

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

関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療開発に関する研究

平成17年度～19年度 総合研究報告書 1 / 2冊

主任研究者 越智 隆弘

平成20（2008）年3月

(別添2)

目 次

I. 総合研究報告書

関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療開発研究・・・・・・・・・・ 1

越智 隆弘

(資料) リウマチ診療施設事例集 (平成 17 年 10 月)

(資料) 関節リウマチ患者さんのための自己管理マニュアル

1. 西沢 良記 分担研究者・・・・・・・・・・ 10
2. 吉川 秀樹 分担研究者・・・・・・・・・・ 15
3. 島岡 康則 分担研究者・・・・・・・・・・ 20
4. 宇月 美和 分担研究者・・・・・・・・・・ 23
5. 大和谷 厚 分担研究者・・・・・・・・・・ 26
6. 前田 朋子 分担研究者・・・・・・・・・・ 27
7. 廣畑 俊成 分担研究者・・・・・・・・・・ 29
8. 山村 研一 分担研究者・・・・・・・・・・ 31
9. 田中 栄 分担研究者・・・・・・・・・・ 34
10. 前田 和久 分担研究者・・・・・・・・・・ 39
11. 長田 重一 分担研究者・・・・・・・・・・ 41
12. 鈴木 隆二 分担研究者・・・・・・・・・・ 43

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・ 47

IV. 研究成果の刊行物・別刷・・・・・・・・・・ 56

(別添3)

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)

総 合 研 究 報 告 書

主任研究者 : 越智 隆弘

研究課題：関節リウマチ・骨粗鬆症の重症化防止治療開発研究

課題番号：(H17-免疫-一般-007)

主任研究者：所属機関 大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻
氏名 越智 隆弘

分担研究者：所属機関 大阪市立大学大学院医学研究科
氏名 西沢 良記
所属機関 大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学（整形外科）
氏名 吉川 秀樹
所属機関 行岡病院
氏名 島岡 康則
所属機関 岩手医科大学医学部 病理学第一講座
氏名 字月 美和
所属機関 大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻
氏名 大和谷 厚
所属機関 塩野義製薬株式会社医薬開発研究本部創薬研究所
氏名 前田 朋子
所属機関 北里大学医学部膠原病・感染内科
氏名 廣畑俊成
所属機関 熊本大学発生医学研究センター
氏名 山村 研一
所属機関 東京大学大学院医学系研究科 整形外科 講師
氏名 田中 栄
所属機関 大阪大学大学院医学系研究科内分泌代謝内科
氏名 前田 和久
所属機関 京都大学大学院医学研究科
氏名 長田 重一
所属機関 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
氏名 鈴木 隆二
所属機関 日本大学医学部 整形外科学
氏名 龍 順之助

研究要旨 関節リウマチ(RA)に発症する骨粗鬆症(RA・骨粗鬆症)の、I) 評価方法の確定、発症の現状調査、RA患者に対する治療疫学的研究としてステロイド薬の影響とビスホスホン酸治療の有効性を示すとともに、進行例に対しての連通多孔体人工骨充填手術の有効性を示した。重症化の予後診断指標開発研究として抗C1qモノクロ抗体作製に成功しRA患者予後診断における血清中C1q値の有意性を示し、更にエピトープ解析を進め、診断薬開発へと進めている。II) 重症化機序解明と治療法開発研究として、1)特異的病巣を形成するナース様細胞(RA-NLC)の病理・病態学的解析研究を進めるとともに、各種血球細胞の活性化病態や分化能の解明より多彩な病態形成能を証明して骨髄病巣を裏付けた。更に、CD34骨髄細胞からのナース様細胞分化研究を進めた。またAdiponectinやOsteopontin中和抗体などによるRA-NLC機能抑制現象の解析から新規創薬への手がかりを進めてきたとともに、DNase II 遺伝子抑制による関節炎発症機序解明から関節炎発症機序の新たな視点の解析研究を進めている。また、ナース様細胞が単球系を活性化させて現れるRA特異的(RANKLE非依存性)破骨細胞病態解明研究を進めた。この特異性はMMP12発現が特徴的であり、この遺伝子改変マウス開発を進めてきた。併せて従来既知のRANKL依存性破骨細胞の分化亢進もあり、シ

グナル伝達機序解明も併せ分化抑制解析から創薬の手がかりを得た。Ⅲ) RA骨髄特異的遺伝子解析により得たLIGHT、Granulin、SHIPS-1、AREGなどのRA患者病態解明とともに、遺伝子改変マウス作成による病態解明から治療薬開発研究を進めてきた。

1、研究目的

社会の高齢化を迎え、加齢に伴う骨粗鬆症、骨折、続発する機能障害を併発した高齢者が増加し、社会的及び医療経済的問題を大きくしている。関節リウマチ(RA)患者も高齢化して、従来から熟知されている骨関節破壊に加えて、高度の骨粗鬆症に起因する大腿骨頸部骨折、椎体骨折発症合併が増加して、自立喪失の要介護患者が増している。

このような社会的医療背景のもとに、申請者らは平成16年度までに、関節リウマチ(RA)患者には特異的な骨粗鬆症が合併し、骨折リスクは高く、骨・関節破壊の重症化に到る事と、X線臨床診断法を示した。そして、そのようなRA病態を作る最も重要な異常細胞は、RAで異常に活性化した単核細胞を抱きこみ、アポトーシス抑制機序により増殖を促し病巣を形成する特異な線維芽細胞様細胞(ナース様細胞; RA-NLC)と、このRA-NLCの存在によって特異的に分化するRANKL非依存性の破骨細胞であることを解明してきた。

更に、一連の異常なRA病態が腸骨骨髄などの造血系骨髄細胞に起因することを解明し、骨髄細胞の遺伝子解析により、未だ未解明のRA病因・病態が解明され、根治療法開発に繋がることを示唆してきた。このような臨床的、病態的解明実績をもとに、以下の項目での解明研究を進めることを目的とした。

I) RA・骨粗鬆症の臨床疫学的研究: RA骨粗鬆症の実態調査と診断法、治療法確立による早期診断と、進行抑制の治療法確立が先ず第一段階である。

II) RA重症化機序解明と治療法開発研究: RA病巣を形成する特異なRA-NLCと、この共存によって特異的に分化するRANKL非依存性破骨細胞との病態解明

により、RA病巣の骨・関節破壊を阻止し、重症化を防ぐ治療薬開発を進めることが第二段の目的である。

Ⅲ) RA骨髄細胞からの病因遺伝子解明と治療法開発研究: RAの原因病巣であるRA骨髄血中に特異的に発現する物質を精査して、未解明の病因・病態解明から完治療法開発へと進めることが大目的である。

Ⅳ) リウマチ診療現場での問題点調査; リウマチ医療体制に関する調査施行と、リウマチ患者の自己管理の手引き作成などを適時に進め、リウマチ患者の日常のQOL改善を図る。

2、研究方法

I) RA・骨粗鬆症の治療疫学的研究:

1) RA骨粗鬆症進行抑制・改善の治療法開発研究:

① RA・骨粗鬆症の薬物治療法確立研究(西澤分担研究者); 薬物治療効果の検討として、ステロイド薬、抗リウマチ薬、ビスフォスホン酸製剤など投与のRA症例多数症例を対象に群間比較を行った。更に新たな骨折の発生について日本骨粗鬆症学会の基準に基づきRA骨粗鬆症治療効果について検討した。また、動脈硬化との関連も調べた。

② 人工骨によるRA患者の脆弱骨再生研究(吉川分担研究者); 新たに開発した人工骨(連通多孔体人工骨; NEOBONE)をウサギ膝関節近傍に移植し、骨再生を検討した上で、RA患者の関節近傍囊胞性骨病変に充填し、OA患者を比較対照として検討を進めた。更に、人工骨内に骨形成蛋白(BMP)を導入し、骨再生の促進を試みた。

2) RA・骨粗鬆症重症化の予後診断マーカー開発研究(島岡分担研究者); RA患者の重症化予後診断可

能と報告されていた血中C1q蛋白量測定を可能とする10種類の抗C1qモノクロー抗体作製に成功し、E LISAキット完成し、血清C1q値と臨床評価との比較検討を進めた。

II) RA重症化機序解明と治療法開発研究：

1) ナース様細胞（線維芽細胞様細胞）病態解明研究

- ① 膜線維芽細胞様細胞の由来、特性に関する研究（宇月分担研究者）：放射線照射後のC57BL/6マウスにGFPトランスジェニックマウス由来の骨髄細胞を移植しての関節炎発症研究。
- ② 滑膜（ナース様）細胞特定目的の病理・病態学的解析研究（宇月分担研究者、吉川分担研究者、大和谷分担研究者、前田朋子分担研究者）：i) ナース細胞膜抗原（CD68, 106, 157など）を用いての、RA患者から得られた組織に対する免疫組織化学による検討や超微形態的観察をおこなった。ii) RA滑膜細胞に対し、抗 Osteopontin 抗体を添加抱き込み現象抑制の解析。iii) RA滑膜組織由来T細胞の認識する抗原Aのリコンビナント蛋白の存在下における患者および健康人末梢血の増殖活性を測定した。RAナース細胞依存性に増殖した細胞株の培養上清に産生される免疫グロブリンの反応性を検討すると共に、株化細胞をさらにクローニングし、そのVHレパトア解析を実施した。
- ③ 骨髄細胞からのナース様細胞分化機序解明研究（広畑分担研究者）：RA骨髄CD34+細胞のTNF- α に対する異常反応性のメカニズムを解析するため、RAおよびOA患者腸骨骨髄液よりCD34+細胞を精製し、オリゴdTプライマー法によりcDNAを合成し、Realtime PCRによりNF κ B1(p50)、NF κ B2(p52)、RelA(p65)、KLF5のmRNAを定量した。また、骨髄CD34+細胞より誘導したCD15+細胞および骨髄中形質細胞様樹状細胞（pDC）について、FLCへの分化能を解析した。

④ DNase II 遺伝子抑制による関節炎発症機序解明（長田分担研究者）：DNA II 欠損による関節炎発症マウスの腹腔マクロファージを抗原として、ハムスターを免疫し、アポトーシス細胞の貪食を阻害するモノクローナル抗体を同定、この抗体が認識するたんぱく質を発現クローニング法で同定した。

2) 破骨細胞病態解明研究：

- ① RA特異的(RANKL非依存性)破骨細胞特異的なMMP12について（山村分担研究者、吉川分担研究者）：RA特異的破骨細胞が発現するMMP12の病態解明の為、相同組換えベクターを作製しES細胞に導入しキメラマウスを得る。
- ② RANKL 依存性破骨細胞の RA 病態解明（田中分担研究者）：i) RANKL shedding assay の確立、ii) ST2cDNA ライブラリーのスクリーニング、iii) RANKL 依存性破骨細胞分化シグナルの検討、によって RANKL 可溶化メカニズムと生理的・病的意義とともに、RANKL 依存性破骨細胞分化過程の分子メカニズムを解明する。
- ② アディポネクチンによる RA 特異的破骨細胞抑制研究（前田和久分担研究者、吉川分担研究者）：RA モデルマウス肝臓にアディポネクチンを過剰発現させ、抗炎症・骨吸収抑制作用を検討した。また、RA 患者末梢血より CD14 陽性単球を分離し RA-NLC と共培養して得られる RANKL 非依存性破骨細胞の動態を解析した。

III) RA 骨髄細胞からの病因遺伝子解明と治療法開発研究：

- 1) RA骨髄中に見出した新規物質病態解明研究（越智主任研究者、鈴木分担研究者、前田分担研究者、野島分担研究者[平成17年度まで]）：RA及びOA患者骨髄液、各10例採取したサンプルを用いて、GeneChipによる網羅的解析を行い、最も特徴的に発現が観察された遺伝子で、細胞膜上

もしくは分泌蛋白であるという基準で遺伝子の選定を行い、LIGHT、Granulin、SHPS-1、hu-sulf-1を選択した。RA骨髄液中に発現する疾患特異的遺伝子のほぼ全体が選択的トランスクリプトーム法で解析され、RAと非RAでの詳細な比較検討がなされ、選択した遺伝子に対して、siRNAを設計し、特定の表現系に及ぼす影響を解析することによりAREG(amphireglin)を選択した(野島分担研究者；平成17年度まで)。各遺伝子に対する蛋白合成、モノクロー抗体作成、ELISA系作製し、各物質のin vitro及び、in vivo 効果の解析を進めた。

- 2) RA 骨髄中に見出した新規物質遺伝子変異による病態解明研究(山村分担研究者)：上記各遺伝子に対して順次、CAGGS プロモータを接続したコンストラクトを作製し、トランスジェニックマウスを作製する。トランスジェニックマウス作製においては、まず全身で強く発現させ病気が発症するかどうかを検討するため、すべて CAGGS プロモータを用いることとした。

IV) リウマチ診療現場での問題点調査：

- 1) リウマチ医療体制に関する調査報告(平成7年；龍分担研究者)：リウマチ医療に携わる諸規模の医療施設から代表的施設を抽出して、リウマチ診療現場の問題点を調査した。
- 2) リウマチ患者の自己管理の手引き作成(平成7年；龍分担研究者)：関節リウマチ患者の自己管理を指導する手引書を作成した。

(研究施行における倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針、臨床研究に関する倫理指針、その他、動物の愛護及び管理に関する法律などの倫理指針に法り、関節リウマチ患者への十分なインフォームドコンセントや倫理面へは十分に配慮して研究を進めた。

3. 研究結果

I) RA・骨粗鬆症の治療疫学的研究：

- 1) RA・骨粗鬆症の薬物治療法確立研究(西澤分担研究者)：YAM値低下症例にビスホスホン酸を投与したとき、非投与群に対してL-BMDは増加し骨吸収マーカーBAP、尿中NTX/Cre比は著明に低下した。新規椎体骨折の抑制は6ヶ月以降顕著に認められ、新規骨折の発症率(人/100人・年)はコントロール群に対して、ビスホスホン酸投与群は合わせて44%に減少した。腰椎または大腿骨の骨密度低下RA症例に生物学的製剤などによる強力な炎症抑制によって骨代謝改善は得られても骨密度増加はなく、骨密度はビスホスホン酸を投与したときに有意の増加が得られた。

- 2) 脆弱骨補強目的の人工骨開発、治療研究(吉川分担研究者)：ウサギ大腿骨移植後4週で、人工骨中央部まで、良好な骨形成を認め、BMP含有人工骨では、さらに旺盛な骨再生を認めた。骨髄幹細胞含有人工骨では、筋肉内に移植後4週で、マイクロCT評価により、全ての気孔内に豊富な骨形成を観察することができた。RA患者20例中19例で、術後6-12ヶ月で良好な骨再生を認め人工骨の有用性が示された。造影MRIにおいても、人工骨内部への骨再生が観察された。

- 3) RA重症化の早期予後診断指標の新規確立研究(島岡分担研究者)：新たな抗体によるClq値は、RFとの相関係数は0.28-0.30であったが、CRP、MMP-3、赤沈との相関はいずれも0.07以下で、まったく相関を示さないと考えられた。いずれの抗体についても、軽症型病型と、重症型病型で有意に異なる値を示した。更に、抗Clq抗体が認識するエピトープ解析を進めている。

II) RA重症化機序解明と治療法開発研究：

- 1) ナース様細胞(線維芽細胞様細胞；FLC)病態解明研究：
- ① FLCの由来、特徴に関する研究(字月分担研究者)：関節炎誘導マウスの滑膜組織内に緑色蛍光を有する円形や紡錐形など多彩な細胞が多数認められた。対照群では末梢血顆粒球のみが陽性であった。
- ② 滑膜(ナース様)細胞特定目的の病理・病態学的解析研究(字月分担研究者、吉川分担研究者、大和谷分担研究者)：i) RAの滑膜組織 FLCの特徴はHLA-DRやCD106が陽性を示すほかに、CD68やCD11bなど

のマクロファージ系や CD14 の骨髄系などが陽性となり、電子顕微鏡的には 1)粗面小胞体が発達し、蛋白合成の盛んな FLC 様の細胞、ii)ライソゾームや突起を持つマクロファージ系の細胞のいずれかで RA 発症早期から認められ、Osteopontin 中和抗体により、抱き込み現象が有意に抑制された。iii) 増殖クローンの VH レパトアは培養前と比較しオリゴクローナルとなり、一部に RA ナース細胞に反応する自己抗体の存在を確認した。

③ 骨髄細胞からのナース様細胞分化機序解明研究(広畑分担研究者):RA 患者骨髄 CD34+細胞においては NF κ B1(p50) mRNA の発現が OA 患者に比して有意に亢進していたが、NF κ B2(p52)および RelA(p65)の mRNA については有意な差は認められなかった。メトトレキサート(MTX)あるいはステロイドの投与の有無により、RA 患者骨髄 CD34+細胞の NF κ B1(p50)に対する mRNA の発現に差を認めなかった。RA 患者骨髄 CD34+細胞から FLC 様細胞への分化能は OA 患者に比して有意に亢進していた。RA 患者骨髄 CD34+細胞より誘導した CD15+細胞、また RA 骨髄由来の pDC から FLC 様細胞への分化能には有意差を認めなかった。

④ DNase II 遺伝子抑制による関節炎発症機序解明(長田分担研究者)、マウス腹腔内のアポトーシス細胞の貪食を阻害する抗体(Kat5-18)が認識する膜蛋白、Tim4をマウスL細胞に発現させるとアポトーシスの貪食は亢進した。また、Tim4の細胞外領域はphosphatidylserineに高い親和性を持った。

2) 破骨細胞病態解明研究:

① 遺伝子改変マウスによるMMP12遺伝子の病態解析研究(山村分担研究者、吉川分担研究者):相同組換えベクターにC57BL/6由来のRENKA ES細胞を用いて相同組換えを行い、1クローンを得た。ここからFLPを導入し、7つのクローンを得た。現在、キメラマウス作製中である。

② RANKL 依存性破骨細胞の RA 病態解明(田中分担研究者):RANKL-SEAPを用いたスクリーニング系、およびノックアウトマウスを用いた研究から、MMP14, ADAM10 にか強いRANKL 切断活性を有することが明らかになった。ヒト CD14 陽性細胞が RANKL,

M-CSF の存在下で破骨細胞様多核細胞へ分化するとき発現の変動する遺伝子を同定した。またマウス破骨細胞形成系を用いて、TGF- β がケモカインである fractalkine 受容体である CX3CR1 の発現を促進し、破骨細胞分化に関与する可能性を明らかにした。

① アディポネクチンによるRA特異的破骨細胞抑制研究(前田和久分担研究者、吉川分担研究者); i) コラーゲン誘導性関節炎モデルマウスにアディポネクチンを過剰発現させると関節炎の発症及び重症化、及び関節炎に伴う傍関節の骨吸収も抑制された。ii) ヒトの生理的濃度のリコンビナントアディポネクチンは、RA特異的破骨細胞の増殖・分化・貪食能を有意に抑制した。

III) RA骨髄細胞からの病因遺伝子解明と治療法開発研究:

1)骨髄中に見出した新規物質病態解明研究(鈴木分担研究者、前田分担研究者):

① SHIPS-1; Anti-SHPS-1mAbはマウス骨髄の破骨細胞形成と、脾細胞のIL-1 β , IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α を有意に抑制し、CIAマウス関節部の炎症、骨と軟骨の破壊を有意に減少させた。

② LIGHT; RAではLIGHTが高く存在し、RA滑膜細胞はLIGHTにより増殖する。LIGHTにより炎症性サイトカイン、ケモカイン、接着因子の発現が亢進され、これらはRA滑膜上に存在するLT β R-NF- κ Bの経路であることが明らかとなった。RA滑膜のLIGHT依存性増殖およびIL-8とMCP-1の産生誘導、ICAM-1の発現誘導は共にsiLT β Rで抑制された。LIGHTによるRA滑膜細胞増殖と機能はNF- κ B阻害剤のPDCTで阻害された。

③ Granulin; RAに関する既報は無いが、炎症時にepithelialおよびhematopoietic cellが産生し、epithelialおよびmesenchymal cellの増殖を調整するemerging family of growth factorsであるGranulinが検出さ

れた。RAにおけるGranulinの病態への関与を行うために、抗Granulinモノクロー抗体作成、RA患者での発現蛋白レベルを検討するためにELISA系を作成した。

④ AREG; 用量依存的にIL-6、IL-8、GM-CSF、VEGFを発現し、定量PCRによる滑膜組織におけるVEGF、AREG mRNAの発現、そしてELISAによる関節液中VEGF、AREG濃度ともに、両者は強い相関関係を示した。

⑤ Sulf-1; Nurse細胞に選択的に発現が確認されたhu-sulf-1については、腫瘍細胞増殖抑制効果を有すると言う報告からRA滑膜増殖にnegativeに関与している可能性があると共に、交代作成が順調に進まないため機能解析が進んでいない。

4) RA骨髄中に見出した新規物質遺伝子変異による病態解明研究(山村分担研究者); 5つのリウマチ関連遺伝子のトランスジーンを作製を終了し、現在、トランスジェニックマウスの作製を行っている。また、多くのパーツを連結して相同組換え用のベクターを作製した。

IV) リウマチ診療現場での問題点調査:

1) リウマチ医療体制に関する調査報告(龍分担研究者); リウマチ医療に携わる諸規模の医療施設から代表的施設を抽出して、リウマチ診療現場の問題点を調査した。

2) リウマチ患者の自己管理の手引き作成(龍分担研究者); 日本リウマチ友の会にも参加していただき、自己管理手引書を作成した。

4. 考察

I) RA・骨粗鬆症の治療疫学的研究:

1) RA・骨粗鬆症の薬物治療法確立研究: RA・骨粗鬆症患者の骨密度低下に対して、第二、第三世代のビスホスホン酸製剤を用いた積極的な骨粗鬆症の治療が患者の機能予後、動脈壁硬化度進行さらに生命予後の改善につながる。治療開始のタイミングの検討が必要で、骨代謝回転の亢進が見られる症例では早期の治療開始が必要で

ある。

2) 脆弱骨補強目的の人工骨開発、治療研究: RA・骨粗鬆症が進行し、骨折が懸念される重症RA症例に対して連通多孔体人工骨を充填(人工骨)移植することにより脆弱骨が補強されるのみでなく、強い新生骨が再生する。

3) RA重症化の早期予後診断指標の新規確立研究: 抗Clqを用いての血清検査により、重症RA患者の早期予後診断と治療方針判定は可能となるが、各種抗Clq抗体が共通に認識しているエピトープの解析は更なる診断法、治療法開発への可能性が認められる。

II) RA重症化機序解明と治療法開発研究:

1) ナース様細胞(RA-NLC)病態解明研究: 本研究によりRA-NLCがT細胞の反応にも大きく関与していることが示され、免疫系全般の異常病態の根幹と考えられた。RA-NLC本体の由来に関してはRA骨髄CD34+細胞からの分化の可能性がクローズアップされてきた。ナース細胞誘導機序解明も重要かつ難関な課題であるが、マクロファージ系細胞のアポトーシス抑制が一つの機序として考えられ、今回明らかにされたTim4がどのようなマクロファージに発現しているか、DNase II遺伝子の欠損によっておこる関節炎にどのように関与しているかなどは今後の検討課題である。

2) 破骨細胞病態解明研究: RA特異的に分化・増殖するRANKL非依存的破骨細胞が特異的に発現するMMP12の解明は治療法開発の鍵と考えて、遺伝子改変マウスによる病態解析研究を進めている。一方、RANKL依存性破骨細胞分化にはTGF- β が必須と判明し、また本研究でわれわれは細胞内シグナル分子であるCAPRIのsplicing variant, MMP14, ADAM10がRANKLのsheddingを亢進することが明らかになった。また、Osteopontin、adiponectinにも関節炎発症、破骨細胞分化抑制作用が認められた。

III) RA骨髄細胞からの病因遺伝子解明と治療法開発研究:

GeneChipによる網羅的解析により選択された4遺伝子、LIGHT、Granulin、SHPS-1、hu-sulf-1の内、

hu-sulf-1は抗体作成が順調に進まないため機能解析が進んでいないが他の3遺伝子は順次、該当蛋白を獲得し解析を進め、重要な病態を形成する遺伝子であることが順次明らかになってきた。また、選択的トランスクリプトーム法で選択されたAREG(amphireglin)の病態的重要性も明らかになってきた。更に引き続き遺伝子改変マウスでの解析を進めているが、順調な進捗と考えている。

IV) リウマチ診療現場での問題点調査；

リウマチ医療体制に関する調査報告、リウマチ患者の自己管理の手引き作成とも行政施策に合わせて適時進められた。

5、評価

1) 達成度について

I) RA・骨粗鬆症の治療疫学的研究：RA骨粗鬆症の実態調査と診断法、治療法確立による早期診断と、進行抑制の治療法確立を目指しての研究であったが、RA・骨粗鬆症の薬物治療法確立研究、人工骨によるRA患者の脆弱骨再生研究、RA・骨粗鬆症重症化の予後診断マーカー開発研究ともに最初の目標を達成した。

II) RA重症化機序解明と治療法開発研究：ナース様細胞(RA-NLC)病態はほぼ解明できたが、細胞起源に関してはマクロファージに的を絞ってきたのは大きな達成といえる。しかし、CD34からNLCへの誘導は未達成である。破骨細胞病態解明研究に関してもRANKL依存性、RANKL非依存性破骨細胞ともに研究目標はほとんど達成できたが、後者に特異的なMMP12発現の病態的意味解明に関しては、順調に進んでいるが遺伝子改変動物作成には日数がかかり、この点の未達成はやむを得ないと思っている。

III) RA骨髄細胞からの病因遺伝子解明と治療法開発研究：選択的トランスクリプトーム法およびGeneChipによる網羅的解析により選択されたAREG(amphireglin)、LIGHT、Granulin、SHPS-1、hu-sulf-1に関しては病因、病態学的研究は十分に進み、従来認識されていなかったこれらの物質の重要性を認識した達成度は大きい。明確にするために設定している各系の遺伝子改変動物の開発に長期間を要し、達成できていないことはやむを得ないと思っている。

IV) リウマチ診療現場での問題点調査；

1) リウマチ医療体制に関する調査報告、2) リウマチ患者の自己管理の手引き作成ともに関節リウマチ患者に対する医療政策を有効に進めるために大きな意味があった。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

I) RA・骨粗鬆症の治療疫学的研究：RA患者の骨・関節破壊に関して、骨粗鬆症の観点からの検討はオリジナルなものであり学術的・国際的・社会的意義は大きい。独自に開発した連通多孔体人工骨(ネオポーン)は骨新生、強度確保など諸観点より優れた効果を示し、学術的意味で国際的に注目されている生体材料である。難治のRA・骨粗鬆症に有用であることは社会的意義も大きい。

II) RA重症化機序解明と治療法開発研究：

ナース様細胞(RA-NLC)がリウマチ病巣の根幹を成すことは我々の厚生科学研究に端を発する学術的にオリジナルな研究であり国際的に注目されている。どのようにRA-NLCが作られてくるかは各国研究者は競っているが、今回の研究では大きなヒントを得て進める手がかりを得た。この問題が解決されるとリウマチ病巣の撲滅が可能になり根治療法へと進める大きな進歩になる。マクロファージ系細胞のアポトーシス抑制を引き起こすTim4の発見は学術的、国際的にも大きなインパクトを引き出している。

破骨細胞病態としてはRA特異的なRANKL非依存的破骨細胞を我々が発見したことは学術的にも、国際的にもインパクトの大きなものである。この細胞が特異的に発現するMMP12の解明は学術的にも、国際的にも更に大きなインパクトを引き出すものと考えられるが、明確なエビデンスは遺伝子改変マウスによる病態解析研究と考えて研究を急いでいる。一方、RANKL依存性破骨細胞分化亢進を抑えることも治療上必要であり、本研究で細胞内シグナル分子がRANKLのsheddingを亢進することを明らかにしたことも大きなインパクトである。更に、Osteopontin、adiponectinにも関節炎発症、破骨細胞分化抑制作用も新知見で、学術的にも、国際的にもインパクトの大きなものである。いずれも根治療法の鍵を握るので、社会的意

義は大きい。

Ⅲ) RA骨髄細胞からの病因遺伝子解明と治療法開発研究：RAの主病巣が骨髄にあり、ここでいわゆるナース細胞(RA-NLC)その他の病態形成細胞が作られるという病態説は欧米でかなり注目されている。未だ研究対象になっていなかったRA骨髄特異的遺伝子選択ということで複雑な研究過程であったが5遺伝子を選択できた。遺伝子改変動物作成に時間を要したので未完成であるが、5つのリウマチ関連遺伝子のトランスジーンを作製を終了しているため、進捗は順調といえる。現在、トランスジェニックマウスの作製を行っている。

Ⅳ) リウマチ診療現場での問題点調査：関節リウマチに対する医療政策を有効に行うことを補うもので社会的意義は大きい。

3) 今後の展望について

Ⅰ) RA・骨粗鬆症の治療疫学的研究：RA骨粗鬆症の実態調査と診断法、治療法が夫々確立されたので、薬物治療、人工骨治療、予後診断法ともに広く臨床医、社会に対しての周知を図り、適時・適切な治療が行われ、自立喪失に陥るRA患者の減少に向かうことができる。

Ⅱ) RA重症化機序解明と治療法開発研究：我々が厚生労働科学研究において新たに見出したナース様細胞(RA-NLC)および、特異的破骨細胞分化機序の鍵を握る物質を、本研究において迅速に見出し解析を進めているので、海外グループに先駆けて治療法開発を進めることができると急いでいる。

Ⅲ) RA骨髄細胞からの病因遺伝子解明と治療法開発研究：

選択的トランスクリプトーム法およびGeneChipによる網羅的解析により選択されたAREG(amphireglin)、LIGHT、Granulin、SHPS-1、hu-sulf-1に関して、5つのリウマチ関連遺伝子のトランスジーンを作製を終了して、現在、トランスジェニックマウスの作製を行っている。順次、遺伝子改変動物が開発され、完治療法への標的が絞られるので開発研究は急速に進むと考えられる。

Ⅳ) リウマチ診療現場での問題点調査：行政政策と地方自治体との連携によるリウマチ対策が円滑に行

われる補助手段となる。

4) 研究内容の効率性について

Ⅰ) RA・骨粗鬆症の治療疫学的研究：RA・骨粗鬆症に関して、薬物治療法確立研究、脆弱骨補強目的の人工骨開発、治療研究、RA重症化の早期予後診断指標の新規確立研究を同じ研究班で並行して行った利点として、早期の軽症例から重症例までの一連の治療法を、予後診断による適切な時期選択も含めて検討し、立案できたことは優れた研究効率であった。

Ⅱ) RA重症化機序解明と治療法開発研究：RA・骨粗鬆症の治療疫学的研究と並行しての病態研究の利点として、どの病態が臨床的に最も重要かを皆が認識していたという優れた研究効率があった。RA病態の中でも学術的・国際的・社会的意義の大きいナース様細胞(RA-NLC)および、(特異的)破骨細胞分化機序に絞って病理学者、細胞生物学者、遺伝学者など広い専門分野のトップサイエンティストの研究班だったので、効率よく学術的・国際的・社会的インパクトの大きい成果があげられた。

Ⅲ) RA骨髄細胞からの病因遺伝子解明と治療法開発研究：未だRA病因・病態研究としては未踏査の骨髄から新規病因・病態関連遺伝子を選択するのに、選択的トランスクリプトーム法およびGeneChipを用いたが、期間的には極めて効率的に網羅的解析が進んだ。病因・病態的に鍵になるかは遺伝子改変動物を駆使することになるが、これも極めて効率的に進められている。

Ⅳ) リウマチ診療現場での問題点調査：行政政策と地方自治体との連携によるリウマチ対策が円滑に行われる補助手段として効率的な研究であった。

全体的に、疫学的研究から病因・病態解明、完治療法開発研究までの大きな研究班であったから、このような優れた研究効率でRA骨髄病巣の研究が進められたことを感謝申し上げたい。

6、結論

Ⅰ) RA・骨粗鬆症の治療疫学的研究：RAと診断されれば、早期から適時にビスホスホン酸治療を開始することにより椎体骨折に対する防止効果が得られる。骨粗鬆症進行症例には、連通多孔体人工骨充填による骨補強・新生骨再生が有効である。重症化の予後

診断指標として血中Clq値は有用と考え、開発を進めている。

II) RA 重症化機序解明と治療法開発研究：ナース様細胞 (RA-NLC) は RA 病態を作り出す鍵となる細胞であるが、様々な方向に分化しうる骨髄由来の比較的未分化なマクロファージ系細胞の可能性がある。RA 骨髄 CD34+細胞から分化する可能性に富み、血球細胞核のアポトーシス抑制も視野に入れて、マクロファージが発現する Tim-4 に注目している。これらの結果は根治薬開発に手がかりを与えている。その他、Osteopontin、adiponectin、更に RANKL 依存性の破骨細胞分化系経路を標的にした治療薬も重要な骨破壊抑制薬になり得ることが示唆された。

III) RA骨髄細胞からの病因遺伝子解明と治療法開発研究：

GeneChip 解析、あるいは選択的トランスクリプトーム法で選択された AREG、LIGHT、Granulin、SHPS-1、hu-sulf-1 の内で、抗体作成がうまく進まない hu-sulf-1 以外は順次、該当蛋白を獲得し解析を進め、重要な病態を形成する遺伝子であることが順次明らかになってきた。マウスの内在性遺伝子をヒト遺伝子で容易に置換できる方法を考案し、それに基づき Mmp12 遺伝子に相同組換えを行った ES クローンの単離に成功した。また、5つの遺伝子について、トランスジェーンを構築した。

7, 研究発表

1) 国内

口頭発表	169 件
原著論文による発表	31 件
それ以外の発表	67 件

2) 海外

口頭発表	33 件
原著論文による発表	105 件
それ以外 (レビュー等) の発表	20 件

リウマチ診療施設事例集

平成17年10月

厚生労働科学研究 RA・骨粗鬆症の重症化防止治療開発研究班

主任研究者 越智 隆弘 分担研究者 龍 順之助

はじめに

平成17年3月から、厚生科学審議会疾病対策部会の専門委員会としてリウマチ・アレルギー対策委員会が設置され、リウマチおよびアレルギー対策の指針策定に向けての審議が行われました。そして、今後のリウマチ対策の目標としては、特に重症化防止策の推進に重点が置かれることとなりました。そのために、国と地方公共団体、医師会、学会などの関連団体との連携によってリウマチ対策を推進することが必要になります。その検討の中で、地域におけるリウマチ診療レベルに不均衡があるという指摘があり、その是正のために、現状認識が必要となりました。そこで、大学病院からクリニックまで、諸地域において指導的立場でリウマチ診療に従事している代表的な施設の御協力を頂いて、リウマチ診療施設において努力して頂いている現状および問題点に関する事例集を作成しました。この事例集が、関連組織の相互協力による適切な地域医療確保のための一助となり、今後のリウマチ重症化防止策が推進されることを祈念致しております。

平成17年10月

リウマチ対策検討会委員長 越智隆弘

目 次

北見赤十字病院におけるリウマチ病診療	種市 幸二	1
北海道整形外科記念病院におけるリウマチ病診療	三浪三千男	4
筑波大学附属病院におけるリウマチ病診療	伊藤 聡／住田 孝之	6
高崎市 井上病院におけるリウマチ病診療	櫻井 武男	8
東京都葛飾区 安倍内科医院におけるリウマチ病診療	安倍 千之	9
東京都墨田区 医療法人内田クリニックにおけるリウマチ病診療	内田 詔爾	10
東邦大学医療センター大学病院リウマチ膠原病センターに おけるリウマチ病診療	川合 眞一	11
東京大学医学部附属病院アレルギーリウマチ内科に おけるリウマチ病診療	沢田 哲治／山本 一彦	12
帝京大学医学部附属病院整形外科におけるリウマチ病診療	西村 慶太	14
帝京大学医学部附属病院内科におけるリウマチ病診療	広畑 俊成	17
順天堂大学医学部附属順天堂医院におけるリウマチ病診療	山路 健／金井 美紀／森本 真司	18
日本大学医学部附属板橋病院におけるリウマチ病診療	龍 順之助	20
東京都江東区 蕨内科・リウマチ科医院におけるリウマチ病診療	蕨 治言	22
北里大学病院膠原病リウマチ感染内科に おけるリウマチ病診療	近藤 啓文	24
国立病院機構相模原病院におけるリウマチ病診療	森 俊仁	25
長岡赤十字病院におけるリウマチ病診療	羽生 忠正	26
新潟県立瀬波病院におけるリウマチ病診療	村澤 章	28
国立病院機構大阪南医療センターにおけるリウマチ病診療	佐伯 行彦	31

大阪府堺市 日野病院におけるリウマチ病診療	志水 正敏	32
大阪市 行岡病院におけるリウマチ (RA) 病診療	行岡 正雄	34
(財)甲南病院・加古川病院におけるリウマチ病診療	居村 茂明	45
兵庫医科大学 (リウマチ・膠原病科) におけるリウマチ病診療	佐野 統	47
東広島記念病院リウマチ膠原病センターにおけるリウマチ病診療	山名 征三	48
(医)美摩病院 吉野川リウマチセンターにおけるリウマチ病診療	四宮 文男	50
道後温泉病院におけるリウマチ病診療	高杉 潔	52
松山赤十字病院リウマチセンターにおけるリウマチ病診療	仲田 三平	56
福岡市 近藤リウマチ・整形外科クリニックにおけるリウマチ病診療	近藤 正一	58
産業医科大学病院におけるリウマチ病診療	田中 良哉	60
熊本市 石川整形外科リウマチ科におけるリウマチ病診療	石川浩一郎	64
独立行政法人国立病院機構 別府医療センターにおけるリウマチ診療	安田 正之	67
鹿児島赤十字病院におけるリウマチ病診療	松田 剛正	68

北見赤十字病院におけるリウマチ病診療

種 市 幸 二

I. 当院でのリウマチ病診療状況

当院は695病床の急性期病院であります（在院日数15日）。その中で内科は97病床でリウマチ膠原病、呼吸器、代謝、腎、血液を担当し、混合病棟となっており、リウマチ科として独立していません。リウマチ専門医は3名です。入院はリウマチ膠原病患者20-25名、リウマチ膠原病は診断や治療が困難な場合も多く、在院日数が長期化し、急性期病院では診療がやりづらいのも事実です。在院日数短縮のためシェーグレン症候群のパス入院や大量ステロイド治療の患者はプレドニン30mg/日で早期退院としています。また、人工関節などの手術症例は当病院整形外科が行いますが、リハビリは急性期のみ実施し、2-3週間後のリハビリは他の回復リハビリ施設へ転院の上行っています。今後、DPC導入時にはリウマチ膠原病は外来診療が中心にならざるを得ないと考えています。リウマチ膠原病外来は約2000名（60%は関節リウマチ）の患者を2名のリウマチ専門医により診療しています。1医師30分に4名の患者を予約枠で診察していますが、その中に新患や重症者が混在しますので予約診療時間が1時間くらい遅れることもしばしばあるのが現状であります。他疾患に比べ1名にかかる診察時間が長くなるため診察終了が午後3時過ぎまでかかります。診察時間の短縮のためACRのコアセットに関することは看護師が行い、医師は疼痛関節のみ診察すれば良い流れになっています。

II. 当院リウマチ診療における診療連携の状況

当院は平成17年4月28日に4医師会の協力のもと北海道より地域医療支援病院の承認を受けました。これまでの当院の地域医療連携の取り組みは平成10年9月地域医療支援室開設、平成13年1月地域医療連携室の強化（併任室長、次長、専任の事務員2名）、同年4月地域医療連携委員会の設立、診療情報書の返書・返却規則の整備、平成14年10月登録医システムの構築、診療所・病院へ連携への理解を求めての訪問、同年12月医療機関向けの「ほっと連携」発刊、平成15年7月地元の医師会と当院の地域医療連携委員会のメンバーが中心となり、オホーツク医療連携を考える会が発足し、年2回開催され、疾病別連携として慢性肝炎、糖尿病、癌の連携、病院間の連携パスとして整形外科的疾患、高齢者、身障者などの24時間体制などが地域全体として進められています。一方、リウマチ性疾患の連携に関しては現在のところは一方通行で当リウマチ外来へ紹介される場合がほとんどの状況です。当院リウマチ膠原病外来は昭和61年開設でありにも地域住民や地元の医師に信頼されていることも一因であると思っています。オホーツクリウマチ研究会（10回）、オホーツク臨床免疫フォーラム（8回）が開催され、顔の見える医療を心がけていますが、現実にはリウマチ医療連

携の進捗ははかばかしくありません。病院間の連携パスとしての整形外科的疾患の中でTKA,THA後に他施設の回復リハビリへ転院が唯一の医療連携実行例であります。今後はリウマチ専門医、リウマチ登録医を中心として当院の医療連携に基づいて実行するつもりでいます。

Ⅲ. 当院リウマチ診療の問題点と改善対策

リウマチ患者の数の多さとリウマチ専門医が少ないことが最大の問題点です。また、患者の信頼を受けていることは喜ばしいことですが、リウマチ患者が当院から他医療機関へ転院を希望しなかったり、当院での継続治療を希望する場合がほとんどであります。当院に限りませんが、合併症が多い場合があり、1人あたりの診察時間が長い、入院期間も長くなる場合が多く、急性期病院はもちろんのこと診療所にとっても経営的に不利であります。こうした逆境の中で即効性の改善策は見当たりませんが、最初は地域のリウマチ専門医とリウマチ登録医の中で医療連携を推進し、さまざまな勉強会や研究会などでリウマチ診療プレーヤーを増やし、統一したガイドラインでリウマチ患者を診察するシステムの構築が地味ですが重要と思います。当院が治験や先端の医療、合併症例を受け持ち、安定したリウマチ患者をリウマチ医療連携のプレーヤーの地元の医師会の先生に診てもらい、治療変更時や半年に1度くらいのリウマチの評価に当院を受診していただくのが患者・医師ともに妥協できるのではないかと考えています。すでに、当院は地元の医師会、地域住民に信頼される病院でありますので、それに基づいて一步一步難問を取り除いてリウマチ医療連携を推進できると考えています。

リウマチ医療は少なくともリウマチ教育施設においては同じレベルの診療がその地域の患者に行われなければなりません。診療のレベルを維持・向上するには経営的基盤が必要です。しかしながら、先に述べましたが現在の診療においてはリウマチ診療は経営的にはきわめて不利の状況です。また、リウマチ性疾患はQOLやADLの低下をもたらす代表的疾患です。リウマチ性疾患の克服には先進的な医療を行い、早期に疾患活動性を抑え、合併症対策のできる病院と安定したリウマチ患者を診療する診療所と機能分類することがリウマチ医・患者の幸福を導き出します。これを実現するには、リウマチ医療連携を進めるにあたっては診療報酬におけるインセンティブが必要です。

Ⅳ. 当院におけるリウマチ患者長期経過観察対策

現時点ではリウマチ資料として診療録とは別に個々の患者ごとに作成しています。初診時の詳細なデータ。経過表にはACRのコアセット、ステージ、クラス、薬物療法の有効性、副作用、エスケープ、合併症、RF定量、CBC、肝機能・腎機能、骨密

度、尿中NTX、BAP、胸部X-Pの所見、KL-6、MMP3、手術が記載されています。また、骨関節X-Pは別経年変化をスケッチしています。この作業を外来診察中にするにはかなりの労力が必要ですが、治療方針の変更、患者とのコミュニケーションに必須であることより継続しています。平成18年に電子カルテが導入になるのでこれらのデータをコンピュータ上で運用する予定です。特に、関節図をクリックするだけで、ACR20,50,70、DAS28を自動的に計算するようにします。また、関節X-Pに関してもシャープスコアを自動化できないか交渉中であります。また、過去の資料はすべてスキャナでスーパーシートに取り込みいつでも取り出せるシステムになっています。

I. 当院でのリウマチ病の診療状況

当院では、7～8年前よりリウマチ外来を併設し、2名の専門医による外来診療にあたっている。現在、500～600名のリウマチ患者が通院しており、リウマチ活動性のコントロール不十分の患者の入院治療及びリウマチ疾患に対する手術のため入院治療している患者は常に30名はおり（ベッド数225であるのでその約13%を占める）外来は予約は採用しておらず、随時診療を受け付けることになっている。リウマチ患者の新患数は、月に10～15名であり、そのうち他医からの紹介は約半数を占める。

新患には、リウマチ治療体系を、2004年、日本リウマチ財団から発表された内容を必ず説明して、最終的には生物学的製剤の使用に至ることを説明している。又、血液検査は月1回行うこと、緩解期を迎えたら2～3ヶ月に1回になること、さらに胸部レ線は6ヶ月に1回撮影し、呼吸器内科の専門医にチェックしてもらうこともあわせて説明している。

一方、リウマチ疾患の手術は年間500～800例前後を越え（当院の年間手術例数は2900～3000例である）全体の6～15%前後を占める。

当院は、上肢、下肢、脊椎と各専門医がそれぞれ4～5名で構成され、リウマチ外来で頸椎手術を要する患者が見つければ、脊椎の専門医に手術を依頼し、TKAの適応例は下肢の専門医に依頼する形としている。

さらに、生物学的製剤を含む新しい抗リウマチ剤の投与を開始する際には、我々リウマチ医、薬局、外来、病室の看護師らが製薬会社の学術課の人達から研修を受け、投与方法、合併症、副作用など、その対応を十分に理解することを第一として投与開始している。

先にも述べたが、2人の呼吸器内科専門医とも密に連絡を取り、胸部疾患の発生にも十分な処置をとっており、その実績は明らかに証明されている。

II. 当院リウマチ診療における診療連携の状況

現在、病診連携を行っている医療機関は約40に達し、これらの診療科は、ほぼ全科を網らしている。さらに、約10の整骨院とも連携している。これらの連携先の中で特に強い関係にあるのは山の上病院リウマチ膠原病センターである。当院のリウマチ専門医を一人、週1回外来に派遣し、リウマチ患者の診療に当たらせてもらい、とくに手術適応患者を見つけることを主な仕事とし、主治医との相談の上で、当院での手術を行い、術後は、リハビリを含めたリウマチ治療を再び山の上病院に依頼する形をとっており、逆に当院でのリウマチ治療が不十分な患者の治療を山の上病院に依頼している。