、医師 VAS、患者疼痛評価、患者全般評価が改善していた。しかし、進行群では、RF、圧痛関節数、HAQ の改善は認められなかった。非進行群では、2W で TTP/HuR が有意に低下し、TIA-1/TNF α が有意に上昇していた。

○2. コンパクト MRI での骨病変の評価

52歳女性、罹病期間2年、Stage 2、Class 1。初診時の DAS28 は 4.18 で、その後プレドニゾロン 10mg/日、SASP 1g/日、MTX 10mg/週、でも活動性が高く、腫脹関節数 4、疼痛関節数 1、DAS3.73 の時点でインフリキシマブの導入となった (図 4a)。

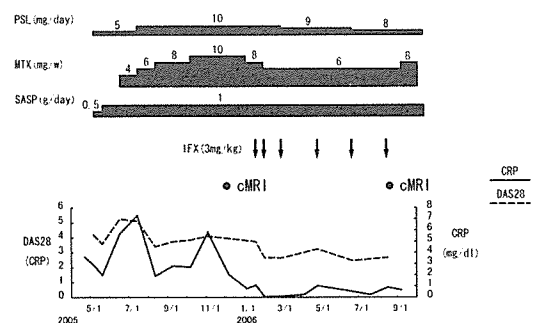


図4a コンパクトMRIで評価した症例の臨床経過

これまでにインフリキシマブを 6 回投与して

おり、CRP は 1mg/dl 前後で推移し、DAS28 は 2 の後半から 3 前後で経過している。DAS28 の変化は 1.5 程度で、moderate responder である。半年後の手足単純 X 線評価では、骨病変の進行は認めなかった。この症例はインフリキシマブ使用から 1 年を経しておらず、前述の手足単純 X 線評価の研究には含まれていない。投与前に右第 1・4CM 関節、左第 1・2CM 関節に骨びらんを認めたが、投与後改善を認めた(図 4b, c)。

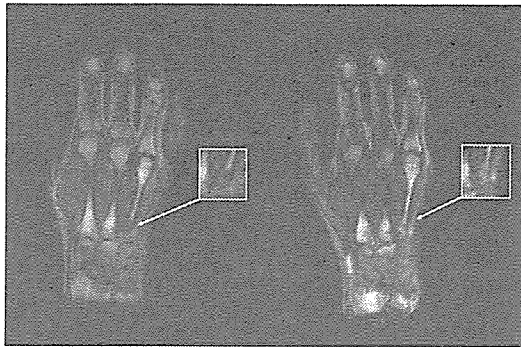


図4b コンパクトMRIでの右手の変化
T1強調画像。インフリキシマブ開始前は右第1,4中手骨に骨びらんを認めているが、インフリキシマブ投与後は骨修復が認められている。

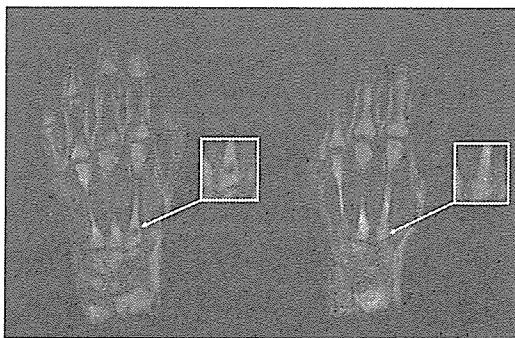


図4c コンパクトMRIでの左手の変化
T1強調画像。インフリキシマブ開始前は左第1,2中手骨に骨びらんを認めているが、インフリキシマブ投与後は骨修復が認められている。

D. 考察

研究 1:

健常人に比較して RA において TTP の遺伝子発現が低いことは、TNF- α の安定性が RA の発症や症状の悪化に関与している可能性が考えられた。TNF- α および ABP の間には様々な相関関係があり、互いの発現に共通の機構がはたらいっているか、あるいは相互に影響し合っ

ている可能性が示唆された。有効群においてインフリキシマブ投与前の TIA-1/HuR 比が高い傾向にあり、TNF- α mRNA の安定性が低いものにおいてインフリキシマブがより有効である可能性が考えられた。今後、54 週後の TNF- α 発現の高低がそれ以後インフリキシマブを中止できるかどうかの指標となる可能性が考えられる。

研究2: 今回の研究では、インフリキシマブ導入のため他院から紹介された患者が多く、また当院通院中に導入した患者も導入前の定期的な X 線を撮影しておらず、導入前後の骨破壊の速度の比較は不可能であった。しかし、手足に限っては、インフリキシマブはある程度骨破壊を防いでいる可能性が示唆された。1 年後の ACR 改善率と骨破壊の進行には明確な関係は認められない可能性があるが、投与初期の反応性で 1 年後の骨破壊の進行を予測できる可能性があると思われた。今回の研究は手足のみに注目したが、今後大関節(荷重関節)も評価した研究が必要であると思われる。また、インフリキシマブ導入症例全例を今後コンパクト MRI を用いて撮像し、骨破壊の抑制、改善を評価する予定である。

E. 結論

1) ABP の遺伝子発現が TNF α の遺伝子発現に影響を与える可能性が示唆された。高 TIA-1/HuR 比がインフリキシマブの有効性と相関する可能性が考えられた。2) 手足に限っては、インフリキシマブはある程度骨破壊を防いでいる可能性がある。また、投与初期の反応性で 1 年後の骨破壊の進行を予測できる可能性があると思われた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tomoo T, Tsutsumi A, Yasukochi T, Ikeda T, Ochiai N, Ozawa K, Shibanaka Y, Ito S,