

リウマチ性疾患の治療中に併発したニューモシスチス肺炎の早期診断と1次予防基準作成に関する研究

分担研究者 田中 良哉 産業医科大学医学部第1内科学講座 教授

研究協力者 齋藤 和義 産業医科大学医学部第1内科学講座 助教授

研究要旨 生物学的製剤や新規抗リウマチ薬は、高い臨床的有用性をもつが、その一方で併発する感染症への対策が遅れている。特に、ニューモシスチス肺炎(PCP)は時に致命的となる重要な合併症であるにもかかわらず診断法・1次予防基準が不十分である。今回、誘発喀痰を検体としたPCPのDNA診断を確立し、高い検出率、特異性および迅速性などにおける有用性を確認した。さらに、本法にてリウマチ性疾患に併発するPCPの臨床的特徴を再評価の上、発症リスクとして①PSL換算1mg/kg以上または②PSL換算0.5mg/kg以上かつ免疫抑制薬併用、かつ③リンパ球400/mm³あるいは④IgG700mg/dl以下を抽出した。1997年～2002年に策定した1次予防基準該当者168例にST合剤による予防を施行したところ、1次予防が実施されていた66例からのPCP発症は皆無だったが、非施行症例102例から19例が発症した。さらに、2003年以降、該当症例150例全例に1次予防を実施し、ST合剤に対する不耐例でペンタミジン吸入施行していた1例を除きPCP発症は完全に抑止し得た。しかし、同基準に該当しない関節リウマチ(RA)4例(2例はTNF阻害療法、1例はレフルノミド、タクロリス)でPCPが確認された。したがって、RAを除くリウマチ性疾患では上記1次予防基準に準じた予防が立証された一方、RAにおけるPCP発症予防に関しては、他のリウマチ性疾患と分別した新たな1次予防基準の設定が急務と考えられ、そのためには全国規模での発症症例の詳細な検討が不可欠であると考えられた。

A. 研究目的

膠原病・リウマチ性疾患に対する生物学的製剤や新規抗リウマチ薬の台頭は、画期的な治療効果を齎したが、同時に、免疫抑制による日和見感染症の問題がクローズアップされてきた。本邦でもRAに対して2003年7月より抗TNF α 抗体インフリキシマブが保険収載された。この際に、結核発症に関しては、多くの専門家により精力的に対策が練られ、1次予防基準が提唱された。これにより、該当症例に適切な1次予防を施行することにより、ほぼ完全に結核の発症は抑止しえた。一方、インフリキシマブの市販後全例調査の結果が示すように、代表的な日和見感染症であるニューモシスチス肺炎(PCP)の発症(0.4%)に関しては、結核(0.3%)よりも高頻度であるにも関わらず、早期診断・治療に関する対策が著しく立ち遅れていることが明らかにされた。診断法のみならず、1次予防基準は確立されておらず、また、1

次予防基準設定に必要なRA患者におけるPCP発症患者の背景に関する十分な検討さえなされていない。

本研究では、リウマチ性疾患に対する抗リウマチ薬・生物製剤療法施行時に併発するPCPに関して、

- 1) PCPの早期・特異的DNA診断法を確立し、新たな診断基準を策定する。
- 2) PCP発症患者の患者背景を解析し、臨床的特徴を明確にする。
- 3) それらの情報を基に、1次予防基準を設定する。
- 4) 1次予防法を提唱・実践し、予防効果と1次予防基準の問題点を検証する事を目的とする。

B. 研究方法

リウマチ性疾患加療中に、①乾性咳嗽、労作時息切れ、発熱、②進行性低酸素血症、③胸写・胸部CTにて特徴的な間質影を呈し、臨床的にPCPが強く疑われた

症例に誘発喀痰(2%食塩水 10ml をネブライザーで吸入後、採取した喀痰)を採取して DNA を調整。PCR 法にて 124bp の特異的バンドとして検出した。さらに、その患者背景からリウマチ性疾患における PCP 発症の危険因子を抽出し、①PSL 換算 1mg/kg 以上または②PSL 換算 0.5mg/kg 以上かつ免疫抑制薬併用、かつ③リンパ球 400/mm³ あるいは④IgG 700mg/dl に該当する症例に 1 次予防を施行し、その有効性・問題点を検証した。

(倫理面への配慮)

臨床検体を使用する場合には、所属機関の倫理委員会、或は、IRB で承認を得た研究に限定し、患者からインフォームドコンセントを得た上で、倫理委員会の規約を遵守し、所属機関の現有設備を用いて行う。患者の個人情報が入属機関外に漏洩せぬよう、試料や解析データは万全の安全システムをもって厳重に管理し、人権擁護に努めると共に、患者は、経済的負担を始め如何なる不利益や危険性も被らない事を明確にする。

C. 研究結果

(1) PCP の早期・特異的 DNA 診断法の確立

リウマチ性疾患加療中に、①乾性咳嗽、労作時息切れ、発熱、②進行性低酸素血症、③胸写・胸部CTにて特徴的な間質影を呈し、臨床的に PCP が強く疑われた 59 症例に誘発喀痰を採取し、DNA 診断法を施行した。30 例(SLE 9、PM/DM 7、RA 3、など)が PCP と診断された。本法による検出率は 52%で鏡検診断(4.5%)に比し高い検出率を示した。喀痰収集から最短 8 時間で検出可能であった。また、保存検体での検討では少なくとも 5 日間冷蔵保存された検体で検出可能であった。慢性閉塞性疾患や正常人等 15 名の検体では、陰性であった。陽性例では、ST 合剤治療開始後 2 週間以内に臨床的改善と共に DNA は陰性化した。

(2) PCP 発症者背景と1次予防

一方、血清 β -D-glucan は本検討においても PCP 陽性群で異常高値を示したが、3 例において発症早期には、正常上限にとどまり、極早期には陰性である可能性があることに注意を要する。

一方、同じ日和見感染症であり、急速進行性間質性肺炎の臨床像を呈することのある、サイトメガロウイルス

の抗原血症を C7HRP 法で検討した。PCP が疑われ、DNA 診断を施行した患者のサイトメガロウイルス抗原血症陽性 12 例中 10 例が PCP 陽性も陽性であった。また、PCP での死亡症例に関する臨床検査値の検討では、発症時 β グルカン値 ($p < 0.01$)、C7-HRP 値 ($p < 0.05$) が死亡に有意に関与していたことより、この 2 項目は予後因子として重要であると考えられた。

前述の 1 次予防基準に該当する症例への ST 合剤による 1 次予防を実践した。1997 年～2002 年に 1 次予防基準該当症例数をレトロスペクティブに検討したところ 168 例で、このうち 1 次予防が実施されていたのは 66 例であった。この症例からの PCP 発症は皆無だったが、非施行症例 102 例から 19 例が発症していた。1 次予防基準策定後は、該当症例 150 例全例に 1 次予防を実施しており、ST 合剤に対する不耐例でペンタミジン吸入施行していた 1 例のみが発症した。

(3) 1 次予防基準の問題点 1 次予防基準に該当しない症例よりの PCP 発症は、2 例が TNF 阻害療法、レフルノミド、タクロリムスが各 1 例であった。斯様な症例は、中～大量のステロイドは使用されておらず、設定した 1 次予防基準からはずれていた。従って、RA に関してそのままこの 1 次予防基準を使用することは適切ではないと考えられた。

当科における抗 TNF α 抗体使用例 192 名中 20 名に感染症が認められたが、背景因子の検討により、ステロイド内服(相対危険度 7.7)、血清アルブミン 3g/dl 以下(3.7)、呼吸器疾患の既往(2.7)、糖尿病合併(2.4)、リンパ球数 1000 以下(2.4)、65 歳以上(2.2)などが危険因子として抽出された。3 例で PCP が発症したが、全例 6 つの危険因子中 4 つ以上の危険因子が存在した。尚、1 例は 4 つの危険因子が存在し、主治医の判断で ST 合剤の予防投与を施行していたが、血球減少のため ST 合剤を中止した 3 ヶ月後に PCP を発症していた。

上記 1 次予防基準にて過去 2 年間の該当患者 78 名に ST 合剤の 1 次予防投与を施行したが、計 22 名(28%)に副作用が認められ(皮疹 10 名、肝障害 5 名、発熱 6 名、血球減少 2 名など)同薬の市販後調査における有害事象発現率(10.58%)に比して明らかに高率であった。これらの症例ではペンタミジン吸入への変更を要した。

D. 考察

誘発喀痰を用いたPCPのDNA診断は、簡便、非侵襲的、迅速性(8時間)、感度(鏡検診断の12倍)に優れ、有用性が確認された。30症例中3症例で血清 β -D-glucanが正常上限を呈し、早期症例では β -D-glucan測定の限界とDNA診断の必要性が示唆された。また、PCP感染後の死亡率と β -D-glucanには有意な相関を認めたが、CMV抗原値(C7-HRP)においても相関が認められた。CMV抗原血症陽性は、宿主の低免疫常態を反映することより、重症度を反映する因子として有用であると考えられた。一方、レフルノミドや生物学的製剤使用RA症例では、1次予防基準に該当しないPCP発症が認められ、背景因子の検討により、ステロイド内服、低アルブミン血症、呼吸器疾患の既往、糖尿病合併、リンパ球数低下、65歳以上などの危険因子を複数認める例が発症した。今後、多施設間において、これらの複合的な危険因子を検証すると同時に、RA独自の1次予防基準設定の必要性が示された。また、ST合剤の使用にあつたては、リウマチ症患者では一般的に報告されているST合剤の有害事象の発現率の約3倍であり、また副作用の発現の92%が投与2週間以内に生じており、少なくともこの期間には注意深い経過観察が必要である。

E. 結論

誘発喀痰を用いたPCPのDNA診断の極めて高い有用性が確認され、殊に、早期症例では β -D-glucan測定の限界とDNA診断の必要性が示された。また、RA以外のリウマチ性疾患では、独自の基準による1次予防によりPCP発症を完全に制御できたが、RA症例では、1次予防基準に該当しないPCP発症が認められた。今後、多施設間における複合的な危険因子のさらなる検証とRA独自の1次予防基準設定の必要性が示された。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tsujimura S, Saito K, Kohno K, Tanaka Y. Fragmented hyaluronan induces transcriptional up-regulation of the multidrug resistance-I gene in CD4+ T cells. *J Biol Chem* (2006) 281, 38089-97
2. Tanaka Y, Tokunaga M. Rituximab reduces both quantity and quality of B cells in SLE. *Rheumatology* (2006) 45: 122-123
3. Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Miyamoto T, Aoki K, Takase K, Henzan H, Himeji D, Koyama T, Miyake K, Inoue Y, Nakashima H, Otsuka T, Tanaka Y, Nagasawa K, Harada M. A phase I-II trial of autologous peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of refractory autoimmune disease. *Ann Rheum Dis* (2006) 65: 508-514
4. Fujii Y, Fujii K, Iwata S, Suzuki K, Azuma T, Saito K, Tanaka Y. Abnormal intracellular distribution of NFAT1 in T lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus and characteristic clinical features. *Clin Immunol* (2006) 119: 297-306
5. Wang B, Tsukada J, Higashi T, Mizobe T, Matsuura A, Mouri F, Sawamukai N, Ra C, Tanaka Y. Growth suppression of human mast cells expressing constitutively active c-kit receptors by JNK inhibitor SP600125. *Genes Cells* (2006) 11, 983-992
6. Nakano K, Saito K, Mine S, Matsushida S, Tanaka Y. CD44 signaling up-regulates Fas Ligand expression on T cells leading to activation-induced cell death. *Apoptosis* (2007) 12, 45-54
7. Yamanaka H, Tanaka Y, Sekiguchi N, Inoue E, Saito K, Kameda H, Iikuni N, Nawata M, Amano K, Shinozaki M, Takeuchi T. Retrospective clinical study on the notable efficacy and related factors of infliximab therapy in a rheumatoid

- arthritis management group in Japan (RECONFIRM). *Mod Rheumatol* (2007)17, 28-32
8. Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Tanaka Y. Relevance of multidrug resistance 1 and P-glycoprotein to drug resistance in patients with systemic lupus erythematosus. *Histol Histopathol* (2007) 22, 465-468
 9. Tokunaga M, Saito K, Kawabata D, Imura Y, Fujii T, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, Iwata S, Azuma T, Mimori T, Tanaka Y. Efficacy of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving the central nervous system. *Ann Rheum Dis* (in press)
 10. Nakano K, Okada Y, Saito K, Tanikawa R, Sawamukai N, Sasaguri Y, Kohro T, Wada Y, Kodama M, Tanaka Y. Rheumatoid synovial endothelial cells produce macrophage-colony stimulating factor leading to osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* (in press)
 11. Nakayamada S, Saito K, Nakano K, Tanaka Y. β 1 integrin transduces an activation signal in T cells of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* (in press)
 12. Tanaka Y. B cell-targeting therapy using anti-CD20 antibody rituximab in inflammatory autoimmune diseases. *Internal Medicine* (in press)
2. 学会発表
1. 田中良哉. 炎症性免疫疾患に対する抗 CD20 抗体療法. 第 103 回日本内科学会(シンポジウム)横浜. 平成 18 年 4 月 14-16 日
 2. 田中良哉. MTX は関節リウマチ治療の基本です. 第 50 回日本リウマチ学会総会・学術集会(ランチョン教育講演)長崎. 平成 18 年 4 月 23-26 日
 3. 田中良哉. B 細胞の CD20 をターゲットとしたリウマチ性疾患の治療戦略. 第 50 回日本リウマチ学会総会・学術集会(シンポジウム)長崎. 平成 18 年 4 月 23-26 日
 4. 田中良哉, 山本一彦, 竹内勤, 西本憲弘, 宮坂信之, 住田孝之, 三森経世, 小池隆夫. 全身性エリテマトーデスを対象とした抗 CD20 モノクローナル抗体リツキシマブの臨床第 I / II 相試験(中間報告). 第 50 回日本リウマチ学会総会・学術集会(シンポジウム)長崎. 平成 18 年 4 月 23-26 日
 5. 田中良哉. 全身性エリテマトーデス. 第 27 回日本炎症・再生学会(シンポジウム)東京. 平成 18 年 7 月 11 日~7 月 12 日
 6. 田中良哉. 治療抵抗性 SLE の免疫抑制薬療法. 第 27 回日本炎症・再生学会(シンポジウム)東京. 平成 18 年 7 月 11 日~7 月 12 日
 7. 田中良哉. 生物学的製剤による関節リウマチ治療のパラダイムシフト. 第 27 回日本炎症・再生学会(ランチョン教育講演)東京. 平成 18 年 7 月 11 日~7 月 12 日
 8. 田中良哉. 自己免疫疾患に伴う全身の臓器障害とその克服. 第 34 回日本臨床免疫学会総会(シンポジウム)東京. 平成 18 年 10 月 1-2 日
 9. 田中良哉. 関節リウマチに於ける寛解を目指した新しい治療戦略. 第 34 回日本臨床免疫学会総会(シンポジウム)東京. 平成 18 年 10 月 1-2 日
 10. 田中良哉. 生物学的製剤は中止可能か. 第 21 回日本臨床リウマチ学会(シンポジウム)東京. 平成 18 年 11 月 21-22 日
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得
特許取得
1) Fas 抗原発現増強剤(特許出願番号: 特開 2003-171282)
2) Akt シグナル経路の活性化阻害を目的として使用するレフルノミド(特願 2005-81972)
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）
分担研究報告書

関節リウマチにおける結核と悪性腫瘍の発生状況

分担研究者 當間重人（独）国立病院機構相模原病院臨床研究センター リウマチ性疾患研究部部长
研究協力者 千葉実行（独）国立病院機構盛岡病院 リウマチ科医長
研究協力者 吉永泰彦（財）倉敷成人病センターリウマチ膠原病センター センター長

研究要旨：関節リウマチ（RA）治療は、生物学的製剤の登場で大きな変革期を迎えている。生物学的製剤の優れた治療効果については異論のないところであろうが、結核等感染症のリスクは確実に増大すること、また悪性疾患の発生に関してもそのリスク増大が懸念されていることも事実である。本研究班では、RA患者全般と生物学的製剤投与症例における疫学的調査結果を前向き研究と比較検討することにより、生物学的製剤投与に関するガイドラインの作成に寄与することを目的としている。本分担研究では、特に結核と悪性疾患に的を絞って本邦 RA 患者におけるこれら合併症の発生状況を解析し、その情報を提供することにより本研究班全体の目的達成に協力している。

本研究班最終年度（平成 18 年度）までに、2003 年度～2005 年度分のデータベースとして、20 施設から 11982 人年の RA 患者データが収集された。結核の発症が 12 例、悪性疾患の新規発症が 75 例に認められた。RA 患者における結核の SIR (standardized incident ratio: 標準化罹患率) は、男性 RA 患者 SIR=0.91 (95% 信頼区間: 0~2.70)、女性 RA 患者 SIR=6.04 (2.47~9.60) であった。また、悪性疾患全体でみると男性 RA 患者 SIR が 0.91 (0.55~1.27)、女性 RA 患者 SIR が 0.77 (0.54~0.99) であり、一般人口における罹患率とほとんど差異を認めなかったが、女性 RA 患者における悪性リンパ腫の SIR は 5.01 (1.30~8.72) と有意に発生率が高く、他方、女性 RA 患者における大腸癌の SIR は 0.13 (0~0.39) と有意に低い値であった。追跡患者年数の蓄積と各イベントの正確な収集により統計学的解析結果の確度を高めることができています。

生物学的製剤を含め種々の治療介入による RA 診療への影響を検証する必要性が言われている。本分担研究は、そのための基礎データを提供するものである。本研究班の一部として展開されている REAL (新規生物学的製剤使用患者登録システム) がその任を果たすものと期待される。

A. 研究目的

本研究班全体の目的は、関節リウマチ治療における生物学的製剤の位置づけを明らかにするとともに、使用上の留意点を含めたガイドラインを作成することにあると思われる。既存の抗リウマチ薬に比較して各種生物学的製剤の効果に見るべきものがあることは論を待たない。しかしながら結核を始めとする各種感染症の発症、悪性リンパ腫の発症率増加の懸念等、注意すべき問題も多い。本分担研究では、このような有害事象に関する疫学的情報を収集解析することにより、治療に際するインフォームド・コンセントや、これら有害事象のモニタリングや予防法の確立に有用な情報を提供することを目的としている。特に生物学的製剤非投与患者におけるこれら有害事象の発症率を測定しておくことは、生物学的製剤投与患者での発生率を評価するために必須の疫学的研究である。本邦の関節リウマチ患者における各種合併症の標準化罹患率 (SIR: standardized incident ratio) を算出することが、本分担研究の具体的目標である。その結果、研究班全体として「生物学的製剤の適正使用に関するガイドライン」を作成することは、標準的かつより安全な医療の提供に直結する。

本分担研究では特に結核と悪性疾患に的を絞り、本邦 RA 患者におけるこれら合併症の発生状況を調査した。

B. 方法

独立行政法人国立病院機構免疫異常ネットワークリウマチ部門 (iR-net) を中心として組織されている 33 施設に協力を呼びかけ、国立病院等総合情報ネットワーク (HOSPnet) 回線を介して、あるいはオフラインで患者情報を収集した。収集する情報は RA 患者性別、年齢、薬歴、年間における結核及び悪性疾患の発症状況等である。平成 18 年度は、2003 年度・2005 年度までの 3 年間のデータを解析した。

倫理面への配慮：本研究は参加各施設の倫理審査委員会で審議され、承認されたものである。また、厚生労働省及び文部科学省より出された「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」に基づき行われている。すなわち、説明同意文書を用いて患者承諾を得るとともに、患者のプライバシー保護に留意し、データの送信または送付のいずれの場合にも患者氏名等は匿名化され、個人が特定できないようになっている。

C. 結果

2003 年度・2005 年度 3 年間分として、20 施設から RA 患者 11982 人年分のデータが収集された。

①結核の発生状況 (表 1 参照)：2003 年度・2005 年度の 3 年間に 12 症例の発生が見られた。9 例が肺結核、1 例が粟粒結核、1 例が結核性リンパ節炎、1 例が尿路結核であった。集計結果を結核予防会作成

による「性・年齢階級別罹患数（率）」と対比させて性・年齢補正を行って算出した本邦 RA 患者における結核の SIR (standardized incident ratio: 標準化罹患率) は、男 SIR=0.91 (95%信頼区間: 0~2.70)、女 SIR=6.04 (2.47~9.60) であった。本邦女性 RA 患者の結核発症リスクが統計学上有意に高いことが再確認された。

②悪性疾患の発症状況 (表 1 参照) : 2003年度-2005年度の3年間に悪性疾患の発生が75例にみられた。内訳の詳細は表 1 に示す。これらの結果を国立がんセンター発表の「悪性新生物罹患数、罹患率および年齢階級別罹患率」と対比させて性・年齢補正を行って算出した RA 患者における悪性疾患の SIR は、悪性疾患全体でみると男性 RA 患者 SIR が 0.91 (95%信頼区間: 0.55~1.27)、女性 RA 患者 SIR が 0.77 (0.54~0.99) であり、男性 RA 患者では一般人口における罹患率と差異を認めなかったが、女性 RA 患者では初めて発生リスクが低い傾向を示した。女性 RA 患者における悪性リンパ腫合併の高リスク (SIR=5.01: 1.30~8.72)、結腸癌合併の低リスク (SIR=0.13: 0~0.39) は前年度までの結果と同様であった。

D. 考察

日本は、欧米諸国と比較して結核罹患率の高いことが知られている。また、諸外国からの報告で明らかかなように生物学的製剤の投与は RA 患者の結核発症のリスクを増大させることが知られている。本分担研究の3年間に及ぶ疫学調査が明らかにしたことは、本邦 RA 患者における結核罹患率の高さであった。女性 RA 症例の SIR は 6.04 (2.47~9.60) と統計学的有意差をもって高かったのである。理由として、①RA という疾患そのものによるリスク、②投与薬剤によるリスク、などを考えてみたりする訳であるが、真の原因は定かでない。しかしながら、平成 17 年度分担研究報告でも記載したようにインフリキシマブ投与 RA 患者に結核の発症率が高かったという事実を踏まえると、先述の①②に加え、③特に生物学的製剤によるリスク、④結核再燃リスクのある患者に対するチェック及び予防処置の欠如、などに留意する必要がある。今年度、RA 治療薬として本邦で 2 番目に承認された生物学的製剤エタネルセプトについても結核の SIR を算出する予定であったが、平成 19 年 3 月 8 日現在、登録症例の安全情報に関するデータが確定されていなかったため、本報告書には間に合わなかった。いずれにせよ、そのリスクを認識して遅滞なく対処することが最も重要な臨床的対応である。

本研究班で我々が示してきた本邦 RA 患者における結核罹患率は、生物学的製剤登場前夜から過渡期のものであることに意義がある。2003 年 7 月以降、抗リウマチ作用を有する 2 つの生物学的製剤が承認され治療に用いられるようになった。今後も、数多くの生物学的製剤が RA の治療に導入されるであろう。結核の再燃あるいは発症リスクのひとつとして、薬物治療に注目する必要があると考えられる。我々

iR-net では、今後とも疫学的モニタリングを継続していく予定である。

悪性疾患の発症状況に関しては、悪性疾患全体でみると一般人口における罹患率との差異はほとんど認めなかった。しかしながら、女性 RA 患者における悪性リンパ腫の SIR は 5.01 (1.30~8.72) と有意に発生率が高く、他方、女性 RA 患者における結腸癌の SIR は 0.13 (0~0.39) と有意に低い値であることが高い確度をもって再確認された。これらの理由については、いくつかの検討や憶測がなされている。RA の高い疾患活動性や薬剤 (特にメトトレキサート) による悪性リンパ腫の誘導についてであり、あるいは、非ステロイド性消炎鎮痛薬による消化器癌の発生抑制についてである。本分担研究が、それらの理由を完全に解明することは極めて困難であると思われるが、iR-net では RA 診療に随伴するこれらの事象を今後ともモニタリングすることにより事実を把握していく予定である。悪性疾患が発生した全 75 症例中、生物学的製剤投与症例は、2003 年度: 0/21、2004 年度: 0/27、2005 年度: 2/27 であった。TNF を標的とした生物学的製剤の投与による悪性疾患誘発を懸念する報告もあることから、この検証は極めて重要である。

E. 結語

iR-net を中心として 2003-2005 年度の 3 年間に構築した全国 RA 患者データベース (Ninja) の解析から、本邦 RA 患者における結核あるいは悪性疾患罹患に関する SIR を算出することができた。女性 RA 患者における結核、悪性リンパ腫の SIR は有意に高く、結腸癌の SIR は有意に低い結果であった。そして、その理由のすべてが明確となっている訳ではない。一方で RA の薬物治療の選択肢が急速に広がりつつある。それは既存の薬物治療が奏効しなかった RA 患者にとって福音となりうる素晴らしいことであろうが、同時に何らかのリスクを高める危険性を有しているかも知れないのである。医療行為の全ては何らかのリスクをもたらすものである。重要なことはそのリスクの頻度や程度や対処法や転帰について正確な情報を収集し、それを医師・患者がともに共有することである。薬物治療の有効性と安全性のバランスシートの作成を目指して、今後とも iR-net は全国規模のコホート調査を継続していく。得られた結果を独自に解析すると同時に、本研究班の中で立ち上がった REAL (新規生物学的製剤使用患者登録システム) への情報提供により生物学的製剤の安全性に関する疫学研究に協力していく予定である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsui T, Ohsumi K, Ozawa N, Shimada K, Sumitomo S, Shimane K, Kawakami M, Nakayama H, Sugii S, Ozawa Y, Tohma S. CD64

on Neutrophils is a Sensitive and Specific Marker for Detection of Infection in Patients with Rheumatoid Arthritis. J Rheumatol 2006;33:2416-24

2. Matsui T, Shimada K, Ozawa N, Hayakawa H, Hagiwara F, Nakayama H, Sugii S, Ozawa Y, Tohma S. Diagnostic Utility of Anti-CyclicCitrullinated Peptide Antibodies for Very Early Rheumatoid Arthritis. J Rheumatol 2006;33:2390-7
 3. Shimada K, Matsui T, Kawakami M, Nakayama H, Ozawa Y, Mitomi H and Tohma S. Methotrexate-related Lymphomatoid Granulomatosis: A Case Report of Spontaneous Regression of Large Tumors in Multiple Organs After Cessation of Methotrexate Therapy in Rheumatoid Arthritis. Scand J Rheumatol (in press).
 4. Matsui T, Shimada K, Tohma S. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody in rheumatic diseases other than rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol. 2006 Jul; 25(4):610-1.
 5. Xiang Y, Matsui T, Matsuo K, Shimada K, Tohma S, Nakamura H, Masuko K, Yudoh K, Nishioka K, Kato T. Comprehensive Investigation of Disease-Specific Short Peptides in Serum from Patients with Systemic Sclerosis (SSc): Complement C3f-desarginine (DRC3f), Detected Dominantly in SSc, Enhances Proliferation of Vascular Endothelial Cells Arthritis Rheum (in press)
 6. Yamanaka H, Tohma S. Potential impact of observational cohort studies in Japan on rheumatoid arthritis research and practice Mod Rheumatol 16,75-76, 2006.
- 2.学会発表
- 1) 松井利浩、金子敦史、島田浩太、當間重人 DAS28-CRPをDAS28と同じ評価基準で評価してよいのか? : NinJa(iR-netによる関節リウマチデータベース)を利用した解析 第50回日本リウマチ学会総会 20060425 長崎
 - 2) 松井利浩、金子敦史、島田浩太、當間重人 NinJa(iR-netによる関節リウマチデータベース)を利用した関節リウマチ疾患活動性評価法(DAS28、SDAI、CDAI)の比較 第50回日本リウマチ学会総会 20060425 長崎
 - 3) 金子敦史、松井利浩、衛藤義人、塚本正美、佐藤智太郎、杉下英樹、當間重人 NinJa(iR-netによる関節リウマチデータベース)を利用した関節リウマチ疾患活動性の推移の検討(DAS28、SDAIを中心に) 第50回日本リウマチ学会総会 20060425 長崎
 - 4) 杉下英樹、衛藤義人、塚本正美、佐藤智太郎、金子敦史、来田太平、石原銀太郎、舟橋康治、松井利浩、當間重人 NinJa(iR-netによる関節リウマチデータベース)を早期リウマチ患者の疾患活動性と治療状況 第50回日本リウマチ学会総会 20060425 長崎
 - 5) 金子敦史、西野仁樹、森俊仁、衛藤義人、塚本正美、佐藤智太郎、石原銀太郎、杉下英樹、来田太平、舟橋康治、松井利浩、當間重人 関節リウマチ発症から初回THA&TKAまでの罹病期間の検討-1970年から2004年の年代別変遷- 第50回日本リウマチ学会総会 20060426 長崎
 - 6) 金子敦史、松井利浩、衛藤義人、塚本正美、當間重人 NinJa(iR-netによる関節リウマチデータベース)を利用した関節リウマチ患者の死因分析(第2報) 第50回日本リウマチ学会総会 20060426 長崎
 - 7) 島田浩太、松井利浩、當間重人 関節リウマチ(RA)患者の入院頻度とその原因(4029例における検討) 第50回日本リウマチ学会総会 20060426 長崎
 - 8) 當間重人 新規抗リウマチ剤の副作用とその対応策 第32回九州リウマチ学会 20060909 熊本
 - 9) 島田浩太、松井利浩、當間重人 関節リウマチ患者の入院頻度とその原因-4026例における検討- 第60回国立病院総合医学会 20060923 京都
 - 10) 松井利浩、金子敦史、島田浩太、中山久徳、杉井章二、小澤義典、當間重人 RA疾患活動性改善度評価においてDAS28-CRPはDAS28-ESRに比べ過大評価している-NinJaを利用した解析- 第60回国立病院総合医学会 20060923 京都
 - 11) 松井利浩、久我芳昭、金子敦史、西野仁樹、島田浩太、當間重人 DAS28-CRPはDAS28-ESRに比べ、RAの疾患活動性を過小評価し、活動性改善度を過大評価する:NinJaを利用した解析 第21回日本臨床リウマチ学会 20061121 東京
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

(表1) 本邦関節リウマチ患者における悪性疾患と結核の発生状況
標準化罹患率 (SIR) と発症数 (2003~2005 年度)

男性患者：2049 人年 女性患者：9933 人年		SIR	95%信頼 区間下限	95%信頼 区間上限	2003 発症数	2004 発症数	2005 発症数	合計
脳腫瘍	女	0.63	0	1.85	1	0	0	1
胃癌	男	0.96	0.19	1.72	2	3	1	6
	女	0.55	0.07	1.04	1	2	2	5
結腸癌	男	0.94	0	2.01	0	2	1	3
	女	0.13	0	0.39	0	1	0	1
直腸癌	男	1.11	0	2.65	2	0	0	2
	女	0.3	0	0.87	1	0	0	1
食道癌	男	1.74	0	4.16	1	0	1	2
膵臓癌	女	0.87	0	2.07	1	0	1	2
肝臓癌	男	0.32	0	0.93	0	0	1	1
肺癌	男	1.16	0.14	2.19	1	1	3	5
	女	1.41	0.37	2.46	2	1	4	7
腎臓癌	女	2.1	0	5.02	1	1	0	2
乳癌	女	0.98	0.34	1.62	2	3	3	8
前立腺癌	男	2.87	0.35	5.39	0	3	1	4
膀胱癌	女	5.46	0.67	10.24	0	3	2	5
皮膚癌	男	3.1	0	9.16	0	1	0	1
	女	1.39	0	4.1	0	0	1	1
子宮癌	女	1	0.02	1.98	2	1	1	4
甲状腺癌	女	0.61	0	1.81	1	0	0	1
卵巣癌	女	1.06	0	2.53	0	0	2	2
多発性骨髄腫	女	1.94	0	5.73	0	1	0	1
悪性リンパ腫	男	5.25	0	11.2	0	1	2	3
	女	5.01	1.3	8.72	3	3	1	7
					21	27	27	75
全悪性腫瘍	男	0.91	0.55	1.27	6	11	10	27
	女	0.77	0.54	0.99	15	15	17	47
結核	男	0.91	0	2.7	0	1	0	1
	女	6.04	2.47	9.6	3	3	5	11
						3	4	5

関節リウマチ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
に関する研究

分担研究者 井田弘明 長崎大学医学部・歯学部附属病院 第一内科 講師

研究要旨 関節リウマチ(RA)に対する生物学的製剤の副作用に、悪性リンパ腫を代表とする悪性腫瘍の出現がある。NK細胞の活性低下と悪性腫瘍発生率との間に相関関係があることは、すでに証明されている。今回、各生物学的製剤が、ヒトNK細胞へ及ぼす影響を、実際に生物学的製剤を使用しているRA患者の末梢血中のNK細胞の変化(NK細胞活性、表面分子発現、細胞内分子発現)を観察することによって、悪性腫瘍発生リスクを検討した。

RA患者では、原発性シェーグレン症候群(SS)患者と同様、健常者に比べて、NK細胞数減少によるNK活性低下がみられたが、RA患者ではSS患者と異なり、1個あたりのNK細胞の活性が低下していた。生物学的製剤使用RA患者の経時的検討では、投与後、生物学的製剤使用RA患者、抗リウマチ薬使用RA患者ともに、NK活性の低下がみられたが、生物学的製剤使用RA患者では、1個あたりのNK細胞の活性が低下する傾向があった。生物学的製剤使用RA患者では、NK細胞中のperforin分子とγ鎖の経時的発現低下がみられた。

以上の検討から、RA患者では、NK細胞数低下を伴わないNK活性の低下が元々存在し、生物学的製剤を使用することによって、さらにNK活性が低下することが判明した。このNK活性低下が、悪性腫瘍発生リスクを高めている可能性が示唆された。

A. 研究目的

関節リウマチ(RA)に対する生物学的製剤使用において、重要な副作用のひとつに悪性リンパ腫を代表とする悪性腫瘍の出現がある。今年 Bongartz らは、生物学的製剤使用RA患者は、使用していない患者と比べて、約3倍悪性腫瘍発生が多いと報告した(JAMA 295:2275-2285, 2006)。NK細胞は、腫瘍免疫において重要な役割を果たしており、NK細胞の活性低下と悪性腫瘍発生率との間に相関関係があることは、すでに証明されている(Lancet 356:1795-1799, 2000)。

本研究では、各生物学的製剤が、ヒトNK細胞へ及ぼす影響を実際に生物学的製剤を使用しているRA患者の末梢血中のNK細胞の変化(NK細胞活性、表面分子・細胞内分子発現)を観察することによって、悪性腫

瘍発生リスクを検討することを目的とする。

B. 研究方法

1) 当大学病院、および、ながさき内科リウマチ科病院受診中のRA患者23例、原発性シェーグレン症候群(SS)患者19例、健常者13例の末梢血中のNK細胞数、NK細胞活性を比較した。2) 当大学病院、および、ながさき内科リウマチ科病院受診中の生物学的製剤開始RA患者19例(Infliximab 11例、Etanercept 8例)、抗リウマチ薬開始RA患者9例(MTX 6例)を対象として、各薬剤投与直前、14日後、42日後、98日後、以降2ヶ月ごとに、末梢血中のNK細胞の変化として、NK細胞数、NK細胞活性(Cr release assay)、表面分子発現(CD2, CD16, NKG2D, CD244)、細胞内分子発現(ZAP70, ζ ,

granzyme B, perforin)を観察した。

(倫理面への配慮)

NK 細胞は文書で同意が取得されている患者から分離し、個人情報には匿名化により保護されている。

C. 研究結果

1) RA 患者、SS 患者ともに、健常者と比べてNK 細胞活性は低下していた。RA 患者では、NK 細胞数低下がみられなかったことから、1 個あたりのNK 細胞の活性が低下していることが判明した。

NK activity in RA patients compared to primary SS patients and normal controls

	NK activity (% specific lysis) at E:T ratio of			NK activity (Lytic Units)	
	50:1	20:1	10:1	LU	LU/ NK cell
RA	22.7±16.4	12.1±8.9	7.0±5.4	29.4±21.5	0.21±0.15
Primary SS	30.9±13.2	15.6±9.0	9.1±5.9	39.5±39.9	0.33±0.20
Controls	54.2±18.5	32.1±16.8	17.6±10.3	176.4±176.3	0.56±0.60

* p< 0.05 ** p< 0.01

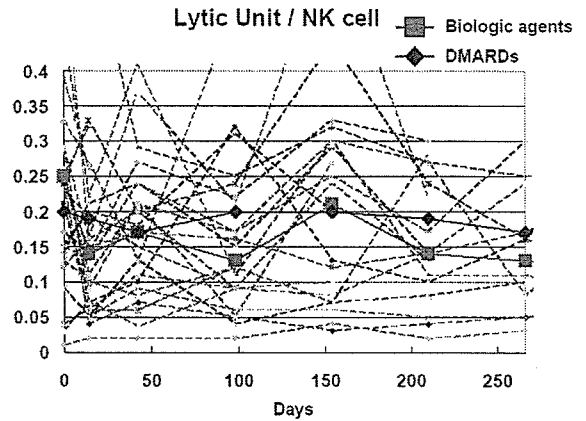
RAではLU低下と同時にLU/NK cell 低下がみられた

疾患とNK活性

疾患名	NK細胞数	総NK活性	1個あたりのNK活性
RA	↓	↓	↓
Sjögren's syndrome	↓↓	↓	→
SLE	↓	↓	
Systemic sclerosis	Normal or ↑	↓	
Familial HLH			
Mutated PRF1	Normal	↓	
Normal PRF1	Normal	↓	
Virus-associated HLH	↓	↓	
MAS	Normal or ↓	↓	

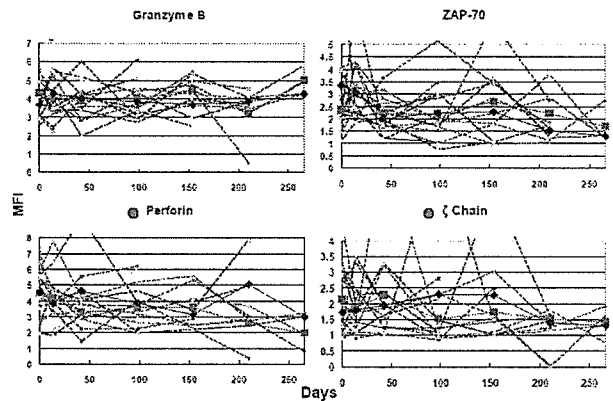
HLH = hemophagocytic lymphohistiocytosis
MAS = macrophage activation syndrome

2) 薬剤投与後、生物学的製剤使用 RA 患者、抗リウマチ薬使用 RA 患者ともに、NK 活性の低下がみられたが、生物学的製剤使用 RA 患者では、1 個あたりのNK 細胞の活性が低下する傾向があった。



3) 生物学的製剤使用 RA 患者では、NK 細胞中のperforin 分子とζ鎖の経時的発現低下がみられた。

Intracellular expression of NK cells in RA patients



D. 考察

生物学的製剤が多くの RA 患者に使用され、副作用の報告も増えてきている。その中で悪性腫瘍の発生は、重要な問題であり、近年注目されている。結核などの感染症は、治療にて治癒する確率が高いが、悪性腫瘍は、死に至る可能性がある。そういう意味でも、悪性腫瘍発生リスクに関する基礎的検討、生物学的製剤使用中の患者の臨床的検討は必要である。私たちは昨年の本研究で、各生物学的製剤が、NK 細胞へ及ぼす影響の基礎的検討を行い、生物学的製剤による短期間の直接的なNK 細胞のアポトーシスは、in vitro 実験で証明できなかった。今回の検討では、RA 患者のNK 活性が、生物学的製剤使用前から低下しており、これは SS 患者と異なり、NK 細胞数が減少していない状況での活性低下であった。つまり、NK 細胞 1 個あたりの活性低下が存在すると考えられる。その RA 患者に生物学的製剤を使用することによって、さらにNK 活性が低下することが判

明した。生物学的製剤使用中も NK 細胞数に変化はなく、NK 細胞 1 個あたりの活性がさらに低下したと考えられる。その原因として、NK 細胞内分子の perforin 分子と鎖の経時的発現低下の関与が示唆される。標的細胞を攻撃する武器としての perforin 分子、また、NK 細胞の活性に重要な働きを行うシグナル伝達分子と鎖の発現低下は、腫瘍免疫を司る NK 細胞にとって致命的である。RA 患者におけるこの NK 活性低下が、悪性腫瘍発生リスクを高めている可能性が示唆される。さらに、個々の症例において、生物学的製剤を投与されている RA 患者の末梢血中の NK 細胞の変化を検討することは、まだ投与期間が定まっていない生物学的製剤の投与期間に一定の基準を定められる可能性も期待できる。

E. 結論

RA 患者では、NK 細胞数低下を伴わない NK 活性の低下が元々存在し、生物学的製剤を使用することによって、さらに NK 活性が低下することが判明した。この NK 活性低下が、悪性腫瘍発生リスクを高めている可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

・Aramaki T, Ida H, Izumi Y, Huang M, Arima K, Fujikawa K, Iwanaga N, Aratake K, Tamai M, Kamachi

M, Nakamura H, Origuchi T, Kawakami A, Matsuoka N, Eguchi K. Alteration of natural killer (NK) cell activity in patients with rheumatoid arthritis treated by biologic agents. *APLAR J Rheumatol*. 9 suppl 1:A192, 2006.

・Izumi Y, Ida H, Huang M, Iwanaga N, Tanaka F, Aratake K, Arima K, Tamai M, Kamachi M, Nakamura H, Origuchi T, Kawakami A, Anderson P, Eguchi K. Characterization of peripheral natural killer cells in primary Sjögren's syndrome: impaired NK cell activity and low NK cell number. *J Lab Clin Med*. 147(5): 242-249, 2006

2. 学会発表

・Aramaki T, Ida H, Izumi Y, Huang M, Arima K, Fujikawa K, Iwanaga N, Aratake K, Tamai M, Kamachi M, Nakamura H, Origuchi T, Kawakami A, Matsuoka N, Eguchi K. Alteration of natural killer (NK) cell activity in patients with rheumatoid arthritis treated by biologic agents. *12 th APLAR*, Kuala Lumpur, 1-5 August, 2006.

・荒牧俊幸、井田弘明、江口勝美 (2 番目、他 12 名) 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 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 p100, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録

なし。

(共同研究者;荒牧俊幸、松岡直樹、江口勝美)

ヒト化抗 IL-6 レセプター抗体による関節リウマチの治療方針の作成に関する研究

—IL-6 阻害治療時の感染症の発症頻度とその特徴：国内臨床試験結果から—

分担研究者 西本憲弘 大阪大学 大学院生命機能研究科 免疫制御学講座 教授

研究要旨 関節リウマチ患者に対するヒト化抗 IL-6 レセプター抗体、tocilizumab 使用時の安全性、特に感染症に関する情報を検討した。わが国での RA 患者に対する 6 つの臨床試験で報告された感染症の種類、頻度、発現時期、重症度、転帰等について検討した。感染症は、対象 431 人のうち 258 例合計 897 件（139 件/100patient・year (100PY)）であった。そのうち普通感冒が過半数を占めた。重篤な有害事象は 39 例 43 件（6.7/100PY）で、そのうち頻度の多いものは肺炎、帯状疱疹、蜂巣炎であった。感染症の種類に特定の偏りはなく、発症時期は tocilizumab 投与期間に関係がないことがわかった。肺炎は 19 例 20 件（3.2/100PY）発現し、そのうち重篤例は 11 例 11 件であった。炎症症状がマスクされるために発見が遅れる可能性があり、tocilizumab 使用中には慎重なモニタリングと患者指導を徹底する必要がある。今後、症例を蓄積し、長期の安全性について検討を加える必要がある。

A. 研究目的

ヒト化抗 IL-6 レセプター抗体 tocilizumab は、日本オリジナルの抗体医薬であり、世界に先駆けてわが国で、関節リウマチをはじめ若年性特発性関節炎やクローン病に対して臨床試験が行われ、さらに世界の 42 カ国で関節リウマチに対する臨床試験が実施されている。その中で、tocilizumab は関節リウマチ (RA) の症状や検査値異常の改善のみならず、RA による関節破壊進行の抑制効果においても従来の抗リウマチ薬に比べて優れていることが証明された。しかし、同時に tocilizumab 使用中に、肺炎等の重症感染症の合併も報告されている。

炎症性サイトカインを標的とする生物学的製剤の使用時には、発熱や倦怠感といった炎症症状に加えて CRP などの炎症マーカーの上昇がマスクされるため、感染症を併発した場合に重症化して発見されることが多い。したがって、安全性に関する情報の中でも感染症は特に重要であり、感染症を如何に予防し、また、早期に発見して治療を行うかが課題で

ある。そこで tocilizumab による RA の治療方針を確立するために、安全性に関する情報、特に tocilizumab 治療中に発生した感染症についてその特徴を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

わが国での tocilizumab の臨床研究 (RA 患者を対象にした第 I / II 相試験 (n=15) と継続試験、RA 患者を対象にした後期第 II 相試験 (n=153) と継続試験、RA 患者を対象にした第 III 相試験 (SAMURAI (n=157) と SATORI 試験 (n=61)、薬物相互作用試験 (n=31)、腎機能低下患者を対象とした臨床薬理試験 (n=14)) で報告された感染症の種類、頻度、発現時期、重症度、転帰等について検討した。

3 つの比較試験 (後期第 II 相試験、第 III 相 SAMURAI と SATORI) においてはコントロールまたはプラセボ群との比較を行った。継続試験については平成 17 年 4 月までの集計を行った。

(倫理面への配慮)

臨床試験はGCPに準拠して行った。各施設の倫理委員会の許可の下、患者のインフォームドコンセントを得た上で検査を行った。感染症の情報に関しては、個人が特定できないように、マスクされた状態でいった。

C. 研究結果

感染症および寄生虫症に分類される有害事象は、対象431人のうち258例合計897件で100patient・year(100PY、1年間で100例あたり何件発症するか)あたり139件であった。そのうち上気道炎と鼻咽頭炎、咽頭炎、喉頭炎すなわち普通感冒と思われるものは合計521件(81.0/100PY)で有害事象の過半数を占め、すべてが非重篤であり、全例軽快または回復し、tocilizumabを継続していた。鼻咽頭炎のうち約83%は何らかの投薬を受け、約47%が抗生剤の投与を受けていた。次に多く見られたものは白癬、爪囲炎であり、64件(10.0/100PY)に認められたがすべてが非重篤であった。

その他、膀胱炎など尿路感染症40件(6.3/100PY)、帯状疱疹や単純ヘルペスなどヘルペスウイルス感染症30件(4.6/100PY)、肺炎20件(3.2/100PY)と続いた。

治療期間別の感染症の発現率を検討したところ、0-12、12-24、24-36、36-52週で有意な差は無かった。したがって、tocilizumabの投与期間と発現頻度には関連はないと思われる。

重篤な有害事象は39例43件(6.7/100PY)で、そのうち頻度の多いものは肺炎、帯状疱疹、蜂巣炎であった。

肺炎は19例20件(3.2/100PY)発現し、そのうち重篤例は11例11件であった。初回投与からの発症時期については11日目から973日までさまざまであり、やはり、投与開始後の初期に発症するという傾向は見られなかった。これらの症例はいずれも回復し、その後13例はtocilizumabを継続している。しかし、重篤の理由として死亡のおそれと判定された症例が3例あり、これらは発見が遅れ、受診時に

すでに重症化していたと考えられた。また、咳そう等の症状があったにもかかわらず担当医に連絡しなかった例も含まれる。

この調査以降に、国内外の継続試験で9例9件の重篤な有害事象として肺炎の報告があり、そのうち1例は転帰が死亡となった。これは胃がんを発現し、幹細胞移植治療中に肺炎を併発された症例である。また、他に81歳の女性はCTで肺炎の回復が確認されたが、既存の間質性肺炎のため肺機能が回復しなかった。他の症例は全例回復している。

帯状疱疹は17例17件(2.6/100PY)発現し、そのうち重篤と判定されたものは8例8件であった。殆どの症例はtocilizumab開始24週以降に発現した。15例は回復後にtocilizumab治療を継続したが再発例はない。蜂巣炎は6例7件に発現し、そのうち重篤なものは4例5件であった。殆どの症例はtocilizumab投与開始24週以降に発現した。6例とも回復し、うち4症例は回復後にtocilizumab治療を継続した。結核についてはこれまでにRA患者2例で報告されている。他にキャッスルマン病の市販後調査で1例の発症が確認されている。

リウマチの1例は治療前に胸膜肥厚とびまん性細気管支炎が疑われ、またツ反が硬結を含め強陽性を示した症例で、繰り返し検査を行いフォローしていたところtocilizumab21回目、初回投与から17ヶ月目に結核菌が検出された。

他の1例は、もともと存在した索状影と結節影が増大傾向にあったため21回目からINHを併用していたが、tocilizumab26回目、初回投与から28ヶ月目にCTにて空洞形成を認め、塗沫・培養・PCRとも(-)であるが、クオンティフェロン(+)であることから結核と診断された症例である。TNF阻害治療時の結核がTNF阻害剤開始後の比較的早期に発症するのに対し、いずれの症例も投与開始後1年以上の経過の後に診断された症例であり、発症機序が異なっている可能性がある。

D. 考察

感染症の種類に特定の偏りはなく、発症時期は

tocilizumab 投与期間に関係がないことがわかった。肺炎は 3/100PY で見られ、しかも炎症症状がマスクされることにより発見が遅れる可能性がある。したがって、tocilizumab 使用中には十分な問診と診察に加え、患者への指導を徹底する必要があると思われる。感冒に対する抗生剤の使用頻度は高かったが、これは臨床試験中であり慎重になったことが影響している可能性がある。また、日本に特徴的な現象である。感染症に関しては、今後さらに症例を蓄積し、長期の安全性について検討を加えるとともに、従来のリウマチ治療との比較を行う必要があると思われる。

E. 結論

tocilizumab 使用時の感染症の発症に特定の傾向は認めなかった。安全に使用するには患者への指導と慎重なモニタリングが必要である。

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. Nakahara H, Nishimoto N. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy in rheumatic diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2006, 6:373-81.
2. Nishimoto N, Kishimoto T. Interleukin 6: from bench to bedside. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2006, 2: 619-26.
3. Straub RH, Harle P, Yamana S, Matsuda T, Takasugi K, Kishimoto T, Nishimoto N. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy favors adrenal androgen secretion in patients with rheumatoid arthritis: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Arthritis Rheum*. 2006, 54: 1778-85.
4. Nishimoto N. Interleukin-6 in rheumatoid arthritis.

Curr Opin Rheumatol. 2006, 18: 277-81.

2. 学会発表

1. Nishimoto N. Humanized anti-IL-6 receptor antibody treatment of rheumatoid arthritis. The 15th International Rheumatology Symposium. Nagasaki Japan 2006.4.24
2. Nishimoto N. Anti-IL-6 therapy for Anemia of inflammation and chronic disease. Workshop on Anemias of Inflammation and Chronic Disease. Annapolis, USA. 2006.5.1-2.
3. Nishimoto N. Benefits of IL-6 inhibition in adult rheumatoid arthritis: an international experience. Tocilizumab Satellite Symposium in the Annual European Congress of rheumatology EULAR 2006. Amsterdam, The Netherlands. 2006, 6.21-24
4. Nishimoto N, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Azuma J, Kishimoto T. Efficacy and safety of tocilizumab in monotherapy, an anti-IL-6 receptor monoclonal antibody, in patients with active rheumatoid arthritis: results from a 24 week double-blind phase III study. Annual European Congress of Rheumatology EULAR 2006. Amsterdam, The Netherlands. 2006, 6.21-24
5. Nishimoto N, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Azuma J, Kishimoto T. Consistent clinical response resulted from three Japanese randomized controlled trials of tocilizumab, humanized anti-IL-6 receptor antibody, in active rheumatoid arthritis(RA) patients. ACR2006. Washington, DC. 2006.11.10-15

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

特記すべきことなし。

表 主な感染症の発現頻度 (件数/100 患者・年)

Body System/ Adverse Event	第I/II相 +継続	第II相 +継続	SAMURAI	SATORI	薬物相互 作用試験	腎機能 低下例	国内成人 RA 試験
	N= 15 E(E/100PY)	N= 153 E(E/100PY)	N= 157 E(E/100PY)	N= 61 E(E/100PY)	N= 31 E(E/100PY)	N= 14 E(E/100PY)	合計 N= 431 E(E/100PY)
感染症および寄生虫症							
Total Pts with at Least one AE	13	124	91	24	4	2	258
Total Number of AEs	75 (139.7)	602 (145.3)	171 (118.4)	42 (153.4)	5 (203.1)	2 (179.9)	897 (139.4)
鼻咽頭炎	53 (98.7)	320 (77.2)	89 (61.6)	21 (76.7)	2 (81.3)	1 (90.0)	486 (75.5)
咽頭炎	1 (1.9)	15 (3.6)	5 (3.5)	2 (7.3)	-	-	23 (3.6)
上気道感染	1 (1.9)	1 (0.2)	6 (4.2)	-	-	-	8 (1.2)
咽喉頭炎	-	2 (0.5)	1 (0.7)	-	-	-	3 (0.5)
喉頭炎	-	-	-	1 (3.7)	-	-	1 (0.2)
							小計 521 (81.0)
膀胱炎	2 (3.7)	22 (5.3)	4 (2.8)	-	-	-	28 (4.4)
尿路感染	1 (1.9)	6 (1.4)	1 (0.7)	4 (14.6)	-	-	12 (1.9)
爪囲炎	-	11 (2.7)	11 (7.6)	1 (3.7)	-	-	23 (3.6)
白癬感染	4 (7.5)	36 (8.7)	1 (0.7)	-	-	-	41 (6.4)
带状疱疹	2 (3.7)	14 (3.4)	1 (0.7)	-	-	-	17 (2.6)
単純ヘルペス	1 (1.9)	7 (1.7)	5 (3.5)	-	-	-	13 (2.0)
肺炎	-	15 (3.6)	3 (2.1)	1 (3.7)	-	-	19 (3.0)
細菌性肺炎	-	-	1 (0.7)	-	-	-	1 (0.2)

関節リウマチに対する生物学的製剤治療の免疫系への影響の解析：
結核症発症との関連から

分担研究者 石ヶ坪 良明 (横浜市立大学大学院医学研究科 病態免疫制御内科)
共同研究者 村上修司、小林正芳、桐野洋平、岳野光洋
(横浜市立大学大学院医学研究科 病態免疫制御内科)

研究要旨 私どもは ELISPOT 法を用いて感度、特異性ともに優れた結核に対する免疫学的診断を確立し、生物学的製剤治療中の結核のモニタリングシステムを構築することを目指している。本年度は結核患者、関節リウマチ患者、健常者を対象にツベルクリン反応、末梢血単核細胞(PBMC)の結核特異抗原 (PPD、ESAT-6、CFP-10) 特異的 IFN- γ 産生細胞数を ELISPOT 法により解析し、その診断的有用性について解析した。

①ツ反反応性と PPD 特異的 IFN- γ 産生細胞数は健常者で強く相関したが、ステロイド内服量の多い関節リウマチ患者では相関が見られなかった。②ESAT-6、CFP-10 特異的反応は BCG 接種ツ反陽転者では見られず、結核患者に特異的であった。③関節リウマチおよび AIDS で結核合併患者を検討した結果、ツ反陰性例、CD4 著明低下例であっても、ELISPOT 法により結核抗原特異的 IFN- γ 産生細胞が検出された。ELISPOT 法を用いた結核の免疫学的診断は免疫抑制状態下でも感度の高い手法であり、生物学的製剤投与患者における潜在性結核のスクリーニング、モニタリングにおいてツベルクリン反応に代わる手法として期待される。

A. 研究目的

生物学的製剤治療が結核発症リスクを増大させることに関しては、各国から続々と報告されている。わが国でも 2003 年 7 月インフリキシマブが認可されて以来、メーカーが公表した市販後調査では 5000 例中 14 例の結核発症が報告されている。そのほとんどが潜在性結核の再活性化と考えられ、CT を含めた画像診断とツベルクリン反応 (ツ反) によるスクリーニングを施行し、リスクのある患者にイソニアジドによる予防投薬を行うことで、その発症は明らかに減少している。しかしながら、ツ反によるスクリーニングの妥当性には疑問も生じている。その理由の一つは、本邦では BCG 接種によるツ反陽性者が多く、これを根拠に抗結核薬の予防投与が乱用されれば、耐性菌の出現も危

惧される。しかし、実際の関節リウマチ(RA)患者では抗リウマチ治療によりツ反が修飾を受けるので、事情はもっと複雑になる。本年度は健常者および生物学製剤導入前の関節リウマチ患者を対象にしてツ反に加え、結核抗原特異的 IFN- γ 産生能を ELISPOT 法により解析した。さらに一部においては QuantiFERON[®]-TB(QFT)診断キットによる解析も行い、生物学的製剤導入時のスクリーニング、モニタリングに有用な免疫学的診断法について検討した。

B. 研究方法

1. 対象：横浜市立大学附属病院および横浜市立大学附属市民総合医療センター通院中の生物学的製剤治療導入前の RA 患者 50 例、横浜市立大

学附属病院結核病棟入院中の結核患者を対象とした。健常者 141 名を対照群とした。

2. ツベルクリン反応：一回判定法。

3. ELISPOT 法：ヘパリン加末梢血よりフィコール・ハイパークを用いた比重遠心法により分離した単核細胞(PBMC) 1×10^6 /ml を 10%胎児仔牛血清加 RPMI-1640 培地を用い、PPD および BCG と交差反応しないヒト結核菌特異的抗原の ESAT-6、CFP-10 (Statens Seruminstitut, Denmark)の存在下で 2 時間前培養し、あらかじめ抗 IFN- γ 抗体 (R&D 社) をコートしたニトロセルロース 96 穴平底プレート(Millipore, MA)上で 1×10^5 あるいは 5×10^4 /well としさらに 16 時間培養し、IFN- γ 産生細胞数を解析した。細胞を洗浄後、ビオチン化二次抗体、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを反応させ、BCIP/NBT で呈色反応後、スポット数を KS ELISPOT システム 4.4.35 (Carl Zeiss Co., Ltd., Germany)で解析した。抗原特異的サイトカイン産生細胞 = (抗原刺激時産生細胞 - 非刺激時産生細胞) により算定した。

4. QuantiFERON[®]-TB(QFT)診断：ELISPOT 法解析時に採血したヘパリン加全血に ESAT-6、CFP-10 を加え、16 時間刺激し、上清を回収し、ELISA 法により IFN- γ 分泌量を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究計画は当院 IRB の承認に基づき、インフォームドコンセントを得られた患者、健常者のみを対象とした。

C. 研究結果

1. 健常者および RA 患者におけるツ反：BCG 接種健常者 141 名のツ反は 92%が陽性で、生物学的製剤使用時のイソニアジド予防投与基準にあたる中等度以上の陽性者が 75%にのぼった。生物学的製剤導入前の RA 患者では全体にツ反は減弱しており、陽性 65%、中等度陽性 24%であった。その要因を解析した結果、治療薬特に、プレドニゾロン換算 6mg/日以上の副腎皮質ステロイド薬服用患者で明らかな抑制がみられた(図 1)。

2. ツ反と ELISPOT 法による PPD 抗原特異的 IFN- γ 産細胞数の関連：健常者において、PPD 刺激 IFN- γ 産生細胞数はツ反発赤径と強い正の相関を示し、結核患者、特に排菌中の患者ではさらに高値を示した。これらの結果は、本法により PPD 特異的免疫応答が検出可能であるとともに、PPD に対する反応性のみでは BCG 接種者と結核罹患者を鑑別出来ないことを示している。一方、RA 患者では健常者と異なり、PPD 刺激 IFN- γ 産生細胞数とツ反との間の相関は明確でなかった。ツ反結果とステロイド薬服用量の解析から、ツ反発赤径に比較して ELLSPOT 法の成績はステロイド薬服用量の影響を受けにくいことが認められた。以上の結果は、ELLSPOT 法は、PPD 特異的免疫応答の検出においてツ反より感度に優ることを示唆している。

3. 結核患者における ESAT-6 あるいは CFP-10 に対する反応性：BCG と交差反応しない結核菌特異的抗原として ESAT-6 あるいは CFP-10 が提唱されている。これらの刺激による IFN- γ 産生細胞は、健常者では BCG 接種者でもほとんど検出されないが、結核患者では少なくとも一方の抗原に対する有意な反応性を認めた(図 2)。さらに、結核患者における PPD、ESAT-6、CFP-10 刺激に対する反応性は抗結核薬治療による臨床的改善と相関することから、結核菌抗原特異的反応性は結核菌の菌量を反映していることが考えられる。

4. 結核合併 RA 患者、HIV 患者における ELISPOT 法による結核菌抗原特異的 IFN- γ 産生細胞数：1991 年の当院開院以来、606 例の結核患者のうち 15 例が RA の治療経過中の発症であり、うち最近経験した 3 例について、ELISPOT 法により結核菌抗原特異的 IFN- γ 産生細胞の解析を行った。そのうち 1 例はツ反陰性であったが、全例で ESAT-6 あるいは CFP-10 に対する有意な反応が確認された。さらに、免疫抑制薬以外の原因で免疫不全状態を呈する症例として、HIV 合併結核発症例の自験例 4 例について解析した。結核菌抗原特異的 IFN- γ 産生細胞はほとんどが CD4 陽性細胞であるが、

CD4 100/μl 未満の HIV 患者においても、結核診断時には有意な ESAT-6 あるいは CFP-10 特異的 IFN-γ 産生細胞数が検出された。以上の成績は、副腎皮質ステロイド薬および抗リウマチ薬による薬剤性の免疫不全のみならず CD4 減少をはじめ免疫不全状態の代表疾患である AIDS においても ELISPOT 法を用いた結核の免疫学的診断法が有用であることを示している。

4. ELISPOT 法による潜在性結核の診断：生物学的製剤投与前のスクリーニングとして、ツ反、胸部 CT に加え、50 例において ELISPOT 法による解析を行った。ツ反応と胸部 CT により潜在性結核と判断され、投与中止あるいは INH 予防内服の適応あるいはとなった症例 18 例(36%)であった。

このうちの 6 例を含む 8 例(16%)は ELISPOT 法においても陽性所見であった

D. 考察

本研究の成績から、ツ反には BCG 接種による偽陽性、副腎皮質ステロイド薬などの治療薬による修飾があり、潜在性結核のスクリーニング法として必ずしも十分とは言えない。本研究において、PPD 特異的免疫応答の研修津に関して、副腎ステロイド薬などの免疫抑制作用を有する治療を受けている場合には、ELISPOT 法はツ反よりも明らかに感度の点で優れていた。また、BCG と交叉反応を示さない ESAT-6、CFP10 などの特異抗原に対する免疫応答の解析により高い特異性も証明された。これらの結果は、RA のみならず HIV 合併結核患者の解析結果からもその感度の高さは実証され、ツ反と比較して ELISPOT 法による免疫学的診断法は感度、特異度ともにすぐれていることが証明された。

生物学的製剤使用時のモニタリングでの問題点の一つとして、生物学的製剤使用時を含め免疫不全状態で発症した結核は肺外病変など非典型的な臨床像を呈することが少なくないため、鑑別診断に苦慮することが挙げられる。実際、結果に示した HIV 合併結核症の臨床症状は、リンパ節腫脹

や発熱であり、ELISPOT 法を用いた免疫学的診断が結核の補助診断として有用であった。

現在、結核の免疫学的診断として全血を用いて解析する簡便な QuantiFERON®-TB(QFT)診断キットがある。予備検討の段階であるが、ELISPOT 法と QuantiFERON®-TB(QFT)診断キットを同時に施行した場合、ELISPOT 法のみ陽性例が少数例認められたが、逆の例は認められなかった。これらの結果から、検査の時間的な問題のみならず、感度、循環血中の薬剤影響、リウマチ因子の影響、同一検体での再現性などいくつかの点で、ELISPOT 法が優れていると考える。

E. 結論

ELISPOT 法を用いた結核菌特異抗原による IFN-γ 産生細胞の検出は、高感度でツ反陰性患者であっても結核の免疫診断が可能であることが証明された。すなわち、ELISPOT 法は、免疫抑制状態でも結核感染の評価が可能であり、生物学的製剤使用時の潜在性結核のスクリーニング、モニタリングに有用と考えられる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 原著論文による発表

それ以外の発表

石ヶ坪良明：治療におけるリスクマネージメント
結核症 内科 97 巻 684-688, 2006.

2. 学会発表

1. Ishigastubo Y, Murakami S, Takeno M, Watanabe R, Kirino Y, Kobayashi M, Ohno S, Kudo M, Watanuki Y, Hasumi Y, Mizuki N. Monitoring of tuberculosis during anti-TNF therapy by using ELISPOT technique. XIII International Behcet Disease Conference, Lisbon, Portugal, 2006, September

2. Murakami S, Takeno M, Kirino Y, Kobayashi S,

Watanabe R, Ohno S, Kudo M, Watanuki Y, Ishigastubo Y. Detection of Mycobacterium Tuberculosis Antigen Specific Immune Responses by Using ELISPOT Technique in Rheumatoid Arthritis Patients Receiving Immunosuppressive Therapies. 70th ACR, Washington DC, 2006, Nov.

3. 岳野光洋、村上修司、渡邊玲光、小林正芳、上田敦久、金子猛、大野滋、綿貫祐司、高橋宏、石ヶ坪良明. 生物学的製剤投与患者における結核の免疫学的診断法を用いたモニタリング 第 50 回日本リウマチ学会、長崎、2006 年 4 月

4. 村上修司、岳野光洋、桐野洋平、小林正芳、石ヶ坪良明. ELISPOT 法を用いた結核症モニタリング. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2006 年 12 月

5. 村上修司、岳野光洋、渡邊玲光、三浦健次、小林正芳、後藤秀人、築地淳、小松茂、工藤誠、上田敦久、金子猛、大野滋、綿貫祐司、高橋宏、石ヶ坪良明. 生物学的製剤時代の結核モニタリング. 第 46 回日本呼吸器学会、東京、2006 年 9 月

6. 村上修司、岳野光洋、三浦健次、後藤秀人、築地淳、小松茂、工藤誠、上田敦久、金子猛、大野滋、綿貫祐司、高橋宏、石ヶ坪良明. 免疫抑制療法施行中の関節リウマチ患者におけるモニタリング. 第 80 回日本感染症学会、東京、2006 年 4 月

H. 知的財産権の出願・登録

特になし。

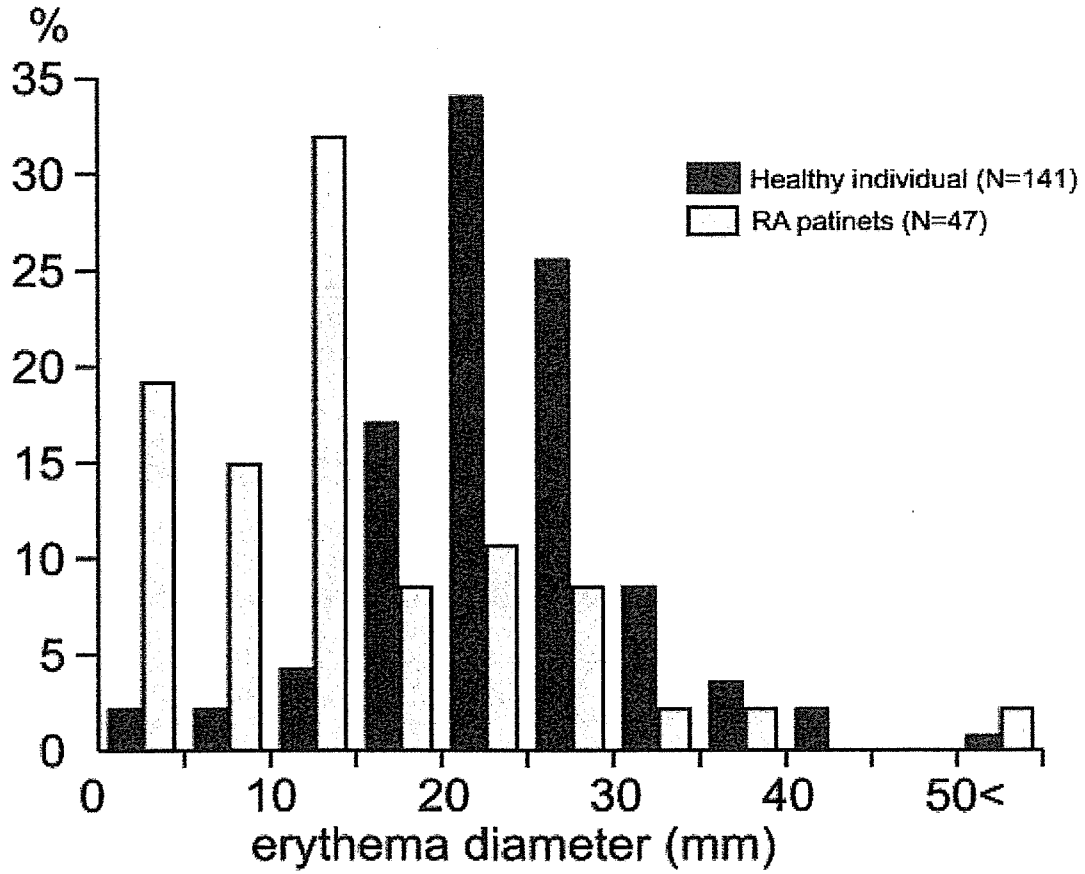


図1：健常人とRA患者におけるツベルクリン反応

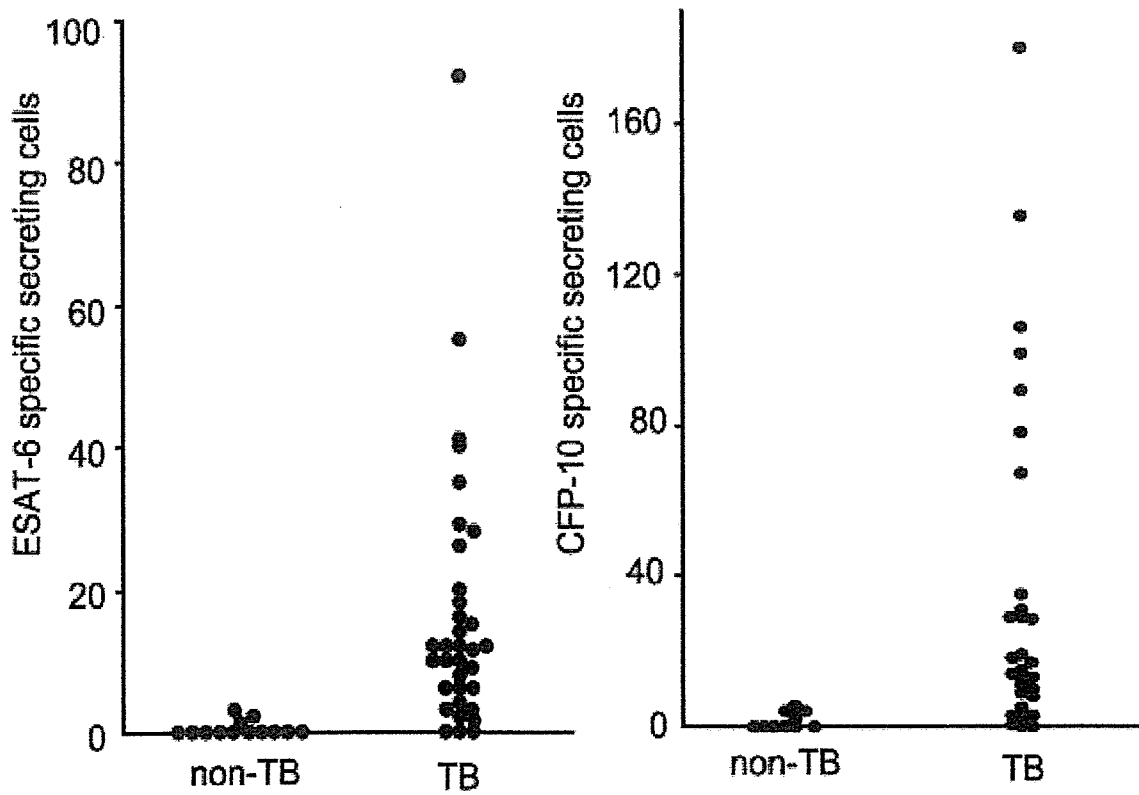


図2：結核患者におけるESAT-6およびCFP-10に対する特異的IFN- γ 分泌細胞数