

厚生労働科学研究補助金
分担研究報告書

表 4 痛みの治療の割合

		N	治療		
男性	全体	1343	211	15.7%	
	年齢	30-39	191	20	10.5%
		40-49	479	76	15.9%
		50-59	501	83	16.6%
		60-69	172	32	18.6%
	姿勢	座り仕事	829	142	17.1%
		立ち仕事	348	46	13.2%
		肉体労働	166	23	13.9%
	生活の支障	なし	1039	114	11.0% ***
		あり	304	97	31.9%
痛みの領域	1領域	651	92	14.1%	
	2領域	330	50	15.2%	
	3領域以上	362	69	19.1%	
女性	全体	949	176	18.5%	
	年齢	30-39	171	18	10.5% **
		40-49	358	65	18.2%
		50-59	313	66	21.1%
		60-69	107	27	25.2%
	姿勢	座り仕事	635	126	19.8%
		立ち仕事	269	43	16.0%
		肉体労働	45	7	15.6%
	生活の支障	なし	714	88	12.3% ***
		あり	235	88	37.4%
痛みの領域	1領域	382	49	12.8% ***	
	2領域	225	40	17.8%	
	3領域以上	342	87	25.4%	

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 (χ²乗検定による)

表 5 痛みの治療の割合(6部位)

		生活の支障	N	治療	
男性	首、肩	全体	723	84	11.6%
		なし	600	53	8.8% ***
	腕、手	あり	123	31	25.2%
		全体	217	30	13.8%
	腰	なし	179	18	10.1% ***
		あり	38	12	31.6%
	股関節	全体	685	94	13.7%
		なし	547	58	10.6% ***
	膝関節	あり	138	36	26.1%
		全体	88	9	10.2%
	足	なし	74	5	6.8% *
		あり	14	4	28.6%
女性	首、肩	全体	195	29	14.9%
		なし	168	20	11.9% **
	腕、手	あり	27	9	33.3%
		全体	188	27	14.4%
	腰	なし	156	10	6.4% ***
		あり	32	17	53.1%
	股関節	全体	571	77	13.5%
		なし	457	40	8.8% ***
	膝関節	あり	114	37	32.5%
		全体	189	37	19.6%
	足	なし	150	22	14.7% ***
		あり	39	15	38.5%
男性	首、肩	全体	421	62	14.7%
		なし	331	33	10.0% ***
	腕、手	あり	90	29	32.2%
		全体	86	21	24.4%
	腰	なし	69	13	18.8% *
		あり	17	8	47.1%
	股関節	全体	163	23	14.1%
		なし	127	12	9.4% **
	膝関節	あり	36	11	30.6%
		全体	153	28	18.3%
	足	なし	130	18	13.8% ***
		あり	23	10	43.5%

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 (χ²乗検定による)

厚生労働科学研究補助金
分担研究報告書

表6 痛みの治療の有無とEuroQolの関係

痛み			治療				
			なし	あり			
全体	N		1905		387		
	ドメイン 移動	問題ない	1847	97.0%	351	90.7%	***
		それ以外	58	3.0%	36	9.3%	
	身の回りの管理	問題ない	1896	99.5%	383	99.0%	
		それ以外	9	0.5%	4	1.0%	
	普段の活動	問題ない	1865	97.9%	355	91.7%	***
		それ以外	40	2.1%	32	8.3%	
	痛み/不快感	ない	1206	63.3%	159	41.1%	***
		それ以外	699	36.7%	228	58.9%	
	不安/ふさぎ込み	ない	1663	87.3%	328	84.8%	
それ以外		242	12.7%	59	15.2%		
スコア		平均(SD)	0.85(0.11)		0.80(0.16)	***	
生活の支障なし	N		1551		202		
	ドメイン 移動	問題ない	1516	97.7%	191	94.6%	**
		それ以外	35	2.3%	11	5.4%	
	身の回りの管理	問題ない	1546	99.7%	202	100.0%	
		それ以外	5	0.3%	0	0.0%	
	普段の活動	問題ない	1531	98.7%	194	96.0%	**
		それ以外	20	1.3%	8	4.0%	
	痛み/不快感	ない	1040	67.1%	97	48.0%	***
		それ以外	511	32.9%	105	52.0%	
	不安/ふさぎ込み	ない	1357	87.5%	176	87.1%	
それ以外		194	12.5%	26	12.9%		
スコア		平均(SD)	0.86(0.10)		0.83(0.11)	***	
生活の支障あり	N		354		185		
	ドメイン 移動	問題ない	331	93.5%	160	86.5%	**
		それ以外	23	6.5%	25	13.5%	
	身の回りの管理	問題ない	350	98.9%	181	97.8%	
		それ以外	4	1.1%	4	2.2%	
	普段の活動	問題ない	334	94.4%	161	87.0%	**
		それ以外	20	5.6%	24	13.0%	
	痛み/不快感	ない	166	46.9%	62	33.5%	**
		それ以外	188	53.1%	123	66.5%	
	不安/ふさぎ込み	ない	306	86.4%	152	82.2%	
それ以外		48	13.6%	33	17.8%		
スコア		平均(SD)	0.82(0.21)		0.77(0.19)	***	

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001(ドメインはχ²乗検定による、スコアは分散分析による)

新規抗リウマチ剤の臨床薬理学的評価

分担研究者 川合眞一 東邦大学医学部内科学講座（大森）膠原病科教授

研究要旨：

関節リウマチの病態形成機序が解明されるにしたがって、新規作用機序によるさまざまな新薬が開発されつつある。しかし、それらには基礎的および臨床的な評価、すなわち臨床薬理学的評価が必要である。そこで、以下のような検討を行った。

1. 研究分担者らは、以前より、ヒト関節滑膜細胞を利用して、さまざまな薬剤の *in vitro* の薬効評価を行ってきた。今回の研究班では、これらの *in vitro* 薬効評価法について、臨床応用を目的とした非臨床試験のスクリーニング系としての有用性を検討し、臨床薬理学的評価に用いる妥当性を検討することを目的とした。
2. 既に市販された抗リウマチ薬についても、さまざまな臨床使用上の問題点が指摘されている。まず、生物学的製剤であるインフリキシマブはわが国の治験で短期的な効果で承認されているが、1年間以上といった長期使用を評価した報告はないため、それを検証する臨床試験を計画した。また、世界的な標準薬であるメトトレキサートはわが国で既に承認されているが、以前より承認用量が海外の約半量であることが指摘されている。そのため、高用量の有効性と安全性を検証する臨床試験を計画した。

A. 研究目的：

関節リウマチの病態形成機序が解明されるにしたがって、新規作用機序によるさまざまな新薬が開発されつつある。しかし、それらには基礎的および臨床的な評価、すなわち臨床薬理学的評価が必要である。そこで、ヒト組織を利用した非臨床試験と2つの臨床試験を行うことにより、臨床薬理学的評価をし、抗リウマチ薬の臨床的エビデンスを明確にすることを今回の研究の目的とした。

B. 研究方法：

1. 新規抗リウマチ薬のヒト滑膜細胞を利用した薬効評価

分担研究者らは、東京工業大学の半田宏教授らとの共同研究により、ヒト関節滑膜細胞に対するアポトーシス誘導作用を指標に、TT101と命名したセレコキシブ類似の新規アポトーシス誘導薬を開発した。さらに、ヒト関節滑膜細胞の炎症性サイトカイン産生を指標として、新規抗リウマチ薬の薬効スクリーニングを行ってきた。今回の研究班では、これらの *in vitro* 薬効評価法について、臨床応用のための非臨床試験のスクリーニング系としての有用性を検討した。

関節リウマチ患者の関節手術に際し、患

者から得た関節組織を使用する。関節滑膜組織から、滑膜細胞および軟骨細胞を得た。細胞増殖の程度は、BrdUのDNA取り込み量を指標に検討した。また、アポトーシス誘導作用は、DNA断片化を指標に検討した。滑膜細胞は被験薬存在下CO₂インキュベーターにて培養し、断片化したDNA量をELISAにて測定し、さらに、TUNEL染色によりアポトーシスを確認した。また、各種サイトカイン・ケモカイン産生は各々のELISAキットにて測定した。それらを利用して、新規抗リウマチ薬のアポトーシス誘導作用や炎症性サイトカイン産生能を測定した。

（倫理面での配慮）

本研究計画は東邦大学医学部倫理委員会において承認を得た（No.16-002）。また、本研究の目的に関して十分な説明の後に、組織の研究利用に同意した患者の手術時に得られた関節組織から、検査などに使用する部分を除いた残余組織のみを研究に用いた。

2. 抗リウマチ剤の臨床薬理学的評価

1) インフリキシマブ長期使用時の安全性と有効性の検討

インフリキシマブは、わが国において1年以上の長期使用時の安全性を評価した臨床試験はない。このため、使用実態下調査

(オープン・プロスペクティブ試験)により、本剤を1年間投与した際の副作用発現状況(発現頻度、発現時期、種類、程度等)の把握を行うとともに有効性も調査し、安全性および有効性に影響を与える背景因子を解析する計画とした。

既存治療で効果不十分の関節リウマチ患者(目標200例)において、本剤3mg/kgを1回投与量とし、初回投与後2週および6週後に投与し、以降8週間隔で投与する。最終評価は54週時点とする。なお、本治療法はメトトレキサート併用を前提としているが、用量は特に規定せず、試験終了後に種々の条件を検討する。

(倫理面での配慮)

本研究は使用実態下調査であるため、一般診療におけるインフォームドコンセントの取得後に実施する。また、本研究計画については、各医療機関において定められた手続きに従う。

2) メトトレキサートの用量増加の臨床的有用性に関する検討

関節リウマチに対するメトトレキサートの週1回パルス療法は現在では世界の中心的な治療法であるが、わが国で承認された常用量は6mg/週であり、世界的な常用量の約半分量である。しかし、わが国にはそれを増量することに対する十分なエビデンスがないという理由で、現在のところ添付文書が改定される動きはない。そこで、今回の班研究では、メトトレキサートの6mg/週を超える用量の有効性と安全性を検討する臨床試験を、プラセボを対照とした二重盲検比較試験で計画する。

(倫理面での配慮)

本研究は適応用量拡大のための臨床試験であり、添付文書上の用法・用量外で、しかもプラセボを対照とした研究計画になる予定である。そのため、わが国のGCPおよびヘルシンキ宣言を遵守した計画を立案中である。

なお、1)の計画については製薬企業の協力、2)については製薬企業および厚生労働省・総合機構などの規制当局の協力を得ることにより、産・官・学が一体となって国民福祉に貢献する計画としたい。

C. 研究結果

1. 新規抗リウマチ薬のヒト滑膜細胞を利用した薬効評価

我々は、前述したように、東京工業大学の半田宏教授らとの共同研究により複数のセレコキシブの誘導体を作製した(特願2004-44561)。今回、新規アポトーシス誘導薬、TT101について詳細に検討した。(J Pharmacol Exp Ther 2005314:796-803)。また、他の薬物についても、同じモデルまたはサイトカイン・ケモカイン産生能を指標にした検討を進めている。

2. 抗リウマチ剤の臨床薬理学的評価

1) インフリキシマブ長期使用時の安全性と有効性の検討

使用実態下調査による本研究を本年度より実施中であり、成果は来年度以降に解析する予定である。

2) メトトレキサートの用量増加の臨床的有用性に関する検討

本計画作成には、実施前に製薬企業および厚生労働省・総合機構などの規制当局との協議・調整が必要であり、現在それらを進めつつ臨床試験計画を作成中である。次年度中には実施に移したい。

D. 考察

分担研究者らは、選択的シクロオキシゲナーゼ(COX)-2阻害薬の1つであるセレコキシブは、滑膜細胞(*Arthritis Rheum* 2002;46:3159-3167)や大腸癌細胞(*FEBS Lett* 2002;531:278-284)に対して、特異的かつ強力にアポトーシスを誘導することを発見した。今回の研究で、ヒト滑膜細胞に対してセレコキシブよりも約10倍強力にアポトーシスを誘導する化合物、TT101の詳細な作用点を検討した。また、同時に、TT101が他の細胞系に対して作用するか否か、またサイトカイン・ケモカイン産生に及ぼす作用などの検討を進めている。

一方、抗リウマチ剤の臨床薬理学的評価に関する2件の臨床試験については、それぞれ進行中および計画中である。

E. 結論

ヒト滑膜細胞を用いて薬効評価を行う方法論を確立し、強力なアポトーシス誘導作

用を有する TT101 の作用点を検討した。また、既承認の抗リウマチ剤の臨床使用上の問題点を解決すべく臨床試験を計画し、一部実行している。

F. 研究発表

1. 学会発表

1) 近藤啓文¹, 安倍 達², 橋本博史³, 村山隆司⁴, 川合眞一⁵

北里大学医学部内科¹, 埼玉医科大学総合医療センター², 順天堂大学医学部膠原病内科³, 城北病院⁴, 東邦大学大森病院膠原病科⁵

「関節リウマチにおける FK506 (タクロリムス) の有効性と安全性」第 49 回日本リウマチ学会総会学術集会/ワークショップ (W11-5), 2005 年 4 月 17-20 日, 横浜

2) 山本一彦¹, 川合眞一²

東京大学医学部アレルギーリウマチ内科¹, 東邦大学大森病院膠原病科²

「関節リウマチ・高齢患者における FK506 (タクロリムス) の有効性と安全性」第 49 回日本リウマチ学会総会学術集会/ワークショップ (W11-6), 2005 年 4 月 17-20 日, 横浜

3) 高木賢治¹, 川合眞一¹, 小笠原 孝²

東邦大学大森病院膠原病科¹, 都立大塚病院リウマチ膠原病科²

「特発性門脈圧亢進症を合併した混合性結合組織病の一例」第 49 回日本リウマチ学会総会学術集会/ポスター (PD3-k-066), 2005 年 4 月 17-20 日, 横浜

4) 村上洋介¹, 赤星 透², 遠藤平仁³, 近藤啓文³, 川合眞一⁴, 北里英郎¹

北里大学大学院医療系研究科環境微生物学¹, 北里大学医学部臨床検査診断学², 北里大学医学部内科学³, 東邦大学大森病院膠原病科⁴ 「Prostaglandin E2 による

Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 の発現制御」第 49 回日本リウマチ学会総会学術集会/ポスター (PD5-s-114), 2005 年 4 月 17-20 日, 横浜

5) 川合眞一

東邦大学大森病院膠原病科

「選択的 COX-2 阻害薬の現状と将来」第 26 回日本炎症・再生医学会/教育講演(2), 2005 年 7 月 12-13 日, 東京

6) 井上幸恵¹, 林 智子¹, 千代田 健², 橋口正行¹, 角南由紀子², 田中孝典², 川合眞一³, 望月真弓¹

北里大学薬学部臨床薬学研究所センター医薬品情報分門¹, 医療法人相生会大崎クリニック², 東邦大学大森病院膠原病科³

「Methotrexate 作用点の各種関連酵素遺伝子の多形性に関する研究」第 26 回日本臨床薬理学会年会/ポスター (2P-065), 2005 年 12 月 1-3 日, 大分

7) 西尾信一郎, 楠 夏子, 秋元貴美子, 高木賢治, 川合眞一

東邦大学大森病院膠原病科

「低用量のインフリキシマブ投与により経過良好な関節リウマチ患者における薬物動態学的検討」第 26 回日本臨床薬理学会年会/ポスター (3P-039), 2005 年 12 月 1-3 日, 大分

8) 花田和彦¹, 山本なぎさ¹, 山中映里奈¹, 川合眞一², 緒方宏泰¹

明治薬科大学薬学部薬剤学¹, 東邦大学大森病院膠原病科²

「リウマチ膠原病疾患患者における α_1 酸性糖タンパク質の遺伝的多型の分布と濃度変動」第 26 回日本臨床薬理学会年会/ポスター (3P-039), 2005 年 12 月 1-3 日, 大分

9) 川合眞一

東邦大学大森病院膠原病科

シンポジウム: 分子標的療法の現状、問題点と将来像 「リウマチ膠原病疾患」第 26 回日本臨床薬理学会年会/シンポジウム (S11-3), 2005 年 12 月 1-3 日, 大分

2. 論文発表

1) Yamaguchi Y, Nagasawa T, Nakamura N, Takenaga M, Mizoguchi M, Kawai S, Mizushima Y, Igarashi R. Successful treatment of photo-damaged skin of nano-scale atRA particles using a novel transdermal delivery. *J Control Release*. 2005 May;104(1):29-40

2) Kojima F, Kato S, Kawai S. Prostaglandin E synthase in the pathophysiology of arthritis. *Fundam Clin Pharmacol* 2005 Jun;19(3):255-261

3) Kawai S, Kojima F, Kusunoki N. Recent advances in nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergol Int* 2005 Jun;54(2):209-215

- 4) Kino Y, Kojima F, Kiguchi K, Igarashi R, Ishizuka B, Kawai S. Prostaglandin E₂ production in ovarian cancer cell lines is regulated by cyclooxygenase-1, not cyclooxygenase-2. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005 Aug; 73(2):103-111
- 5) Kusunoki N, Ito T, Sakurai N, Suguro T, Handa H, Kawai S. A novel celecoxib derivative potently induces apoptosis of human synovial fibroblasts. *J Pharmacol Exp Ther* 2005 Aug; 314(2):796-803
- 6) Ichikawa Y, Saito T, Yamanaka H, Akizuki M, Kondo H, Kobayashi S, Oshima H, Kawai S, Hama N, Yamada H, Tsuneyo Mimori T, Amano K, Tanaka Y, Matsuoka Y, Yamamoto S, Matsubara T, Murata N, Asai T, Suzuki Y and MTX BUC Combination Study Group. Therapeutic effects of the combination of methotrexate and bucillamine in early rheumatoid arthritis: a multicenter, double-blind, randomized controlled study. *Mod Rheumatol* 2005 Oct; 15(10):323-328
- 7) Kohno S, Endo H, Hashimoto A, Hayashi I, Murakami Y, Kitasato H, Kojima F, Kawai S, Kondo H. Inhibition of skin sclerosis by 15deoxy Delta(12,14)-prostaglandin J(2) and retrovirally transfected prostaglandin D synthase in a mouse model of bleomycin-induced scleroderma. *Biomed Pharmacother* 2006 Jan; 60(1):18-25 [Epub 2005 Oct 25]
- 8) Murakami Y, Akahoshi T, Hayashi I, Endo H, Kawai S, Inoue M, Kondo H, Kitasato H. Induction of triggering receptor expressed on myeloid cells 1 in murine resident peritoneal macrophages by monosodium urate monohydrate crystals. *Arthritis Rheum* 2006 Feb; 54(2):455-462
- 9) Takenaga M, Yamaguchi Y, Ogawa Y, Kitagawa A, Kawai S, Mizushima Y, Igarashi R, Namae M, Komeda K. Administration of optimum sustained-Insulin release PLGA microcapsules to spontaneous diabetes-prone BB/WorTky rats. *Drug Deliv* 2006 Mar-Apr; 13(2):149-157
- 10) Kojima F, Kapoor M, Kawai S, Crofford LJ. New insights into eicosanoid biosynthetic pathways: implications for arthritis. *Expert Rev Clin Immunol* 2006 Mar; 2(2):277-291
- 11) Kawai S, Yamamoto K. Safety of tacrolimus, an immunosuppressive agent, in the treatment of rheumatoid arthritis in elderly patients. *Rheumatology (Oxford)* 2006 Apr; 45(4):441-444 [Epub 2005 Nov 1]
- 12) Kawai S, Sekino H, Yamashita N, Tsuchiwata S, Liu H, Korth-Bradley JM. The comparability of etanercept pharmacokinetics in healthy Japanese and American subjects. *J Clin Pharmacol* 2006 (in press)
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
特になし
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他
特になし

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

軟骨の破壊修復制御バランス機構の解明と、破壊制御を目的とした滑膜局所療法

分担研究者 木村友厚 富山大学医学部整形外科 教授
研究協力者 杉森一仁、関 庄二、中村千恵子 富山大学医学部整形外科

研究要旨

関節リウマチなどによる関節破壊に対する治療は、新たな治療薬の導入とともに、疾患活動性の改善のみならず関節破壊の進行阻止まで実現可能な臨床目標となってきた。しかし荷重関節や大関節の破壊進行の十分な制御は未だ困難であり、さらに緩徐に進行性の軟骨破壊・変性の治療手段は皆無である。軟骨の破壊は、軟骨マトリックス代謝の catabolic phase と anabolic phase のバランス破綻にあるともいえる。このバランス破綻の詳細を明らかにすることが、軟骨破壊抑制の重要な鍵でもある。そこで、anabolic phase に抑制的に作用する分子の1つとして、まずマトリックス分子でもある CILP の関与を明らかにした。またこのようなマトリックス分子による catabolic phase と anabolic phase の制御には TGF β シグナルが関与しており、さらにそのシグナル伝達経路が smad シグナルに加え、他の non-smad 経路が重要であることを明らかにした。同時に non-smad シグナル伝達経路が、軟骨の分化とマトリックス産生、すなわち軟骨の修復を考える上でも、きわめて重要な pathway であることを解明した。

一方、滑膜細胞のエピジェネティクス制御による滑膜増殖抑制、さらにそれに続くマトリックス破壊制御を目指して、HDAC 阻害薬と超音波照射の併用による滑膜細胞制御を検討した。その結果、これらの併用により滑膜の細胞周期の変化と細胞活性の低下、ならびに細胞死が引き起こされることが明らかとなり、これを滑膜の局所制御療法として応用できる可能性を示した。

A. 研究目的

新たな治療薬の導入とともに、関節リウマチに対する治療は、疾患活動性の改善のみならず、寛解導入さらには関節破壊の進行阻止まで実現可能な臨床目標となってきた。しかし膝関節などの荷重関節の破壊進行の十分な制御は未だ困難であり、さらには変形性関節症に見られるような、緩徐に進行性の軟骨破壊・変性の治療手段は皆無である。したがって、このような関節軟骨破壊の予防とその制御手段の確立が必須である。

関節軟骨破壊の最も初期の過程は関節軟骨プロテオグリカンの分解消失である。これが放置されると、やがては軟骨コラーゲンの分解や破断が進行して軟骨破壊が非可逆的なものとなり、さらに関節破壊そのものが進行する。このようなプロ

テオグリカンやコラーゲンなどのマトリックスは、anabolic phase と catabolic phase の微妙なバランスの上に立っているが、このバランスの詳細なメカニズムは不明であり、これを明らかにすることは、軟骨の初期破壊を防ぐ手段の開発の上で、非常に重要である。一方、catabolic phase を強力に抑制する実際的な手段の開発も、軟骨破壊を直接的に制御する上で重要である。

本研究の目的は、まず軟骨の anabolic/catabolic balance を fine tuning している分子を明らかにし、そのシグナル伝達経路を解明することにある。さらに別個の実験系として、関節軟骨破壊抑制のために、早期に実行可能な局所制御療法として、滑膜のエピジェネティクスを制御することにより軟骨に対する

catabolic factor をコントロールし、関節軟骨の破壊阻止を目指そうとするものである。

B. 研究方法

1) 軟骨破壊変性の感受性遺伝子の探索研究の中で発見された cartilage intermediate layer protein (CILP) について、その機能的作用メカニズムを明らかにするために、髄核細胞を用いて CILP と増殖因子の結合の有無、それによる細胞内シグナル伝達の変化、さらに軟骨マトリックス遺伝子であるアグリカンや II 型コラーゲンの発現変化を検討した。これにはまず TGF β 添加により、アグリカンと II 型コラーゲン発現が増大することを確認した後に、この発現が CILP 遺伝子の導入発現により抑制されること、さらにこれがまず CILP と TGF β の結合により起こることを、コンペティターとして thrombospondin を用いた固相結合アッセイにより解析した。さらに TGF β および BMP シグナルが smad, Erk1/2, PI3K/Akt、を介してアグリカン発現を調節することを、軟骨細胞、髄核細胞、間葉系細胞において、siRNA またはそれぞれの阻害薬を用いて解析した。

2) 局所制御療法として、滑膜由来の catabolism を制御する有効な方法を検討するために、活動性 RA 患者より採取した培養ヒト RA 滑膜細胞 (RASf) を使用した。滑膜のエピジェネティクスを制御するために HDAC 阻害剤 (HDACi) として種々の濃度の trichostatin A (TSA) を RASf に添加した。TSA をより低濃度で安全に用いるために、TSA の滑膜細胞への取り込み促進を目指して、低強度超音波 (US) の併用効果を合わせて検討した。これには RASf に US (0, 0.1 または 0.2 W/cm²) を照射し、単独での温熱効果や細胞障害性を除外できる条件を検討した。続いて US 造影剤存在下で、TSA との US の両者併用による効果を、cell viability と flow cytometry による細胞周期を指標に解析した。また US 使用による遺伝子発現プロファイルの変化を解析した。

C. 研究結果

1) 最初に髄核細胞を用いた real-time PCR による検討で、TGF β によりアグリカン、II 型コラーゲン発現が顕著に増大することを確認した。一方

CILP 遺伝子の導入は、上記の発現を阻害し、CILP が細胞のマトリックス産生の anabolism を負に制御する分子であることが明らかになった。続いて CILP が TGF β シグナルに影響を及ぼすメカニズムを明らかにするために、CILP と TGF β の固相結合試験を行ったところ、CILP は TGF β と直接結合することによりシグナル伝達を制御することが明らかとなった。さらに TGF β type I receptor kinase 阻害剤、smads に対する siRNA、PI3K 阻害剤、MEK1/2 阻害剤を用いた検討で、TGF β シグナルが smad に加えて、独立して PI3K、MEK1/2 経路を通じてアグリカン発現に関わることを解明した。

また未分化軟骨細胞や間葉系細胞からの軟骨分化過程における同様の解析においても、TGF β superfamily member である BMP2 シグナルが、type I, II receptor から smad を介する経路に加えて、PI3K/Akt から NF- κ B を介してアグリカン発現を促すこと。さらにこれらの経路に加えて、PI3K/Akt の活性化により IKK α の核内移行と核内蓄積が起こり、これにより軟骨の分化形質とマトリックス産生が誘導されることを始めて明らかにした。(CILP についての研究は理化学研究所、池川志郎先生との共同研究である)

2) 関節破壊の局所制御を目指すための滑膜細胞制御の in vitro 実験では、まず RASf への TSA 添加で、濃度依存性に RASf の cell viability は低下した。US 照射でも同様の効果を認めたが、TSA と US の併用で、有意に RASf の cell viability の低下を認めた。この結果は、全身・局所投与ともに、有効性ととも毒性が問題となりうる HDACi を、US 照射併用により細胞内取り込みを増加させ、より低濃度使用で効果発現が可能なことを示したものである。また flow cytometry による細胞周期の解析では、TSA と US の併用により、S 期細胞の減少と G2/M 期細胞の増加を認めた。

C. 結論

軟骨の破壊は、軟骨マトリックス代謝の catabolic phase と anabolic phase のバランス破綻によるが、この anabolic phase に抑制的に作用する分子の 1 つとして、マトリックス分子でもある CILP が関与することが明らかとなった。このようなマトリックス分子による catabolic

phase と anabolic phase の制御には TGFβシグナルが関与しており、さらに smad シグナルに加えて、その他の non-smad シグナルの重要性が明らかとなった。同時にこれらの non-smad シグナルは、軟骨の分化とマトリックス産生、すなわち軟骨の修復を考える上でも重要な pathway であることが明らかとなった。

一方、HDACI と US 照射の併用により、in vitro において滑膜細胞を制御できることを示した。現在、滑膜細胞制御の結果期待される MMP や ADAMTS などの軟骨マトリックス分解酵素発現パターンの変化も検索中である。これらをベースに in vivo の HDACI 関節内投与と関節外 US 照射により、局所の関節炎と関節破壊制御が可能となる可能性がある。さらに前記の各種シグナル伝達分子に対する siRNA の導入による制御の可能性が、今後の検討課題である。

D. 健康危惧情報 特になし

E. 研究発表

1. 学会発表

- ・杉森一仁、元村 拓、北島 勲、松井恒志、木村友厚：軟骨分化における BMP-2 と PI3K/Akt-NF-κB シグナル活性化との関連：第 19 回日本軟骨代謝学会。はまぎんホール 3/3-4, 2006.
- ・関 庄二、川口善治、千葉一裕、三上靖夫、木澤秀樹、三尾 太、森 正樹、益田郁子、久保俊一、戸山芳昭、木村友厚、池川志郎：腰椎椎間板ヘルニアの発症メカニズムについて -CILP139T の TGFβ1 作用抑制を介する細胞外マトリックス発現制御の相違-：第 19 回日本軟骨代謝学会。はまぎんホール 3/3-4, 2006.
- ・Kimura T: Cell-based therapy for articular cartilage repair: 6th Pan Pacific Connective Tissue Societies Symposium. Hawaii 12/2-6, 2005.
- ・Sugimori K, Motomura H, Matsui K, Kitajima I, Kimura T: BMP2 activates PI3K/Akt-NF-κB signal transduction pathway in chondrogenesis. 52th Orthopaedic Research Society. Chicago,

3/19-22, 2006.

- ・Seki S, Kizawa H, Mori M, Mio F, Kawaguchi Y, Kimura T, Ikegawa S: Smad, Erk1/2 and PI3 kinase pathways regulate transforming growth factor-β-induced aggrecan gene expression in nucleus pulposus cells. 52th Orthopaedic Research Society. Chicago, 3/19-22, 2006.

2. 論文発表

- ・Seki S, Kawaguchi Y, Chiba K, Mikami Y, Kizawa H, Oya T, Mio F, Mori M, Miyamoto Y, Masuda I, Tsunoda T, Kamata M, Kubo T, Toyama Y, Kimura T, Nakamura Y, Ikegawa S. A functional SNP in CILP, encoding cartilage intermediate layer protein, is associated with susceptibility to lumbar disc disease. *Nature Genet* 37: 607-612, 2005.
- ・Aoki M, Kanamori M, Ohmori K, Takaishi M, Huh N, Nogami S, Kimura T. Expression of developmentally regulated endothelial cell locus 1 was induced by tumor-derived factors including VEGF. *Biochem Biophys Res Commun* 333: 990-995, 2005.
- ・Sugimori K, Matsui K, Motomura H, Tokoro T, Wang J, Higa S, Kimura T, Kitajima I. BMP-2 prevents apoptosis of the N1511 chondrocytic cell line through PI3K/Akt-mediated NF-κB activation. *J Bone Mineral Metab* 23: 411-419, 2005.

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

慢性関節リウマチの先端的治療に関する研究

分担研究者 植田弘師 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
分子薬理学分野教授

【研究要旨】

慢性疼痛は様々な疾患に付随されるものであるが、その痛みが著しく患者のQOLを損なうために、疼痛そのものを疾患として捉え、除去する必要がある。そこで、本研究では、線維筋痛症を含む中枢性疼痛の分子機構を基礎的解析から明らかにすることを目的としている。その結果、1)末梢性神経因性疼痛原因分子であるリゾホスファチジン酸を疼痛伝達に関連のある視床内に投与することで、熱や機械刺激誘発性疼痛ならびにA線維刺激誘発性反応の過敏現象が数日間において観察されることを見出した。2)起炎物質であるリポポリサッカロイドの視床内投与によっては、そのような過敏現象は観察されず、むしろ、反応閾値の上昇、鈍麻状態になった。従って、リゾホスファチジン酸視床内投与モデルは、新たな中枢性疼痛の評価モデルとなりうると考えられた。また、この効果が炎症反応によるものではない可能性が示唆された。3)リゾホスファチジン酸の視床投与により、投与部位においてグリア細胞の活性化が観察された。このグリア細胞の活性化は末梢性神経因性疼痛時にも観察され神経因性疼痛との関与が注目されている現象であることから、中枢性疼痛のメカニズム解明の大きな手がかりとなりうるものと考えられる。

A. 研究目的

慢性疼痛は様々な疾患に付随されるものであるが、その痛みが著しく患者のQOLを損なうために、疼痛そのものを疾患として捉え、除去する必要がある。組織障害による炎症性疼痛や頭痛、腹痛などは多くが薬物療法により除痛されるのに対して、慢性疼痛あるいは難治性疼痛として挙げられる神経因性疼痛、慢性関節リウマチ、線維筋痛症などは作用機序の解明が完全でなく、有効な治療薬開発が見出されていない。なかでも、線維筋痛症は、病理組織学的異常や血液検査の異常所見を伴わないため、その原因が全く解明されていない。さらに、病態モデル動物が存在しないことから基礎的研究が追従していないのが現状である。

そこで、新たな中枢性病態モデルを確立し、この作用機構を明らかにし、線維筋痛症に対する治療戦略を解明することを本研究の目的としている。また、病態時の痛みの評価法としては、これまでに熱や機械性の刺激が一般的に用いられてきた。これらの痛みはひとが感じる痛みとして評価するには適切であるが、同時に、様々な内在性発痛物質を産生・遊離する可能性があり、これらの分子群が各種知覚神経線維に反応する。従って、病態時の責任線維や責任分子を同定するという分子基盤

の解明には、これらの痛み刺激を評価法として用いることは適切とはいえない。そこで、各種知覚神経線維特異的の刺激誘発性反応評価法の確立も本研究の目的としている。

我々は、これまでに末梢性神経傷害誘発性の神経因性疼痛はリゾホスファチジン酸による脱髄に伴う痛み神経と触覚神経の脊髄後角付近での混線や、痛み関連分子の発現上昇に伴うことを報告している(Inoue et al., Nature Medicine, 10, 712-718, 2004)。一方、中枢性疼痛は痛みの伝達や制御に関わる領域の傷害によって誘発されるが、特に視床の傷害は痛みを誘発することが知られており、視床痛と呼ばれている。この視床部位は痛みの二次中継点であり、痛み神経と触覚神経が近接し、痛みの一次中継点である脊髄と類似した調節を担っていると考えられる。また、線維筋痛症が視床への電気刺激によって軽減されるとも言われている。これまでに、動物における定量的な全身性疼痛評価法を確立し、リゾホスファチジン酸の視床内投与による疼痛閾値変化が生じることを見出した。そこで、本年度はこのリゾホスファチジン酸の視床内投与誘発性過敏反応の分子メカニズムの解明を目指して、投与領域での可塑的変調を評価した。さらに、一般的な起炎物質の視床内投与による痛み変動についても評価し、リゾホ

スファチジン酸の視床内投与モデルが特異的なものかを検討した。また、リゾホスファチジン酸の視床内投与による過敏現象に対する薬物効果として、モルヒネの効果について評価した。

B. 研究方法

1) 実験動物

実験には全て ddY 系雄性マウス 4 週齢 (21-24 g) を使用した。マウスは、恒温 (22 ± 2 °C)、恒湿 (55 ± 5 %) の部屋で、12 時間ずつの昼夜自然管理下で飼育し、水道水及び一般実験用の固形飼料 (MF, オリエンタル酵母, Tokyo) を自由に摂取させた。

2) 使用薬物

LPA (Avanti Polar-Lipids) (10 nmol/3 µL) は 0.25% メタノール含有人工脳脊髄液 (ACSF : NaCl 125 mM, KCl 3.8 mM, CaCl₂ 2.0 mM, MgCl₂ 1.0 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM, NaHCO₃ 26 mM, Glucose 10 mM) に溶解して用いた。ペントバルビタールナトリウムは Nacalai Tesque (Kyoto, Japan) から購入したものを用いた。

3) 電気刺激誘発性鳴啼試験法 (Electrostimulation-induced Vocalization 試験法)

試験はペントバルビタール (50 mg/kg) 麻酔下で行った。EV 試験法では、ニューロメーター (NEUROMETER CPT/C, Neurotron, Incorporated) を用いたトリガーポイント電気刺激による鳴啼応答を評価する。まず、電極 (直径 1 mm の導線に直径 1.5 mm 程度になるようにハンダを球状につけたもの) の先に通電用のゲル (GOLDTRODE ELECTRODE) を少量 (電極の先の球状の部分で擦り取れる程度) 塗り、右後肢に設置した。反応は、電気刺激時の鳴啼応答を指標とした。3 秒間電気刺激を行い、反応があった場合は次の電気刺激を行うまで 5 分以上間隔をあけた。

4) 機械触覚刺激誘発性疼痛試験法 実験の前に、実験の環境に慣れさせ侵害刺激に対する正確な行動を評価するため、マウスを網の上に置き、上からケージをかぶせ、30 分以上実験と同じ環境下に置いて adaptation をかけた。測定には Transducer Indicator Model 1601 (ISIS) を用い、網の上に置いたマウスの右後肢足趾にフィラメントを押しつけ、機械刺激からの逃避反応を起こす閾値 (Paw Withdrawal Threshold; PWT) を測定した。実験には、正常な動物で 10-12g の閾値になる程度の刺激を行い、組織損傷を防ぐために Cut-off gram を 20g

に設定した。

5) LPA, LPS の視床投与法

ペントバルビタール (50 mg/kg) 麻酔下、マウスを脳固定器に設置した後、頭頂部の皮膚を切開し、頭蓋骨を露出させた。オペ用ドリルを用いて直径 1.0 mm 程度のわずかな穴を開け、そこにマイクロインジェクター (投与針 30G) を挿入し、右側視床 (視床外側腹側核) 部位に固定した (Bregma より -0.94 mm 前方、右側 1.0 mm、深さ 3.0 mm)。LPA はシリンジポンプを用いて流速 0.5 µL/min で投与し、逆流を防ぐために、さらに 10 分間静置した後インジェクターをゆっくりと戻し、最後に切開部位を縫合した。対照群として、等量の ACSF を同様に右側視床内投与した。

C. 研究結果

1. LPA 視床投与誘発性疼痛過敏評価

LPA (10 nmol) を右視床領域に投与し、熱刺激誘発性疼痛閾値変動を観察したところ、投与 1 日後において、過敏応答が観察された。この過敏応答は、投与 3 日後においても観察されたが、7 日後には正常閾値にまで回復していた。さらに、機械刺激誘発性疼痛試験法においても、投与 1, 3 日後にはアロディニア現象を示したにもかかわらず、投与 7 日後には、完全に消失していた。従って、これまでに、EV 試験法において観察された過敏現象が熱や機械性刺激誘発反応に対しても再現を取ることができた。

2. LPS 視床投与誘発性疼痛閾値上昇

起炎物質であるリポポリサッカライド (LPS, 10 µg) を同様に視床領域に適用したところ、投与 1 日後において EV 試験における 2000Hz (A-beta 線維) 刺激閾値の上昇が観察された。さらに、熱刺激並びに機械刺激誘発性侵害反応閾値も上昇した。従って、LPS は LPA とは異なり、鈍麻反応を示した。このことはまた、間接的ではあるが、LPA による過敏現象には、炎症反応は関係しないものと思われる。

3. LPA 視床投与誘発性ミクログリア活性化

LPA (10 nmol) の視床投与 1 日後において、IBA1 染色によりミクログリアの形態学的変調ならびに数を評価したところ、投与領域でミクログリア細胞の形態が静止型から活性型に変化した。また、染色細胞数も増加していた。一方、その反対側及び溶媒投与群においては活性型ミクログリア細胞や細胞数の増加も観察されなかった。従って、この活性化が疼痛過敏に関与する可能性が大きく示唆された。

4. LPA 視床投与誘発性疼痛過敏に対する薬物

効果

LPA 投与一日後の過敏現象は、モルヒネを試験の30分前に適用することで、熱刺激誘発性の過敏現象に対しては、対照群と同程度、あるいはそれ以上の効力で鎮痛効果を発揮した。今後、このモルヒネ鎮痛効果の作用機序について検討する予定である。

D. 結論

1) LPA 視床内適用により、A 線維反応の過敏現象とともに、人が感じ得る痛みである機械性、熱性刺激に対しても、過敏応答が観察された。

2) 起炎物質 LPS では過敏応答は観察されなかったことから炎症反応は中枢性疼痛過敏現象には関係ない可能性が示唆された。

3) LPA 投与により神経因性疼痛に関連性のあるミクログリアの活性化が観察され、そのメカニズム解明の大きな手がかりを得た。

4) LPA 誘発性過敏現象にモルヒネが有効であることから、中枢性疼痛治療に対する一つの基礎的手がかりを得ることができた。

E. 健康危惧情報

特になし

F. 研究発表

原著論文

1. Rashid MH and UEDA H; Pre-injury administration of morphine prevents development of neuropathic hyperalgesia through activation of descending monoaminergic mechanisms in the spinal cord in mice. *Molecular Pain* 2005 Jun 3;1(1):19
2. Takayama N and UEDA H; Morphine-induced overexpression of prepro-nociceptin/orphanin FQ in cultured astrocytes. *Peptides*. 2005 Dec;26(12):2513-7. Epub 2005 Jun 28.
3. Matsumoto M, Inoue M, Ueda H; NSAID zaltoprofen possesses novel anti-nociceptive mechanism through blockage of B2-type bradykinin receptor in nerve endings. *Neurosci Lett*. 2006 Jan 5; [Epub ahead of print]

総説

1. UEDA H; Molecular mechanisms of neuropathic pain-phenotypic switch and initiation mechanisms. *Pharmacol Ther*. 2006 Jan;109(1-2):57-77. Epub 2005 Jul 15

邦文

著書 (分筆含む)

1. 植田弘師、高山尚子:「ペプチド系神経伝達物質を列挙し、その生合成経路、分解経路、生理活性を説明できる。」、第4巻 生物系薬学 II. 生命をミクロに理解する、日本薬学会編、東京化学同人、2005年、pp294-297
2. 植田弘師※、高山尚子:「アセチルコリンの生合成経路、分解経路、生理活性を説明できる。」、第4巻 生物系薬学 II. 生命をミクロに理解する、日本薬学会編、東京化学同人、2005年6月20日、pp298-301
3. 植田弘師、濱邊和歌子:「オピオイドレセプターとGタンパク質」、生物薬科学実験講座、第7巻 情報伝達物質、[II] シグナル伝達系と細胞機能、東京廣川書店、2005年、pp323-329
4. 植田弘師:「オピオイドの分子薬理」、オピオイド、克誠堂出版、2005年、pp3-10

総説

1. 植田弘師、久保慎司: オピオイド研究の最近の進歩: ファルマシア: 2005年: 41(3) p215-220
 2. 植田弘師、木口倫一、山口明日香: リゾホスファチジン酸誘発性神経因性疼痛、ペインクリニック: 2005年: 26(4); p509-515
 3. 植田弘師、松本みさき: 神経因性疼痛の分子基盤、CLINICAL NEUROSCIENCE 別冊: 2005年: 23(3): p250-251
 4. 木口倫一、植田弘師: 疼痛と受容体3 リゾホスファチジン酸受容体、治療学: 2005年: 39(8); p40(820)-42(822)
 5. 植田弘師: 痛みはなぜ起こるか、サイエンスウェブ: 2005年: 2(2); p72-75
 6. 植田弘師: 傷害性神経因性疼痛誘発を担うリゾホスファチジン酸、日薬理誌: 2006年3月: 127(3); p161-165
- ### G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
出願中
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他
特になし

分担研究者 浦野房三 長野県厚生連篠ノ井総合病院リウマチ科主任医長

研究要旨

当院人工腎センターで透析を受けている患者に対し、2004年および2005年の2回にわたって、線維筋痛症の頻度を調査した。アンケートに回答した患者173例中、線維筋痛症と診断した症例数は71例（41%）であった。

1、線維筋痛症を合併した透析患者において、内分泌学および免疫学に関する調査を行った。測定項目はIGF-1、IGFBP-3、MMP-3、および、MMP-9である。測定対象は主に50代から60代の女性患者である。1群は線維筋痛症を有する透析患者、2群は線維筋痛症を有しない透析患者、3群は健常者。1群と2群間ではいずれも有意差はみられなかった。しかし、IGFBP-3が健常者に比して、いずれの群も高値をしめした。また、MMP-3は両群とも健常者に比して高い値を示しており、骨関節炎を生じやすい病態が顕著であることが推測された。そのため、二次的に線維筋痛症が生ずる可能性も考慮する必要がある。

2、臨床病態に関して各科の診療録を調査し、患者自身が臨床的に如何なる負荷を受けているかを検討した。慢性糸球体腎炎、糖尿病性腎症などが両群で多数をしめていたが、両群での分布には有意差はなかった。手術の既往歴では胸腹部婦人科手術は線維筋痛症を合併した群では高頻度であり、また、整形外科およびリウマチ性疾患の既往歴の頻度では腱鞘炎・付着部炎、関節炎および関節症、そして、頸椎捻挫・脊椎疾患が高かった。

A. 研究目的

当院人工腎センターで透析を受けている患者に対し、2004年および2005年の2回にわたって、線維筋痛症の頻度を調査した。アンケートに回答した患者173例中、線維筋痛症と診断した症例数は71例（41%）であった。透析年数が長期になるに従い、線維筋痛症の合併頻度が増加している。今回、透析患者における線維筋痛症について、内分泌学および免疫学に関する調査を施行した。

GH(growth hormone、成長ホルモン)は下垂体前葉から分泌され、成長促進作用、代謝作用を發揮するホルモンである。GHの作用を媒介する物質がIGF-I (insulin-like growth factor-I、インスリン様成長因子-I)と呼ばれ、肝などで産生される。また、IGF-1は主にGH分泌の評価の指標として用いられる。線維筋痛症ではIGF-1あるいはIGFBP-3 (insulin-like growth factor binding protein-3、インスリン様成長因子結合蛋白3型)が低値を示すという報告があり、病勢の指標となる可能性がある。

一方、長期の透析患者においてMMP-3(Matrix Metalloproteinase-3)の増加が報告されている。長期間の透析患者でMMP-3が高値を示す場合は臨床病態と関連している可能性が考えられる。長期間、透析を受けている患者で、MMP-3が高値を示す場合は線維筋痛症の基礎に、多発性付着部炎あるいはアミロイド関節症を合併している可能性も考えられ、透析患者の疼痛を各方面から評価することにより、疼痛治療の方向性が見いだせる可能性を検討した。

B. 研究方法

測定項目はIGF-1、IGFBP-3、MMP-3、および、MMP-9 (Matrix Metalloproteinase-3)である。線維筋痛症の病勢の解析のために、測定対象は女性患者のみとし、年齢は主に50代から60代とした。調査対象は3群からなり、1群は線維筋痛症を有する透析患者、2群は線維筋痛症を有しない透析患者、3群は健常者（人間ドック受診者）である。

IGF-1はRIA固相法、IGFBP-3はRIA2抗体法、

MMP-3はLTIA、そして、MMP-9はペルオキシダーゼ標識マウス抗ヒトMMP-9モノクローナル抗体を用いた測定を施行した。また、臨床病態に関して各科の診療録を調査し、患者自身が臨床的に如何なる負荷を受けているかを検討した。

倫理面への配慮に関しては、人権擁護上あらかじめ研究目的の説明を文書で行い、個人情報流失などに注意を払い、これらの検査により不利益を受けることがないようにとり計らうこと、また、測定結果の報告を行うことに関して了解を得た。

C. 研究結果

1群の症例数は20例、2群は18例、3群は16例であった。平均年齢は1群が59.4歳、2群が58.7歳、3群が58.8歳であり、平均年齢は群間で統計学的に有意差はなかった。透析期間は1群が19.5年、2群が7.6年で有意に1群が長かった($p=0.0305$)。

測定されたIGF-1の平均値は1群が163.95 ng/ml、2群が207.222 ng/ml、対照群171.75 ng/mlであり、1群と2群間では有意差は見られなかったが($p=0.1114$)、3群とはそれぞれ有意差がみられた($p=0.0191$ 、 $p=0.0032$)。IGFBP-3の平均値は1群が $3.964 \mu\text{g/ml}$ 、2群が $4.076 \mu\text{g/ml}$ 、3群が $2.507 \mu\text{g/ml}$ であり、1群と2群間では統計学的に有意差は見られなかったが($p=0.4926$)、1群および2群とも3群に比して有意に高値であった($p=0.0150$ 、 $p=0.0032$)。MMP-3の平均値は1群が204.38 ng/ml、2群が172.189 ng/ml、3群が36.95 ng/mlであり、1群と2群では有意差は見られなかった($p=0.2877$)。一方、1群および2群とも3群とは有意差がみられた(いずれも $p<0.0001$)。MMP-9の平均値は1群が45.7 ng/ml、2群が54.611 ng/ml、3群が37.562 ng/mlであり、1群と2群では統計学的に有意差はなかった($p=0.5282$)。2群と3群では有意差がみられたが($p=0.0333$)、1群と3群では有意差がなかった($p=0.5445$)。

線維筋痛症を有する透析患者の測定値を用いて、IGF-1、IGFBP-3、MMP-3、MMP-9、年齢、および、透析年数との相関行列を計算すると、IGF-1とIGFBP-3で相関係数が0.671、年齢とIGF-1が

-0.483、そして、年齢とIGFBP-3が-0.486と有意の相関がみられた。その他には有意の相関がみられた組み合わせはなかった。

臨床病態の検討で、透析の原因となった腎疾患について、比較検討をおこなった。慢性糸球体腎炎、糖尿病性腎症などが両群で多数をしめていたが、両群での分布には有意差はなかった($p=0.5464$)。既往歴および合併症の出現頻度は副甲状腺機能亢進症、あるいは、悪性腫瘍などは1群で高頻度であったが、統計的には有意ではなかった。手術の既往歴について頻度を検討した。胸腹部婦人科手術は1群で高頻度であり、統計的に有意差がみられた($p=0.0004$)。整形外科およびリウマチ性疾患の既往歴の頻度では腱鞘炎・付着部炎($p=0.0004$)、関節炎および関節症($p=0.0086$)、そして、頸椎捻挫・脊椎疾患($p=0.0058$)が2群に比し、1群で高かった。

D. 考察

線維筋痛症を有する透析患者と有しない透析患者にたいして、内分泌学および免疫学的検査として、IGF-1、IGFBP-3、MMP-3、そして、MMP-9の測定を試みた。両群ではいずれも有意差はみられなかった。しかし、IGFBP-3が健常者に比して、いずれの群も高値をしめた。一般に線維筋痛症の患者はGHの分泌が充分ではなく、GHに関連したIGF-1あるいはIGFBP-3が低値を示すといわれている。他方、透析患者ではIGF-1およびIGFBP-3が健常者よりも高値を示すと報告されている。相反する病態を比較して考えると、人工透析による影響が高度に出現していることが考えられる。統計学的には有意ではなかったが、線維筋痛症を有する群のIGF-1は有しない群に比して低い傾向がみられた($p=0.1114$)。

また、MMP-3は両群とも健常者に比して高い値を示しており、骨関節炎を生じやすい病態が顕著であることが推測された。また、骨関節の障害が出現することにより、二次的に線維筋痛症が生ずる可能性も考慮する必要がある。

既往歴などの統計解析から、手術歴あるいは整形外科およびリウマチ科的疾患が線維筋痛症を有する群に多いことがわかり、メカニカルストレスが線維

筋痛症の病態をより悪化させている可能性が示唆された。透析患者においては腎疾患以外の臨床病態が疼痛に関与していることが推測される。

E. 結論

線維筋痛症を有する透析患者、および、線維筋痛症を有しない透析患者に対して、内分泌学および免疫学的検査として、IGF-1、IGFBP-3、MMP-3、そして MMP-9 を測定し比較した。線維筋痛症を有する透析患者に特有の異常はみられなかった。しかし、透析患者全体では IGFBP-3、および、MMP-3 が高値を示し、健常者との比較で有意差が見られた。

F. 健康危険情報

特に問題となる事例はなかった。

G. 研究発表

1. 学会発表

1. 浦野房三、小野静一、鈴木貞博：線維筋痛症に準じた治療が奏効した外陰部痛の症例：第49回日本リウマチ学会、パシフィコ横浜、横浜、4/20、2005
2. 浦野房三、小野静一、松井俊通、鈴木貞博、田村克彦、長沢正樹：透析患者における線維筋痛症-メカニカルストレスからみた解析-：第17回中部リウマチ学会、朱鷺メッセ、新潟、9/3、2005
3. 浦野房三、小野静一、松井俊通、鈴木貞博：Ankylosing tarsitis の症例：第15回日本脊椎関節炎（AS）研究会、大阪大学、大阪、9/10、2005

2. 論文発表

1. 浦野房三：線維筋痛症とその広がり。治療 87:1300-1303、2005
2. 浦野房三、小野静一、鈴木貞博：頸椎外傷の既往歴を有する線維筋痛症。中部リウマチ 2:116-117、2005

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

線維筋痛症の画像診断に関する研究

分担研究者 福田 国彦 東京慈恵会医科大学 放射線医学講座教授
研究協力者 西岡真樹子 東京慈恵会医科大学 放射線医学講座助手

研究要旨

線維筋痛症の主症状である多様な骨格筋の痛みを主体とした慢性疼痛について、その病態は未だ明らかとされていない。唯一の診断基準が圧痛点となっている。そのため、実際の診断がつくまでに複数の医療機関や他科を受診し、器質的疾患のスクリーニングも含めて、疼痛部位の単純X線撮影、Computed Tomography (CT)やMagnetic Resonance Imaging (MRI)、場合によっては血管造影など様々な検査が行われている。しかしながら、いずれの検査においても有意な所見が認められないのが実態で、尚一層、診断や治療方針に苦慮する症例が大半である。

しかしながら、近年、大脳半球高次機能を中心とした中枢性の疼痛経路が主症状に大きく起因していることが推測されてきており、かつ、画像診断の分野において、線維筋痛症を含めた慢性疼痛を対象とした脳実質の研究が徐々に報告されてきている。

当施設の多検出型SPECT(Single photon emission CT)を用いて、今後、PETや高感度かつ高分解能の画像評価が得られるようになってきている。今回当施設で行った症例では、この多検出型SPECTを利用して痛みの中核と言われる視床を中心とした脳血流を定量評価し、今後診断に有用な検査の1つになりうると思えられたため、症例をかさね有用性を検討する。

A. 研究目的

核医学の分野において、シンチカメラおよびデータ処理装置などの検査装置の性能が向上し、多検出型Single Photon Emission CT(SPECT)が開発され、高感度かつ高分解能の画像評価が得られるようになってきている。また、線維筋痛症を含めた慢性疼痛を対象とした報告はごくわずかに散見される1) 2) のみであり様々な検討課題がある。そこで我々は、多検出型SPECTを利用し、痛みの中核と言われる視床を中心とした脳血流定量評価を行い、線維筋痛症の確定診断に結びつける画像診断法を検討していく。

B. 研究方法

臨床症状より線維筋痛症と診断された25症例を対象とした。成人1人あたりの撮影に必要な放射線核種 ^{99m}Tc -ECDを静脈注射後、撮影は2回行った。1回目は、300MBqを急速静注し、1分40秒間安静臥床にて脳血流定量画像データの収集を行い、その後、残量を静注し、2回目は約1時間経過後に安静臥床のも

と20分間、定性画像データ収集を行った。データ解析には ^{99m}Tc -ECDを用いたPatlakプロット法に基づいた測定法と3DSRTを行った。検査にあたり、被験者には当施設の倫理委員会による規定要綱に基づき、その内容を説明し同意を得た。

C. 結果

30症例中17症例で視床を中心とした領域に定量解析にて血流の低下が認められた。7症例は血流低下を認めず、5症例は大脳の広範囲な血流の低下が認められた。

D. 考察

脳血流シンチグラフィは方法論が確立されている唯一の大脳の動態機能検査である。脳神経変性疾患の場合は、視床のみならず、大脳半球や小脳半球の広範囲な血流低下が生じている。また、脳腫瘍や脳血管性疾患の場合はCTやMRIなどの他のモダリティーで異常が認められる部位に一致した局所の血流低下が認められる。今回、われわれが研究を行った線維筋痛症の場合は、視床の血流低下を主体

とする所見が認められ、かつ、同部位は他のモダリティーでは異常が指摘できなかった。症例によっては、対側の大脳半球皮質血流低下も同時に認められた。これは、疼痛経路がなんらかの形で脳実質内全般に生じていることを示唆した。また、現在脳血流シンチグラフィの適応となっている他の疾患との鑑別にもなりうると考えられた。

E. 結論

従来行われていたCTやMRIで捉える事のできなかった痛みの中枢である視床の異常を、脳血流SPECTにより指摘することが可能であった。脳血流シンチグラフィ検査は線維筋痛症の診断に有用な検査の1つになりうると考えられた。今後、症例数を増やし、脳実質内疼痛経路の評価の1つなると推測されているPET(positron emission tomography)やfMRI(functional MRI)に結びつく評価法の確立をすすめていく。

F. 健康危惧情報
特になし

G. 研究発表
学会発表
1)西岡真樹子:ケーススタディ:線維筋痛症コンセンサスカンファレンス(2006.3)

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

本邦線維筋痛症患者の日常生活動作機能(ADL)、生活の質(QOL)を中心とした実態に関する研究

分担研究者 松本 美富士 藤田保健衛生大学七栗サナトリウム内科教授
研究協力者 前田 伸治 名古屋市立大学大学院臨床分子内科学臨床研究医
玉腰 暁子 名古屋大学大学院予防医学/医学推計学・判断学助教授
西岡 久寿樹 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター長

研究要旨

線維筋痛症(FM)は、実際は比較的頻度が高いにも関わらず、本邦では十分に認知されたリウマチ性疾患ではなく、適切な医学的管理が行われているとはいえない。さらに、原因不明であり、難治性病態であるため患者の日常生活動作機能(ADL)、生活の質(QOL)は著しく低下していることが欧米症例から示されている。そこで、本邦 FM 患者の実態を明らかにするために、確定診断のなされている本邦 FM 患者の ADL, QOL の調査を実施した。

本邦 FM 患者は多彩な身体的、精神的症状のため関節機能以外の ADL は極めて低く、日常生活に強い障害がみられ、身体的・精神的 QOL も明らかに低く、身体的 QOL の低下がより目だっていた。リウマチ性疾患として、活動性を有する RA 患者に匹敵する病状にあり、比較的強い抑うつ症状を伴っていた。今後、ADL, QOL を規定する要因について検討が必要である。

A. 研究目的

線維筋痛症(FM)は欧米では比較的頻度の高いリウマチ性疾患であり、疫学像、臨床像などその実態は明らかにされている。しかしながら、本邦ではこれまで極めてなじみのない疾患であるため、その疫学像を含めた実態は不明であった。本研究班では本邦 FM の疫学調査を過去3年間にわたって実施し、FM は本邦でも決してまれではなく、欧米の有病率に近い有病者数の存在することを推計した。そこで、本邦 FM 患者の実態をさらに明らかにするため、患者評価に基づいた ADL, QOL 調査を実施した。

B. 研究方法

調査対象は NPO 法人線維筋痛症友の会(橋本裕子理事長) 会員のなかで、今回の実態調査の協力に文書による同意の得られた 252 名に対して自記式調査票の郵送方式によるアンケート調査を実施した。回収率は 92.5% (233/252 例) であった。会員のなかには FM の診断が確定していないものも含まれていたため、現在の病状に対する担当医の

診断名の確認(病名の質問票への記載)とともに FM 疫学調査用のための質問票(London Fibromyalgia Epidemiological Study Questionnaire; LFESQ)により診断の妥当性の確認を行い、担当医の診断名ならびに LFESQ の両者陽性者 151/233 例(64.8%)のみを解析対象とした。

調査内容は ADL の指標として mHAQ、および厚生労働省慢性疲労症候群(CFS)調査研究班作成の ADL を指標に疲労・倦怠感の程度を評価するための尺度である PS (Performance Status) score (0~9) を用いた。QOL 評価には QOL の包括的尺度である日本語版 SF-36 (Version 2)を用いた。さらに、関節リウマチ(RA)に準じた疾患活動性の絶対的評価として DAS (disease activity score) 28 を用い、またうつ症状の評価には Zung self-rating depression scale (SDS)を用いた。

これら調査にあたって本邦文部科学省・厚生労働省「疫学調査に関する倫理指針」を遵守し、主任研究者の所属する組織の生命倫理委員会の承認をえて実施した。回答締切期限に未到着者に対して、督促は行わず、回答は無記名記載とした。調

査対象者の名簿管理は外部ネットとの接続のない専用パソコンで管理が行われた。

C. 研究結果

本邦 FM 患者の関節機能からみた mHAQ による ADL の評価は、最も機能障害の程度の低い「0」に相当するものが 17.2%であり、最も機能障害の高い「3」に相当するものはわずか 0.7%であった。残り 82.1%は種々の程度の関節機能の低下による ADL 障害を示しており、平均値は 0.77 ± 0.74 であった。すなわち、本邦 FM 患者の関節機能評価からの ADL の状況は比較的良好な結果が得られ、関節リウマチ(RA)とは異なって、関節機能は比較的保持されていることを示していた。しかし、総合的な ADL の評価として、身体的・精神的疲労・倦怠感の程度から評価することのできる PS score を用いて検討してみると、日常生活に支障のない PS score 0~2 が 13.1%のみであるのに対して、日常生活に支障をきたす PS score ≥ 3 が残り 86.9%が占めており、半数以上(54.5%)が通常の社会生活や軽作業がまったく不可能な PS score ≥ 7 の疲労度を呈し、平均の PS score は 6.0 ± 2.4 とその疲労・倦怠感はかなり激しいものであった。また、終日臥床の状態である PS score 9 は 11.7%にもみられた。このように mHAQ と PS score による ADL 障害度の解離は mHAQ が関節機能の低下が主たる評価の対象となる RA 患者用であるのに対して、PS score は身体的・精神的側面からの総合的評価の尺度であるためであろう。

次に、本邦 FM 患者の QOL 評価の結果は、SF-36 による包括的 QOL 評価は日本人を対象とした国民標準値を 50 とした場合、各下位尺度である身体機能(PF) 20.0 ± 17.3 (11.7-58.7)、日常生活役割機能(身体)(RP) 16.7 ± 15.0 (1.7-56.2)、体の痛み(BP) 30.9 ± 7.1 (21.2-50.2)、全体的健康感(GH) 29.2 ± 9.0 (15.4-62.4)、活力(VT) 31.1 ± 9.4 (19.5-62.6)、社会生活機能(SF) 22.0 ± 14.0 (4.5-57.1)、日常生活役割機能(精神)(RE) 28.2 ± 16.5 (5.6-56.6)、心の健康(MH) 37.0 ± 13.1 (11.9-65.1)であり、すべての尺度が国民標準値より 2SD~4SD も低かった。とくに、PF, RP が著しく低い測定値を示していた。一方、FM の中心症状である BP の QOL 尺度は予想以上

に保たれており、疼痛に対する受容がある程度なされていることが推測された。しかし、全体的にみても FM 患者では身体的健康感とともに精神的健康感も傷害され、より身体的 QOL が低下した状況にある。

FM ではしばしば関節痛、こわばりを自覚することから、RA と比較してみるために、RA の絶対的疾患活動性評価法である DAS28 による評価を行った。その平均値 4.7 ± 1.0 (2.0-6.0)であり、RA の high disease activity とされる $DAS28 > 5.1$ は 41.3%にも存在し、low disease activity の $DAS28 < 3.2$ はわずか 6.7%であった。残り 52.0%が moderate disease activity の基準である $3.2 \leq DAS28 \leq 5.1$ であった。すなわち、FM 患者は RA とは異なって、関節腫脹、赤沈値の亢進または CRP の上昇を伴わないにも関わらず、かなり活動性の高い RA に匹敵する病態をあると考えられた。

さらに、FM 患者では高い頻度で抑うつ症状を自覚することが知られているが、本邦 FM 患者の抑うつ症状の状況を検討するため、Zung のうつ状態評価尺度を用いてうつ症状の評価を行った。その平均値は 53.4 ± 10.5 (29-77)であり、軽度ないし中等度のうつ症状を呈しており、うつ症状のみられないもの(<40)はわずかに 15 人(10.5%)のみであり、残りの多くは中等度のようつ症状を自覚していた。

D. 考察

本研究班により、FM は本邦でも比較的頻度の高い特異なりウマチ性疾患であることが明らかされながら、本邦では医療側でさえ未だなじみの低い疾患である。本邦 FM 患者は必ずしも適切な医療の管理化におかれているとは考えがたい。欧米のこれまでの FM 患者の疫学像を含めた実態については多くの検討がなされており、難治性病態であるため、いずれの報告も ADL, QOL が著しく障害されていることが示されている。本邦 FM 患者の実態がこれまでまったく不明であったが、本研究班により各種疫学調査が実施され、本邦 FM の有病率は欧米に近い頻度であることを明らかにしてきた。しかし、医療機関・リウマチ登録医調査から FM の診断がなされている患者は極めて少な

く、多くの患者は診断不明、他疾患と扱われているとか、あるいは異常なしとされていることが推測される。このような背景であるため本邦 FM 患者の ADL, QOL は一層、低いことが推測される。この点を明らかにするために今回 FM 確実例について、ADL, QOL 調査を行った。

FM でも関節痛を自覚することから、RA 患者の関節機能の ADL 指標として広く用いられている mHAQ による評価と身体的・精神的疲労による ADL 評価である CFS 患者用の PS score による評価との間に解離がみられたが、FM では運動器の疼痛・こわばり以外に多彩な身体、精神・神経症状を呈することより mHAQ では過小評価にならざるを得ない。身体的・精神的両面から総合的に ADL を評価する必要がある。FM 患者の ADL 評価には PS score からみた評価がむしろ適切であり、CFS 患者に匹敵するほどの著しい ADL の低下がみられた。一方、FM の関節症状の程度を RA 患者と比較するために RA の疾患活動性指標である DAS28 による評価を行ったが、FM では関節腫脹や赤沈の亢進がないにもかかわらず、中等度から高い活動性の RA に相当する関節症状を訴えていることが閉めされた。

FM 患者では高い頻度で抑うつ症状を訴えることが知られており、本邦 FM 患者でも 60.5% に抑うつ徴候を認めている。抑うつ徴候は患者の ADL, QOL に大きく影響を与えるが、FM 患者の抑うつ徴候の程度を検討するために Zung self-rating depression scale (SDS) で評価を行った。約 90% 近くが何らかの抑うつ症状を有しており、半数以上が中等度の抑うつ症状を呈し、FM 患者では抑うつ状態にあり、ADL, QOL に大きく影響を与えていることが推測される。QOL 評価は一般人と比較するために、総括的評価である SF-36 を用いた、FM 患者は 8 つの下位尺度のいずれの項目も国民補標準値に比して -1SD 以下に低い score を示し、QOL が障害されている。なかでも、身体機能および日常生活役割機能（身体的）において -3SD 以下の QOL であり、疼痛や精神的な QOL は比較的保たれていた。すなわち、FM 患者では抑うつ症状は高い頻度で認めるが、QOL の障害は主として身体面であり、精神面での QOL の障害は低いことで

あった。この差異がうつ病と異なる重要な点である。以上、本邦 FM 患者の ADL, QOL の評価を行って、いくつかの実態、特徴が明らかにされた。今後、FM 患者の ADL, QOL を規定する要因、あるいは ADL, QOL 改善のための医学的介入の開発が必要である。

E. 結論

本邦 FM 患者は多彩な身体的、精神的症状のため関節機能以外の ADL は極めて低く、日常生活に強い障害がみられ、精神的よりも身体的 QOL も明らかに低く、高い活動性を有する RA 患者に匹敵する病状にあり、比較的強い抑うつ症状を伴いながら経過していることが明らかになった。今後、ADL, QOL を規定する要因、あるいは改善のための医学的介入を明らかにする必要がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 松本美富士：線維筋痛症。日内会誌 94: 2139-2145, 2005
- 2) 松本美富士、前田伸治：線維筋痛症 性差と医療 2: 1089-1094, 2005.
- 3) 松本美富士：線維筋痛症の症状と診断・治療。日本医事新報 4272: 108-110, 2006.

2. 学会発表

- 1) 松本美富士、前田伸治、玉腰暁子、西岡久寿樹：本邦線維筋痛症の疫学像。第 49 回日本リウマチ学会総会・学術集会。横浜パシフィコ 2005.
- 2) 松本美富士、前田伸治、大澤智代、坂野章吾：線維筋痛症の診断にあたって血清反応陰性脊椎関節症が重要である。第 49 回日本リウマチ学会総会・学術集会。横浜パシフィコ 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。