

D. 考察

本研究を通じて、我が国における生物学的製剤使用の実態がさらに明らかとなりつつあり、治療ガイドラインの改訂、呼吸器合併症診断フローチャートの作成などによって副作用の実態、副作用の早期診断法及び早期治療などが次々と明らかにされつつある。特に、我が国においては生物学的製剤の有効性は欧米に比較してきわめて高いことが明らかにされつつあるが、一方で肺炎、結核の多発合併のみならず PCP などの我が国特有の有害事象の発生も明らかとなっており、その対策を確立することは焦眉の急であると思われる。しかし、我が国において生物学的製剤使用時の結核の発生が減少しつつあるという事実は、本研究により策定した生物学的製剤使用ガイドラインの普及によるところが大であると考えられる。一方、本研究によって PCP はわが国生物学的製剤使用 RA 患者に特異的にみられる重篤副作用である可能性が明らかとなったが、まだ発生頻度の経時的減少はみられておらず、今後の検討課題である。

E. 結論

我が国と欧米との間に存在する人種差、社会経済的背景の差、医療システム及び水準の差などを考慮すると、RA 治療における新規生物学的製剤使用患者のデータベースの作成、生物学的製剤の治療ガイドラインの改訂とその検証は必要不可欠であると思われる、今後さらなる検討を行う所存である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. J. Ogawa, M. Harigai, K. Nagasaka, T.

Nakamura, N. Miyasaka: Prediction of and prophylaxis against *Pneumocystis pneumonia* in patients with connective tissue diseases undergoing medium-or high-dose corticosteroids therapy. *Mod. Rheumatol.* 15:91-96, 2005

2. N. Miyasaka, T. Takeuchi, K. Eguchi: Proposed Japanese guidelines for the use of infliximab for rheumatoid arthritis. *Mod. Rheumatol.* 15:4-8, 2005
3. N. Miyasaka, T. Takeuchi, K. Eguchi: Guidelines for the proper use of etanercept in Japan. *Mod Rheumatol.* 16:63-67, 2006
4. N. Miyasaka: Etanercept and methotrexate for the treatment of rheumatoid arthritis. *Therapy* 3(3):365-373, 2006
5. T. Abe, T. Takeuchi, N. Miyasaka, H. Hashimoto, H. Kondo, Y. Ichikawa, I. Nagata: A multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled trial of infliximab combined with low dose methotrexate in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 33:37-44, 2006
6. Nishimoto N, Yoshizaki K, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Hashimoto J, Azuma J, Kishimoto T. Treatment of Rheumatoid Arthritis with Humanized Anti-interleukin 6 Receptor Antibody. *Arthritis Rheum.* 2004, 50: 1761-69.

H. 知的財産権の出願・登録

特になし

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④IgG 700mg/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ト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 例で PCP が確認された。このうち、2 例は TNF 阻害療法中、1 例はレフルノミド、タクロリスであり、新規抗リウマチ療法下での発症であった。従って、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、その一方で、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。肺炎や敗血症などの感染症と心血管障害が関節リウマチ（RA）の主要な死因で、RA 罹患による感染症死亡危険率は約 7 であるが、抗リウマチ薬、免疫抑制薬、生物学的製剤の普及により感染症罹患率は上昇傾向にある。

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。

生物学的製剤の適正、且つ、安全な使用に於いては、殊に、PCP の早期迅速診断・予防などを含めた対策が不可避であるが、生物学的製剤の使用の際には、より厳しい基準の策定、危険因子の明確化などが求められる。

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)に DTT (Dithiothreitol)を添加し、37℃ 10 分間インキュベートして粘性を低下させた後、PBS にて2回洗浄。さらに、proteinase K を加えて60℃で 6 時間インキュベートして蛋白分解し、phenol/chloroform 抽出にて除蛋白する。最後にDNA をエタノール沈殿し、TEに溶解後、100pMの Primer 1: 5' -AGTTACGGCCATACCTCAGA- 3'、Primer 2: 5' -AAAGCTACAGCACGTCGTAT- 3'とともにサーマルサイクラーにてPCRを行う。95℃ 1 分 - 55℃ 1 分 - 72℃ 1.5 分 35 cycle により増幅されたサンプルの一部を 3%アガロースゲルにて電気泳動し、124bp の特異的バンドとして検出する。検出率、特異度を検証するとともに、PCP 陽性群の臨床的特徴を検討する。

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、それに基づく1次予防基準を設定する。次に、設定した PCP1次予防基準を実践し(基本的に TMP/SMX 2g隔日投与あるいは 1g 連日投与にて 1 次予防投与し、有効性を検討する。また、薬剤アレルギーにてTMP/SMXが使用できないときには、pentamidine 300mg を月に1回吸入する。)、その PCP 発症抑止効果および問題点を検証する。

(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(図1)。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、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(図1)。

(2) PCP 発症者背景と1次予防

PCP と確定診断された患者のうちステロイド単独で加療中での発症は全例PSL換算 1mg/kg/day 以上のステロイド服用者であった。ステロイド内服量がそれ以下での発症例は全例ステロイドに加えて免疫抑制薬あるいは生物学的製剤を併用していた(IV-CY 10 名、CPM1 名、MTX1 名、AZA1 名、CsA2 名、インフリキシマブ 2 例、レフルノミド 1 例、タクロリムス 1 例)。

患者背景のうち、臨床検査成績につき検討したところ表1に示すような特徴が見られた。すなわち、白血球数が 10000 以上の高値症例ではむしろ他の細菌感染症が疑われる一方、リンパ球に関しては PCP 陽性群では有意差をもって低値を示した。血清 IgG に関しては、PCP 陽性群ではその 8 割が 1000 以下を示した。LDH や KL-6 はしばしば PCP の活動性に相関する事が知られるが、皮膚筋炎をはじめとして膠原病では、原病に起因する間質性肺炎の存在がこれらの値を修飾するため、PCP 陽性・陰性者群間での差は検出されなかった。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 ($p < 0.05$) が死亡に有意に関連していたことより、この 2 項目は予後因子として重要であると考えられた。

以上の本法により診断し得た患者背景から、リウマチ性疾患での PCP 発症の危険因子として、①経口ステロイド単独で $\text{PSL} \geq 1\text{mg/kg}$ 、② $\text{PSL} \geq 0.5\text{ mg/kg}$ かつ免疫抑制薬併用、③リンパ球 $\leq 400 /\text{mm}^3$ 、④ $\text{IgG} \leq 700\text{mg/dl}$ を抽出し、①または②、かつ、③または④に該当する症例への ST 合剤 による 1 次予防実践した。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、リウマチ性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. Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tokunaga M, Tsujimura S, Nakatsuka K, Adachi T, Tanaka Y. Detection of *Pneumocystis carinii* by DNA amplification in patients with connective tissue diseases: Reevaluation of clinical features of *P. carinii* pneumonia in rheumatic diseases. *Rheumatology* (2004) 43, 479-485
2. Nakano K, Okada Y, Saito K, Tanaka Y. Fibroblast growth factor-2 induces receptor activator of nuclear factor kappa B ligand expression and osteoclast maturation by binding to heparan sulfate proteoglycan on rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum* (2004) 50, 2450-2458
3. Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tsukada J, Kohno K, Tanaka Y. Transcriptional regulation of multidrug resistance-1 gene by interleukin-2 in lymphocytes. *Genes Cells* (2004) 9, 1265-1273
4. Tokunaga M, Fujii K, Saito K, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, Tanaka Y. Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab. *Rheumatology* (2005) 44: 176-182
5. Tanaka Y, Tokunaga M. Rituximab reduces both quantity and quality of B cells in SLE. *Rheumatology* (2006) 45: 122-123
6. Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tanaka Y. Clinical relevance of expression of P-glycoprotein on peripheral lymphocytes to steroid-resistance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* (2005) 52, 1676-1683
7. Saito K, Nawata M, Iwata S, Tokunaga M, Tanaka Y. Extremely high titre of antihuman chimeric antibody following re-treatment with rituximab in a patient with active systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* (2005) 44, 1462-1464
8. Nakayamada S, Kurose K, Saito K, Mogami A, Tanaka Y. Small GTP-binding protein rho-mediated signaling promotes proliferation of rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Res Ther* (2005) 7, 476-484
9. Fujii Y, Fujii K, Tanaka Y. Attempt to correct abnormal signal transduction in T lymphocytes from systemic lupus erythematosus patients. *Autoimmunity Rev* (2006) 5, 143-144
10. Tsujimura S, Saito K, Kohno K, Tanaka Y. Fragmented hyaluronan induces transcriptional up-regulation of the multidrug resistance-1 gene in CD4+ T cells. *J Biol Chem* (2006) 281, 38089-97
11. 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
12. 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
13. 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

14. Yamanaka H, Tanaka Y, Sekiguchi N, Inoue E, Saito K, Kameda H, Ikuni 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
15. 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
16. 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)
17. 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)
18. 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)
19. 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. Tanaka Y, Tokunaga M, Fujii K, Nawata M,

Tsujimura S, Nakayamada S, Saito K. A pilot study of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus: relevance of quantity and quality reduction of B cells to clinical efficacy. The 68th National Meeting of American college of Rheumatology, San Antonio. 平成 16 年 10 月

2. 田中良哉. 生物学的製剤. 第 48 回日本リウマチ学会総会学術集会(シンポジウム)岡山 平成 16 年 4 月
3. 齋藤和義、中塚敬輔、藤井幸一、中山田真吾、中野和久、徳永美貴子、辻村静代、澤向範文、名和田雅夫、藤井裕子、吾妻妙子、田中良哉. 膠原病におけるカリニ肺炎 1 次予防基準の検討. 第 48 回日本リウマチ学会総会学術集会. 岡山 平成 16 年 4 月
4. 田中良哉. 関節リウマチ治療のこれからの流れ. 第 32 回日本臨床免疫学会総会(教育講演)東京. 平成 16 年 10 月
5. 田中良哉. 関節リウマチ治療の新展開. 平成 17 年度日本内科学会生涯教育講演会(教育講演)大阪. 平成 17 年 2 月
6. 田中良哉. 生物学的製剤と膠原病の臨床: 治療のブレークスルーを目指して. 第 102 回日本内科学会総会(教育講演)大阪.
7. 田中良哉. インフリキシマブの有用性と問題点. 第 49 回日本リウマチ学会総会・学術集会(シンポジウム)横浜
8. 田中良哉. リウマチ膠原病治療のパラダイムシフト — 生物学的製剤が果たす役割 — 日本内科学会関東支部第 32 回生涯教育講演会(教育講演)東京
9. 田中良哉. 膠原病における免疫抑制 — 生物学的製剤によるパラダイムシフト —. 第 26 回日本炎症・再生医学会総会(シンポジウム)東京
10. 田中良哉. 重症 RA に対する新規治療: 適応とリスクマネージメント. 第 20 回日本臨床リウマチ学会総会(シンポジウム)神戸
11. 田中良哉. TNF 阻害療法によるリウマチ治療の

新展開. 第 33 回日本リウマチ関節外科学会(シンポジウム)東京

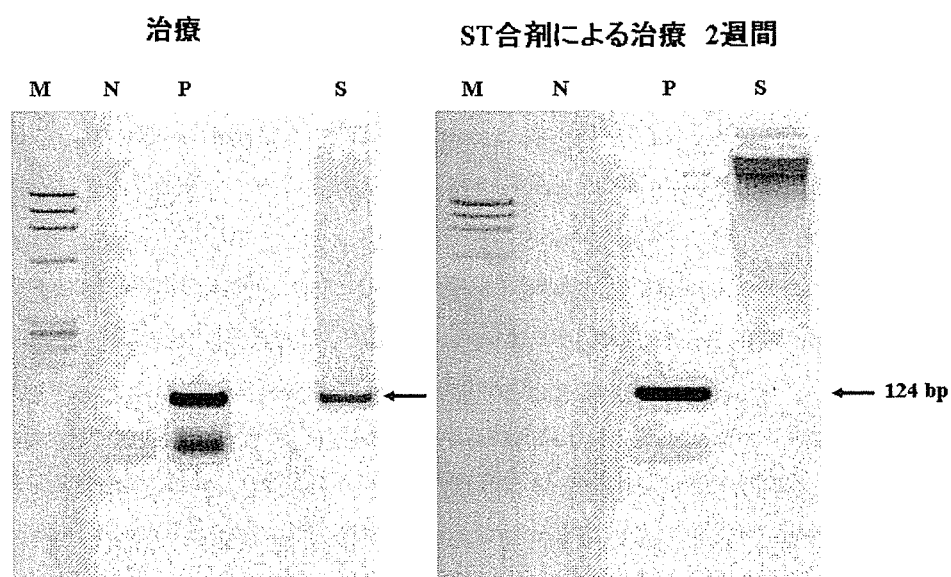
12. 田中良哉. 炎症性免疫疾患に対する抗 CD20 抗体療法. 第 103 回日本内科学会(シンポジウム)横浜. 平成 18 年 4 月 14-16 日
13. 田中良哉. B 細胞の CD20 をターゲットとしたリウマチ性疾患の治療戦略. 第 50 回日本リウマチ学会総会・学術集会(シンポジウム)長崎. 平成 18 年 4 月 23-26 日
14. 田中良哉, 山本一彦, 竹内勤, 西本憲弘, 宮坂信之, 住田孝之, 三森経世, 小池隆夫. 全身性エリテマトーデスを対象とした抗 CD20 モノクローナル抗体リツキシマブの臨床第 I / II 相試験(中間報告). 第 50 回日本リウマチ学会総会・学術集会(シンポジウム)長崎. 平成 18 年 4 月 23-26 日
15. 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
16. 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
17. 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
18. 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
19. 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
20. 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



M: Marker 4 (ϕ X 174 Hae III digest), N: negative control, P: positive control
S: sample

図 *Pneumocystis* のPCRによるDNA診断

表 ニューモシスチスDNA診断と臨床検査値

		DNA診断		
		陰性 (n=10)	陽性 (n=19)	p-value
Age		58.0 $\pm$ 5.4	57.2 $\pm$ 13.3	NS
WBC	(/mm ³)	13933 $\pm$ 1726	6882 $\pm$ 836	< 0.01
Lymphocytes	(/mm ³)	710 $\pm$ 157	280 $\pm$ 50	< 0.05
CRP	(mg/dl)	12.8 $\pm$ 2.7	7.9 $\pm$ 1.5	NS
ESR	(mm/hr)	80.7 $\pm$ 16	49.9 $\pm$ 7.6	NS
LDH	(IU/l)	597 $\pm$ 195	768 $\pm$ 172	NS
IgG	(mg/dl)	1189 $\pm$ 175	842 $\pm$ 72	< 0.05
KL-6	(U/ml)	1397 $\pm$ 681	1684 $\pm$ 425	NS
β -D-glucan	(pg/ml)	16.5 $\pm$ 7.7	170 $\pm$ 129	< 0.01
C7-HRP	(/50000 cells)	0	11.9 $\pm$ 5.3	< 0.05
PSL	(mg/day)	15.6 $\pm$ 6.0	48.7 $\pm$ 6.0	< 0.01

Saito, K et al: Rheumatology, 2004より改変

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で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って、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明確となった。

②悪性疾患の発症状況（表 1 参照）：2003 年度-2005 年度の 3 年間に新規悪性疾患の発生が 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）、他方、結腸癌合併の低リスク（ $SIR=0.13$ ：0～0.39）が認められた。

D. 考察

①結核

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の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。結核発症のリスクが高いこと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的な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。当然のことながら結核以外の感染症リスクも懸念される。いわゆる日和見感染症の発生や各種感染症の重篤化が問題となるのである。本分担研究班が結核に注目した理由は、2 つある。ひとつは生物学的製剤により結核発症リスクが高くなるとの諸外国からの情報である。ふたつは結核予防法により本邦における結核の発生状況が入手し易かったことである。すなわち本邦 RA 患者における結核発生状況を正確に把握できれば、本邦全体の状況と容易に比較できたからである。生物学的製剤市販後調査結果や iR-net からの情報によると、感染症で最多なものは結核ではなく一般細菌やニューモシスティスによる肺炎であることが分かっている。易感染性のひとつの指標として結核に注目しつつ、他の重症感染症についても実態を把握する必要がある。

②悪性疾患

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。

以下、RA と薬物治療と悪性疾患に関する疫学研究について記述する。

1. RA と悪性新生物

RA においては、北欧から 1.08～1.4 倍程度の悪性腫瘍リスク増加が少数報告されているものの^{1,3}、全世界的には大多数の報告で有意なリスク増加は認められていない⁴⁻⁸。しかしながら、種類別に集計さ

れた報告では、RA 患者における高い悪性リンパ腫 (malignant lymphoma; ML)発症リスクではほぼ一致している (表 2)。

a. 関節リウマチ患者における悪性リンパ腫のリスク：RA における悪性リンパ腫の合併リスクは 1.9 ～5.0 倍と集計されている (表 2)。

b. 悪性リンパ腫のリスクとしての RA ～内在リスク vs 薬剤リスク～：RA における高い ML の合併率は、RA の病態に内在した現象であろうか、あるいは、RA に用いられる治療薬の影響なのでであろうか。1998 年、ML 合併 RA41 例と非合併 RA114 例との比較で、血沈、腫脹・圧痛関節数、visual analog scale による医師総合評価から独自に算出された RA 疾患活動性が高い群における ML 合併のオッズ比 (odds ratio; OR)が有意に高い結果が報告されている¹⁰。しかしながら、疾患活動性の高い RA 症例に対して、より多くの強力な抗リウマチ薬が処方された結果として、ML の合併頻度が高まる可能性も考えられる。この点については、先に引用したスウェーデンの報告が解析している¹¹。抗リウマチ薬処方歴について、ML 合併率の OR が検討されており、メトトレキサート (methotrexate; MTX)、抗マラリア薬、クロラムブシル、シクロフォスファミド、シクロスポリン、D-ペニシラミン、注射金剤、ポドフィロトキシン、スルファサラジンの 4 週間以上の処方歴は、ML 合併リスクの有意な増加をもたらさなかった。一方で、RA 疾患活動性と ML 合併リスクとの相関が前述の 1998 年の報告と同様に検討されており¹²、高い疾患活動性における高い合併率が観察されている。さらにステロイド剤の経口・関節内注入歴のある症例ではいずれも有意に低い ML 合併リスクが算出された。以上から、「RA 治療薬の影響ではなく、高い RA 疾患活動性が ML 合併リスクをもたらしている」と結論付けられている。ただし、この研究では、1964 年～1995 年の症例を対象としたため、MTX 処方歴を有する症例が、合併例 378 症例中 19 症例(5%)、非合併例 378 例中 24 例(6%)にとどまり、RA 治療薬の影響による ML 合併リスクの寄与率は 2007 年現在既に変化している可能性があると考えられる。

2. 悪性リンパ腫のリスクとしての RA 薬物療法

a. メトトレキサート (MTX)：

MTX は現在 RA の治療薬として広く用いられているが、一方で MTX による加療中の RA 症例で ML 合併が多く報告されている。MTX は ML の合併リスクを上昇させるのであろうか。

MTX は悪性腫瘍、自己免疫疾患の加療に広く用いられているが、絨毛癌、乾癬の症例に対する検討では、MTX 療法後の ML 合併リスク増加は観察されなかった^{13,14}。また、RA に対する MTX 療法では、フランス全国での集計 (MTX 療法中の RA 患者

27000～30000 例)を元にした報告で NHL の SIR は 1.07(95%CI 0.6-1.7)¹⁵、米国の MTX 療法中の RA 症例 5501 例での検討で、ML の SIR は 1.7(95%CI 0.9-3.2)¹⁶と有意な NHL、ML 合併リスクの上昇を認めなかった。

しかしながら、他方では MTX 中止のみにより縮小～自然軽快する ML が Kamel らの報告¹⁷以来、多くみられる。MTX 療法中の RA 患者 14 例に生じた ML における観察では、MTX 中止のみで 4 例(29%)が消失(CR)、3 例(21%)に改善(PR)が認められている¹⁸。国立病院機構相模原病院でも肺・肝・脾・十二指腸間膜の腫瘍が MTX 中止のみで自然退縮した ML 合併 RA 症例を経験している¹⁹。これらは、MTX そのものによる ML 発症促進作用の存在を明らかに示している。同様の現象は、臓器移植後の免疫抑制療法中の患者に合併したリンパ増殖性疾患にも多く認められており²⁰、MTX の免疫抑制作用が ML 合併リスクを増加させていることをうかがわせる。

集団を対象とした前述の 2 報告^{15,16}で ML 合併リスクの有意な上昇が示されなかったにもかかわらず、個々の症例によっては明らかな関与が認められる点で、MTX の RA における ML 合併への関わりは複雑である。先述した ML 合併リスクとしての高い RA 疾患活動性自体は MTX により抑制され得るわけであるから、MTX は相反する作用 (ML 合併促進／抑制)を通じて、総和としては ML 合併リスクの有意な上昇にはつながっていないと推測されている¹⁵。

b. 生物学的製剤

わが国では、腫瘍壊死因子(TNF)を標的とした生物学的製剤 (インフリキシマブ、エタネルセプト) が RA に保険適用を受けており、従来得難かった治療効果を期待されている。一方で、TNF は抗腫瘍効果を有するサイトカインと考えられており、その拮抗薬である上記 2 種の TNF 阻害薬の臨床応用には、悪性腫瘍合併の増加が懸念されている。

MTX の項で触れた米国における研究では、生物学的製剤についても検討されている¹⁶。MTX・生物学的製剤ともに用いられていない RA 患者(4399 例)、インフリキシマブ療法中の RA 患者(6465 例、エタネルセプト併用症例を含む)、エタネルセプト療法中の RA 患者(3381 例、インフリキシマブ併用症例を含む)における ML の SIR(95%CI)はそれぞれ、1.0(0.4-2.5)、2.6(1.4-5.0)、3.8(1.9-7.5)と、抗 TNF 療法中の患者群で高い ML 合併リスクが観察されたが、単に高活動性 RA 症例に対する TNF 阻害薬処方バイアスを反映した可能性を否定できていない。スウェーデンにおける RA コホート(297102 人年)、TNF 阻害薬 (インフリキシマブ・エタネルセプト・アダリムマブ) 処方 RA コホート(9715 人年)の検討では、性別・年齢・RA 罹患年数により補正した後者

の前者に対する ML の SIR は 1.1(0.6-2.1)であり、TNF 阻害薬による ML 合併リスクの有意な増加は観察されなかった²¹。TNF 阻害薬による ML 合併発症への影響は不明瞭となった。

3. 生物学的製剤は悪性新生物を誘発する？

2006 年 5 月、強力な抗リウマチ作用を有する生物学的製剤である抗 TNF α 抗体（インフリキシマブおよびアダリムマブ）による悪性疾患発生リスクに関する論文が JAMA (The Journal of the American Medical Association) に掲載され、RA 関係者は少なからず動揺させられた²²。無作為割付プラセボ法および抗 TNF 抗体のプラセボを用いた臨床研究のみを選択し、メタアナリシスという手法を用いたその論文によると、抗 TNF α 抗体の投与により悪性疾患の発生リスクが 3.29 倍高まるという結論が導き出されていた。そして抗 TNF 抗体投与症例で発生した悪性疾患 29 症例のうち、4 例が ML であった。しかしながら、このレビューには多くの疑問と意見が寄せられている。原著者がその論文の中で自ら述べている限界も含め問題点を列挙すると、①全体症例数、有害事象発生症例数が少ないため 1 例の違いでオッズ比が大きく変化する（エラーバーが大きい）。②患者背景が異なる。③観察期間（3 ヶ月～1 年）が短い。④プラセボ群の脱落率が高い試験が多いため、結果として抗 TNF α 抗体投与例のリスクを過大に見積もっている可能性がある。⑤異なる結論を示す論文がある²¹。⑥その後には発表された無作為割付プラセボ法による結果（悪性疾患誘発性は認められなかった）²³ も解析に加えるべきである、などである。我々もこの論文の信頼度については疑問を持っている。群間比較をしているようであるが、どれほどの確度を有しているのか不明である。手っ取り早く信頼性を確認する方法としては、一般人口における悪性疾患発生状況との比較 (SIR) をすればよい。一般人口における悪性疾患発生率との比較 (SIR) を介して評価すれば、コントロール群あるいは抗 TNF α 抗体群ともコホートの質そして悪性疾患発生リスクが算出できるはずなのである。

以上、RA における悪性新生物誘発リスクの増加因子と懸念される薬剤として、MTX と生物学的製剤について触れた。MTX 誘発性悪性新生物 (ML) の存在は明らかであるが、そのこと自体が MTX による治療全体を否定するものではない。また、その他の悪性新生物を含めて、各種 RA 治療薬による発生リスクを評価するためには、RA 疾患活動性を考慮した臨床研究デザインによる知見の蓄積が必要である。現在、日本ではこの要件を満たすいくつかの臨床研究が稼働している。生物学的製剤の影響についても同様であり、REAL に期待したい。

引用文献

- 1) Kauppi M, Pukkala E, Isomaki H. Excess risk of lung cancer in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 23(8):1484-5. 1996
- 2) Mellemkjaer L, Linet MS, Gridley G, et al. Rheumatoid arthritis and cancer risk. *Eur J Cancer.* 32A(10):1753-7. 1996
- 3) Askling J, Forel CM, Brandt L, et al. Risks of solid cancers in patients with rheumatoid arthritis and after treatment with tumour necrosis factor antagonists. *Ann Rheum Dis.* 64(10):1421-6. 2005
- 4) Katusic S, Beard CM, Kurland LT, et al. Occurrence of malignant neoplasms in the Rochester, Minnesota, rheumatoid arthritis cohort. *Am J Med.* 78(1A):50-5. 1985
- 5) Cibere J, Sibley J, Haga M. Rheumatoid arthritis and the risk of malignancy. *Arthritis Rheum.* 40(9):1580-6. 1997
- 6) Thomas E, Brewster DH, Black RJ, et al. Risk of malignancy among patients with rheumatic conditions. *Int J Cancer.* 88(3):497-502. 2000
- 7) Ekstrom K, Hjalgrim H, Brandt L, et al. Risk of malignant lymphomas in patients with rheumatoid arthritis and in their first-degree relatives. *Arthritis Rheum.* 48(4):963-70. 2003
- 8) Chiba N. The incidence of cancer among Japanese patients with rheumatoid arthritis on 2003 obtained by using NinJa. [abstract] *Mod Rheumatol.* 16 Suppl:202, 2006
- 9) <http://www.ninja-ra.jp>
- 10) Baecklund E, Ekblom A, Sparen P, et al. Disease activity and risk of lymphoma in patients with rheumatoid arthritis: nested case-control study. *BMJ.* 317(7152):180-1. 1998
- 11) Baecklund E, Iliadou A, Askling J, et al. Association of chronic inflammation, not its treatment, with increased lymphoma risk in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 54(3):692-701. 2006
- 12) Yasuda M. Drug therapy for the patients with RA recorded in 2003 iR-net. - Comparison with those of 2002 and 1990.- [abstract] *Mod Rheum* 16 Suppl:163-164, 2006
- 13) Rustin GJ, Rustin F, Dent J, et al. No increase in second tumors after cytotoxic chemotherapy for gestational trophoblastic tumors. *N Engl J Med.* 308(9):473-6. 1983
- 14) Nyfors A, Jensen H. Frequency of malignant neoplasms in 248 long-term methotrexate-treated psoriasis. A preliminary study. *Dermatologica.* 167(5):260-1. 1983
- 15) Mariette X, Cazals-Hatem D, Warszawski J, et al.

Lymphomas in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate: a 3-year prospective study in France. *Blood*. 99(11):3909-15. 2002

- 16) Wolfe F, Michaud K. Lymphoma in rheumatoid arthritis: the effect of methotrexate and anti-tumor necrosis factor therapy in 18,572 patients. *Arthritis Rheum*. 50(6):1740-51. 2004
- 17) Kamel OW, van de Rijn M, Weiss LM, et al. Brief report: reversible lymphomas associated with Epstein-Barr virus occurring during methotrexate therapy for rheumatoid arthritis and dermatomyositis. *N Engl J Med*. 328(18):1317-21. 1993
- 18) Salloum E, Cooper DL, Howe G, et al. Spontaneous regression of lymphoproliferative disorders in patients treated with methotrexate for rheumatoid arthritis and other rheumatic diseases. *J Clin Oncol*. 14(6):1943-9. 1996
- 19) Shimada K, Matsui T, Kawakami M, et al. 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 Med (in press)*.
- 20) Shroff R, Rees L. The post-transplant lymphoproliferative disorder-a literature review. *Pediatr Nephrol*. 19(4):369-77. 2004
- 21) Askling J, For  d CM, Baecklund E, et al. Haematopoietic malignancies in rheumatoid arthritis: lymphoma risk and characteristics after exposure to tumour necrosis factor antagonists. *Ann Rheum Dis*. 64(10):1414-20. 2005
- 22) Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, et al. Anti-TNF Antibody Therapy in Rheumatoid Arthritis and the Risk of Serious Infections and Malignancies -Systematic Review and Meta-analysis of Rare Harmful Effects in Randomized Controlled Trials-JAMA. 295:2275-2285. 2006
- 23) Ferdinand CB, Michael HW, Arthur FK, et al The PREMIER Study: A Multicenter, Randomized, Double-Blind Clinical Trial of Combination Therapy With Adalimumab Plus Methotrexate Versus Methotrexate Alone or Adalimumab Alone in Patients With Early, Aggressive Rheumatoid Arthritis Who Had Not Had Previous Methotrexate Treatment. *Arthritis Rheum*. 54:26-37. 2006

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しものである。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-Cyclic Citrullinated 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.
 7. Shimada K, Matsui T, Kuga Y, Nishino J, Masao Takemura M, Ozawa N, Nakayama H, Sugii S, Ozawa Y, Tohma S. Serum Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) Level as a Prediction Marker for Joint Destruction in Japanese Patients of Early Rheumatoid Arthritis (RA) before Anti-Rheumatic Treatment. Arthritis & Rheumatism. 2005, Vol.52, S125, Nov.
 8. Matsui T, Shimada K, Tohma S. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody in rheumatic diseases other than rheumatoid arthritis. Clinical Rheumatology. 2005, Nov 10;1-2
 9. Matsui T, Ohsumi K, Sumitomo S, Shimane K, Watanabe J, Nakayama H, Sugii S, Ozawa Y, Tohma S. Clinical Utility of the Quantitative Measurements of CD64 on Granulocytes to Distinguish Infection from a Flare of Rheumatoid Arthritis. Arthritis Rheum 2004; 50 (9): S163.
- 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	12

(表2) 関節リウマチにおけるリンパ腫の標準化罹患率

国	報告年	症例数 (人年)	リンパ腫の種類	SIR	(95%信頼区間)
デンマーク	1996	20699(144421)	lymphoma	3.4	(1.8-5.6)
イギリス	2000	7080(38654)	NHL(男)	2.39	(1.61-3.41)
			HD(男)	5.49	(2.36-10.8)
		19543(113333)	NHL(女)	2.04	(1.60-2.58)
			HD(女)	3.04	(1.39-5.78)
米国	2004	18572	lymphoma	1.9	(1.3-2.7)
スウェーデン	2005	53067(297102)	lymphoma	1.9	(1.7-2.1)
日本	2006	5195(9933)	ML(女)	5.01	(1.30-8.72)

NHL：非 Hodgkin リンパ腫、HD：Hodgkin 病、ML：悪性リンパ腫、SIR：標準化罹患率

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 *in vitro* 実験、および、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。

生物学的製剤による直接的な NK 細胞のアポトーシスは、*in vitro* 実験で証明できなかった。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。また、生物学的製剤使用 RA 患者では、NK 細胞中の perforin 分子と鎖の経時的発現低下がみられた。

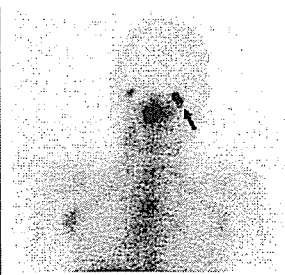
以上の検討から、RA 患者では、NK 細胞数低下を伴わない NK 活性の低下が元々存在し、生物学的製剤を使用することによって、さらに NK 活性が低下することが判明した。この NK 活性低下が、悪性腫瘍発生リスクを高めている可能性が示唆された。

NK 活性に基づいた新規生物学的製剤投与・継続の方針として、生物学的製剤投与前・投与中に NK 活性を検討し、異常低値の場合、あるいは低下傾向が著しい場合は、投与を中止する。もし、NK 活性が低い状態で使用する場合は、患者への将来の発癌リスクを含めた十分な説明、同意が最低でも必要である。

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。

私たちは、2005 年 2 月、ある生物学的製剤を投与中に、眼窩内に悪性リンパ腫(Follicular large B-cell type)を発症した 59 歳女性 RA 患者に遭遇した。この患者は、生物学的製剤投与開始から約 1 年 8 ヶ月後に悪性腫瘍を発症しており、薬剤との因果関係が十分推察される症例であった(右図 左;眼窩 MRI 像、右;ガリウムシンチ像、矢印が悪性リンパ腫)。



2006 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 *in vitro* 実験、および、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) 健康者末梢血から NK 細胞を negative selection で分離、培養液中に Infliximab (1, 10, 100 $\mu\text{g/ml}$)、Etanercept (0.675, 1.25, 2.5 $\mu\text{g/ml}$)、ネガティブコントロールとしてヒトガンマグロブリン (1, 10, 100 $\mu\text{g/ml}$)、ポジティブコントロールとしてサイトカイン(IL-2 150 IU/ml + IL-12 2ng/ml)を添加し、24h、48h、72h 後に NK 細胞がアポトーシスを生じているか、Annexin V、DiOC6(3)を使用してフローサイトメータで解析した。

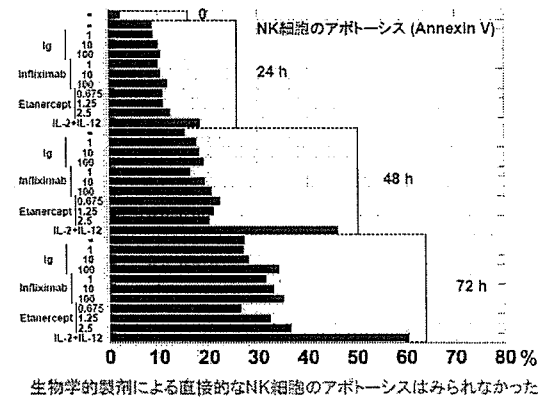
2) 当大学病院、および、ながさき内科リウマチ科病院受診中の RA 患者 23 例、原発性シェーグレン症候群(SS)患者 19 例、健康者 13 例の末梢血中の NK 細胞数、NK 細胞活性を比較した。

3) 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、個人情報情報は匿名化により保護されている。

C. 研究結果

1) *in vitro* 実験で、NK 細胞のアポトーシスは、各生物学的製剤添加、24h、48h、72h 後と増加したが、ネガティブコントロールと差はなかった。Annexin V のデータを下図に示す。



2) RA 患者、SS 患者ともに、健康者と比べて 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±16.3	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

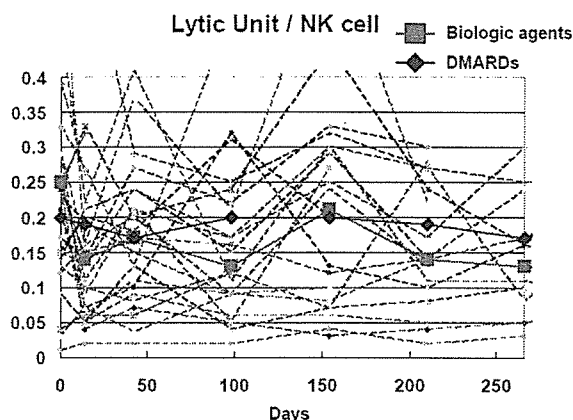
疾患とNK活性

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 ↓	↓	

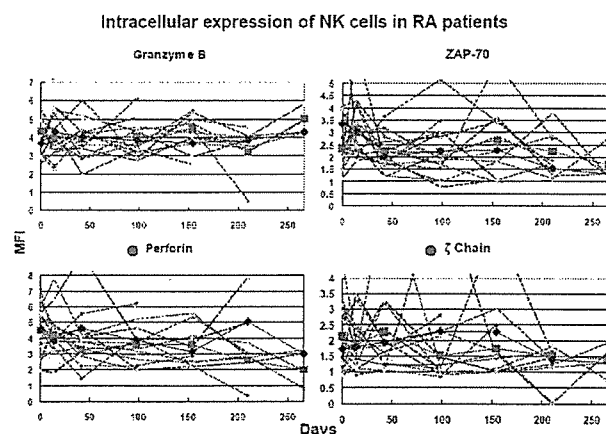
HLH = hemophagocytic lymphohistiocytosis

MAS = macrophage activation syndrome

3) 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。



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



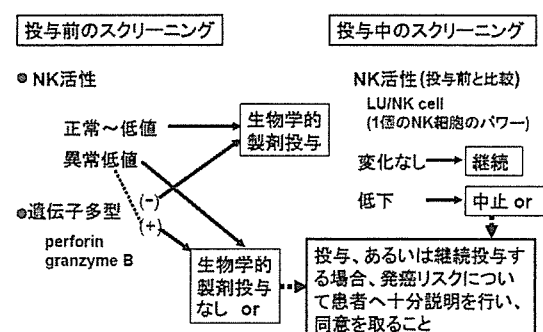
D. 考察

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。実際の RA 患者の検討では、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。本研究では、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。それらの結果として、RA 患者の NK 活性が低下し、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。

NK 活性に基づいた新規生物学的製剤投与・継続の方針を下図に示す。生物学的製剤投与前に NK 活性を検討し、異常低値の場合は、投与を見合わせる。その場合、機能異常を示す granzyme B、perforin の遺伝子多型が報告されていることから、それらの検索も必要であろう。また、生物学的製剤投与中に NK 活性を検討し、低下傾向が著しい場合は、投与を中止する、などの方策が必要と考えられた。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というエビデンスが存在することから、NK 活性が低い状態で使用する場合は、患者への将来の発癌リスクを含めた十分な説明、同意が最低でも必要と考える。

NK 活性に基づいた新規生物学的製剤投与・継続の方針



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, Eguchi K. (2 番目、他 12 名) 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, Anderson P, Eguchi K. (2 番目、他 10 名) 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
- Izumi Y, Ida H, Anderson P, Eguchi K. (2 番目、他 10 名) Mechanisms of impaired natural killer cell activity in primary Sjögren's syndrome: involvement of low NK cell number and low expression of NK cell activating receptors. **Ann Rheum Dis**. 64 suppl 3:310, 2005
- Ida H, Utz PJ, Anderson P, Eguchi K. Granzyme B and NK cell death. **Modern Rheum**. 15(5): 315-322, 2005.
- Huang M, Ida H, Eguchi K. (2 番目、他 14 名) Detection of apoptosis-specific autoantibodies directed against granzyme B-induced cleavage fragments of the SS-B (La) autoantigen in sera from patients with primary Sjögren's syndrome. **Clin Exp Immunol**. 142(10): 148-154, 2005.
- Izumi Y, Ida H, Eguchi K. (2 番目、他 11 名) Characterization of peripheral natural killer cells in primary Sjögren's syndrome: impaired NK cell activity and low NK cell number. **J Lab Clin Med**. In press.
- 井田弘明、和泉泰衛、黄明国、有馬和彦、江口勝美

アポトーシスによる新たな組織障害機構: グランザイムB の役割 リウマチ科 34 巻 4 号 p416-425 2005 年

- Ida H, Eguchi K. (筆頭著者、他12名): A novel mutation (T61I) in the gene encoding tumour necrosis factor receptor superfamily 1A (TNFRSF1A) in a Japanese patient with tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) associated with systemic lupus erythematosus. **Rheumatology (Oxford)** 43: 1292-9, 2004
 - Kawakami A, Ida H(9番目、他13名): Anti-apoptogenic function of TGFbeta1 for human synovial cells: TGFbeta1 protects cultured synovial cells from mitochondrial perturbation induced by several apoptogenic stimuli. **Ann Rheum Dis** 63: 95-7, 2004
 - Migita K, Ida H(7番目、他9名): Suppressive effect of leflunomide metabolite (A77 1726) on metalloproteinase production in IL-1beta stimulated rheumatoid synovial fibroblasts. **Clin Exp Immunol** 137: 612-6, 2004
 - Miyashita T, Ida H(8番目、他10名): Osteoprotegerin (OPG) acts as an endogenous decoy receptor in tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-mediated apoptosis of fibroblast-like synovial cells. **Clin Exp Immunol** 137: 430-6, 2004
 - Tanaka F, Ida H(5番目、他5名): Interleukin-18 induces serum amyloid A (SAA) protein production from rheumatoid synovial fibroblasts. **Life Sci** 74: 1671-9, 2004
 - Yamasaki S, Ida H(6番目、他7名): Cytokines regulate fibroblast-like synovial cell differentiation to adipocyte-like cells. **Rheumatology (Oxford)** 43: 448-52, 2004
- ### 2. 学会発表
- Aramaki T, Ida H, Eguchi K. (2 番目、他 12 名) 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.