

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

関節リウマチにおける間質性肺病変発症に関わる遺伝子の探索

平成 18-20 年度 総合研究報告書

研究代表者 島田 浩太

平成 21 (2009) 年 4 月

目 次

I. 総合研究報告

- 関節リウマチにおける間質性肺病変発症に関わる遺伝子の探索 ————— 1
島田浩太

II. 間質性肺疾患の評価

1. 関節リウマチにおけるメトトレキサート肺炎の高分解能CT
による評価方法の検討 ————— 16
杉井章二
2. 関節リウマチ 152 例における間質性肺疾患罹患状況の検討 ————— 20
田中良一

III. 候補遺伝子アプローチによる疾患関連多型解析

1. 候補パスウェイ遺伝子群における疾患関連多型解析方法の検討 ————— 23
山田 亮
2. 候補遺伝子リストの作成 ————— 26
中込 一之
3. 間質性肺病変合併関節リウマチにおける TGF β 関連遺伝子の SNP 解析 ————— 29
山田 亮

IV. ゲノムワイドスクランによる疾患関連多型解析

1. 関節リウマチ臨床 1 亜型としての間質性肺炎発症リスクのゲノム
スクラン実施のための検定手法の検討と実施ツールの開発 ————— 32
山田 亮
2. 間質性肺病変合併関節リウマチにおけるゲノムワイド SNP 解析 ————— 35
大村浩一郎

関節リウマチにおける間質性肺病変発症に関わる遺伝子の探索

研究代表者 島田浩太

独立行政法人 国立病院機構相模原病院 リウマチ科医師

研究要旨：

近年の関節リウマチ（RA：rheumatoid arthritis）診療における種々の治療薬の格段の進歩にもかかわらず、RAにしばしば合併し生命予後に重大な影響を及ぼしうる間質性肺病変（ILD：interstitial lung diseases）の発症機序の解明や治療法の確立は未だ不十分である。また、本邦 RA 患者では薬剤誘発性ILDの発症頻度が他国と比して著しく高いとの報告もあることから、RAに関連するILD発症機序の解析は極めて重要な研究課題である。ILD合併RA患者及び非合併RA患者より文書による同意を得たのち、末梢静脈血約7mlを採取、DNAを抽出する。ILDの合併の有無については原則、胸部高分解能（HR）CTに基づいて評価を行う。採取したゲノムDNA検体については、当初候補遺伝子アプローチによる疾患関連一塩基多型（SNP：single-nucleotide polymorphism）解析を行ったが、単独のSNPで有意なアレル頻度差を有するものは認められなかったため、次にゲノムワイドスクランによる疾患関連多型解析を行った。解析の対象となった244759SNPsについての多重検定にて単純な補正後の有意水準とされる 1.2×10^{-7} 以下のp値を示したSNPは認められなかった。

平成18-20年度の間には本課題遂行に必要な下記検討を進めた。

(1) DNA検体収集体制の確立：相模原病院、東大病院、京大病院、道後温泉病院での同意患者からの末梢血検体採取および京大ゲノム医学センターでの検体保存・解析が各施設の倫理委員会にて審議・承認された。平行して採血体制の整備が行われ、上記の4病院にて合計1985検体を収集した。

(2) 間質性肺疾患の評価方法の検討と対象患者の選定作業：各施設において、本課題の解析対象となるILD合併RA症例および非合併RA症例のリストアップを進めた。収集された検体のうち、CT画像によるILD合併に関する臨床情報がすでに付帯されているものの中から、我々が作成した「CT所見に基づいたILD評価基準」に従って診断されたILD合併群136例と非合併群177例を遺伝解析の対象とした。

(3) 候補遺伝子アプローチによる疾患関連多型解析：任意の数の遺伝子に認められた任意の数のSNPについて、定式化したハプロタイプ・タギングSNPのリストアップアプリケーションを作成した。また、そのようにして得られたSNPリストについてジェノタイプ実験デザインを行うために必要な情報を公共データベースより抽出し、デザインアプリケーション用のフォーマットで出力するルーチンを作成した。また、小・中規模なパスウェイとそのSNPセットについて、総合的帰無仮説検定を実施するアプリケーションを作成した。

動物モデル・患者検体の検討でこれまでに特異性を含めたILDの病態に関連が示唆されている分子・このパスウェイ上での関連分子の遺伝子を対象とした。TGF(transforming growth factor)βを取り上げ、候補パスウェイ遺伝子群は、KEGGおよびILD・TGFβ関連文献における記載をもとに126関連遺伝子をリストアップした。ILD合併群・非合併群について、リストアップされたTGFβ関連126遺伝子に存在するSNPsのうち1078SNPsでのアレル頻度差を検討したところ、単独SNPとして有意な頻度差を有するものは認められなかった。

(5) ゲノムワイドスクランによる疾患関連多型解析：RA患者がILDを合併するか否かには、遺伝子多型のほかに、複数の臨床因子が関与すると予想されている。これらはある程度の複雑さを持った多変量解析の枠組みで評価されるべきものである。疾患形質・臨床情報項目について非順序尺度・順序尺度・量

的形質を、遺伝子多型について非順序尺度・順序尺度を想定し、それらを一元的に管理するデータベースフォーマットを作成した。同一のデータフォーマットから、同一作業ルーチンにて変数情報抽出し、10000人 x 100万遺伝子マーカーのオーダーでの繰り返し検定処理を行うルーチンを単変量解析用に構築することにより、多変量解析の枠組みでの大規模遺伝子マッピングを遂行するための、基礎的統計解析環境の開発に成功した。

収集された検体のうち、ILD合併群・非合併群を対象として、市販の全ゲノムジェノタイピングキットを用いて SNP タイピングを行った。同キットでタイピングされた全 SNPs のうち、予め決められたカットオフ値を超える SNPs の遺伝情報を抽出した。得られた臨床情報と遺伝情報から RA 患者における ILD 合併群と非合併群の間で関連解析を行った。最も小さい Trend 検定の p 値は 1×10^{-5} 以上であり、解析の対象となった 244759 SNPs についての多重検定にて単純な補正後の有意水準とされる 1.2×10^{-7} 以下の p 値を示した SNP は認められなかった。

RA 患者中、CT にて明らかな ILD 合併が認められるのは 10% 程度であり、十分な検体数を収集するには多施設の協力が望ましい。本課題においては既に複数の施設の協力を得、臨床情報および DNA 検体の収集を開始、これまでに RA 患者 1985 検体を収集したが、今回の解析で用いた検体数が有意なアレル頻度差を検出するのに十分ではない可能性があるため、今後はさらに 2000-3000 検体程度を収集して、解析を継続していくことにより、確定的な候補遺伝子を挙げられると予想される。また、これらとは別に薬剤誘発性 ILD 症例を対象とした遺伝解析によって感受性遺伝子を探索していくことも必要であると考えられる。

研究分担者

杉井章二

東京都立府中病院リウマチ科医長

田中良一

東京大学大学院医学系研究科内科学専攻
アレルギーリウマチ学助教

中込一之

東京大学医学部附属病院
アレルギーリウマチ内科医員

山田 亮

東京大学医科学研究所
ヒトゲノム解析センター
ゲノム機能解析分野准教授

大村浩一郎

京都大学大学院医学研究科臨床免疫学助教

研究協力者

松田文彦

京都大学大学院医学研究科附属
ゲノム医学センター
疾患ゲノム疫学解析分野教授

寺尾知可史

京都大学大学院医学研究科臨床免疫学

大学院生

高杉 潔

医療法人千寿会道後温泉病院理事長

高地雄太

(独) 理化学研究所遺伝子多型研究センター
関節リウマチ関連遺伝子研究チーム

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長

古川 宏

(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流動研究員

小澤義典

西門クリニック リウマチ科医師

松井利浩

(独) 国立病院機構相模原病院リウマチ科医長

中山久徳

(独) 国立病院機構相模原病院リウマチ科医師

池中達央

(独) 国立病院機構相模原病院
リハビリテーション科医師

道下和也

(独) 国立病院機構相模原病院リウマチ科医師

A. 研究目的

近年の関節リウマチ（RA：rheumatoid arthritis）治療は、種々の抗リウマチ薬や生物学的製剤の適切な投与により格段の進歩をみせており、特に関節破壊抑制効果に関しては極めて良好な結果が報告されている。しかしながら、RAの関節外病変としてしばしば合併する間質性肺病変（ILD：interstitial lung diseases）は生命予後に重大な影響を及ぼしうる病態であるにもかかわらず、その発症機序の解明や治療法の確立に関しては未だ不十分である。ILDは諸報告によりRAの5～40%と高率に合併することが知られている。RA患者の死因においても、ILDは11.2%を占め、感染性肺炎10.5%とともに最も大きな死因の一つであるという報告もなされている（黒坂ら、2005）。また、メトトレキサート、タクロリムス、レフルノミドといった近年効果が期待されている抗リウマチ薬では既存のILDが薬剤性肺障害の危険因子であるとされている。さらに、実に本邦において処方可能な抗リウマチ薬のほとんどに副作用としてILDが記載されているだけでなく（表1）、本邦では薬剤誘発性ILDの発症頻度が著しく高いと報告されている（図1、工藤、日内会誌95:1058-62, 2006）。以上から、RAに関連するILDの発症機序の解析はきわめて重要であり、本課題ではRAにおけるILDの発症に関わる遺伝的素因の探索を行うことを目的としている。

B. 研究方法

本課題はILD合併RA患者及び非合併RA患者を対象とする。RA患者については、他の膠原病の合併例は対象外とする。ただし、シェーグレン症候群の合併例は対象とする。ILDとしては、UIP(usual interstitial pneumonia)パターンおよびNSIP(non-specific interstitial pneumonia)パターンを対象とし、COP(cryptogenic organizing pneumonia, 以前のBOOP(bronchiolitis obliterans organizing pneumonia))パターンは本課題では除外する。ま

た、これらとは別に薬剤性肺炎症例については、これを対象とする。

独立行政法人国立病院機構相模原病院（以下、相模原病院）リウマチ科、東京大学医学部附属病院（以下、東大病院）アレルギーリウマチ内科、京都大学医学部附属病院（以下、京大病院）免疫・膠原病内科、医療法人千寿会道後温泉病院リウマチセンター（以下、道後温泉病院）に通院中のRA患者より文書による同意を得たのち、末梢静脈血約7mlを採取、DNAを抽出する。検体収集とともに臨床情報の収集を行う（表2）。ILDの合併の有無については胸部高分解能（HR）CTに基づいて評価を行う（表3、図4）。採取したゲノムDNA検体については、一塩基多型（SNP:single-nucleotide polymorphism）のタイピングを行う。

まず、動物モデルおよび患者検体での検討においてこれまでに特発性を含めたILDの病態に関連が示唆されている分子、およびこれにパスウェイ上で関連する分子の遺伝子を対象として解析する。候補パスウェイ遺伝子群は、WEB上に公開されているパスウェイマップ（KEGG:Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes）（図2、3）およびILD関連文献における記載をもとにリストアップを行う。

平成19年度までの候補遺伝子アプローチによる研究で確定的な候補遺伝子が認められなかったため、平成20年度からは採取したゲノムDNA検体から全ゲノムを対象にしてSNP解析を行った。

C. 研究結果

平成18-20年度の間には本課題遂行に必要な、DNA検体収集体制の確立、対象患者の選定作業、疾患関連多型解析方法の検討、薬剤性肺炎の画像評価法の検討と候補遺伝子または全ゲノムを対象にしたSNP解析を施行した。

1. DNA検体収集体制の確立（島田、大村、寺尾、高杉、小澤、當間、古川、松井、中山、池中、杉井、中込、田中）

本課題は遺伝子を扱う臨床研究であり、特に

倫理的側面には配慮を要する。相模原病院、東大病院、京大病院、道後温泉病院において対象患者の研究参加について、京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター（以下、京大ゲノム医学センター）においてDNA検体受け入れについての倫理的側面が、各施設の倫理委員会にて審議に付され、上記4病院において文書による説明ののち文書による同意を得た患者からの末梢血検体採取および京大ゲノム医学センターでの検体保存・解析が承認された。平行して採血体制の整備が行われ、京大病院・道後温泉病院・相模原病院・東大病院にて検体が採取された。京大病院347検体、道後温泉病院472検体、相模原病院1118検体、東大病院48検体、合計1985検体が収集されており（表4）、なお継続中である。検体収集と平行して、検体に付帯させる臨床情報（表2, 3）の収集をさらに進めている。また、アンケート法を用いた生活・職業歴の収集を開始した（図6）。

2. 間質性肺疾患の評価方法の検討と対象患者の選作業（島田、當間、小澤、松井、中山、池中、道下、杉井、田中、中込、大村、高杉）

臨床的メトトレキサート（MTX）肺炎13症例の検討を（1）用語の統一、（2）用語の解釈の統一、（3）読影スライスの統一、（4）共通ワークシートの使用、（5）複数の専門家による独立した読影、（6）討議による最終的な統一見解、の手順で評価し、MTX肺炎の高分解能CT所見として以下の特徴を得た。すなわち、びまん性または斑状、肺の中核から末梢にかけての広がり、すりガラス影主体、上肺野優位、牽引性気管支拡張などの構造改変を伴うものは少ないこと、であった。

各施設において、本課題の解析対象となるILD合併RA症例および非合併RA症例のリストアップを進めた（表3、図4）。収集された検体のうち、画像によるILD合併に関する臨床情報がすでに付帯されているものの中から、我々が作成した「CT所見に基づいたILD評価基準」に従って診断されたILD合併群〔「A」, 「B」, 「C」（表3）〕合計136例と非合併群〔「H」（表3）〕177例を遺伝解析の

対象とした。

3. 候補遺伝子アプローチによる疾患関連多型解析（山田、中込、高地、松田）

任意の数の遺伝子に認められた任意の数のSNPについて、定式化したハプロタイプ・タギングSNPのリスト化アプリケーションを作成した。また、そのようにして得られたSNPリストについてジェノタイプング実験デザインを行うために必要な情報を公共データベースより抽出し、デザインアプリケーション用のフォーマットで出力するルーチンを作成した。また、小・中規模なパスウェイとそのSNPセットについて、総合的帰無仮説検定を実施するアプリケーションを作成した。

本研究ではまず候補遺伝子アプローチをとった。動物モデル・患者検体の検討でこれまでに特発性を含めたILDの病態に関連が示唆されている分子・このパスウェイ上での関連分子の遺伝子を対象とする。ILD病態関連分子としてTGF(transforming growth factor)βを取り上げ、候補パスウェイ遺伝子群は、KEGGおよびILD・TGFβ関連文献における記載をもとに126関連遺伝子をリストアップした。リストアップされた関連分子の一部をパスウェイマップの形で図2, 3に示す。

収集された検体のうち、ILD合併についての画像によるILD合併に関する臨床情報（表2）がすでに付帯されているものの中から、ILD合併群として「A」, 「B」, 「C」合計95例を、非合併例として「H」77例を対象とした。これらについて、表4に掲げた遺伝子に存在するSNPsのうち1078SNPsについてタイピング・解析を行った。アレル頻度差のp値は最も小さいSNPにおいても0.00017であり、1078SNPsについての解析に伴う多重検定の面をBonferroni補正にて考慮すると、単独のSNPで有意なアレル頻度差を有するものは認められなかった。

4. ゲノムワイドスクランによる疾患関連多型解析（山田、大村、寺尾、松田）

候補遺伝子アプローチによる疾患関連多型解析を行った結果は、単独のSNPで有意なアレル頻度差を有するものは認められなかったため、次にゲノムワイドスクランによる疾患関連多型解析を行った。

RA患者がILDを合併するか否かには、遺伝子多型のほかに、複数の臨床因子が関与すると予想されている。これらはある程度の複雑さを持った多変量解析の枠組みで評価されるべきものである。疾患形質・臨床情報項目について非順序尺度・順序尺度・量的形質を、遺伝子多型について非順序尺度・順序尺度を想定し、それらを一元的に管理するデータベースフォーマットを作成した。同一のデータフォーマットから、同一作業ルーチンにて変数情報抽出し、10000人×100万遺伝子マーカーのオーダーでの繰り返し検定処理を行うルーチンを単変量解析用に構築することにより、多変量解析の枠組みでの大規模遺伝子マッピングを遂行するための、基礎的統計解析環境の開発に成功した。

収集された検体のうち、画像によるILD合併に関する臨床情報がすでに付帯されているものの中から、ILD合併群として「A」, 「B」, 「C」(表3)合計136例と非合併例として「H」(表3)177例を遺伝解析の対象とした。これらについて、全ゲノム上の277420SNPsについてタイピング・解析を行った。タイピングのデータクオリティコントロールは、最近のゲノムワイドスタディの基準に照らして、十分に良いものであった。複数の日本国内地域からのサンプルには、集団構造化が存在し、その影響への配慮が必要であることが知られているが、今回のわれわれのサンプルは、複数地域からのサンプルではあったが、ケース・コントロールの分布に地域間の偏りがありなかったことから、検定結果に重大な影響がないことが確認された。その上でTrend検定の結果のp値は最も小さいSNPにおいても 1×10^{-5} 以上であった(図5)。

D. 考察

RA患者中、CTにて明らかなILD合併が認められるのは10%内外であり、十分な検体数を収集するには多施設の協力が望ましいと考えられる。本課題においては既に複数の施設の協力を得、臨床情報およびDNA検体の収集を開始している。また、MTX肺炎について比較的特徴的なCT所見を得られたことは、本課題における薬剤性肺炎の検討につながるものである。

候補遺伝子アプローチによる疾患関連多型解析を行った結果は、アレル頻度差のp値は最も小さいSNPにおいても0.00017であり、1078SNPsについての解析に伴う多重検定の面をBonferroni補正にて考慮すると、単独のSNPで有意なアレル頻度差を有するものは認められなかった。今回解析に用いた検体は、RAの診断、ILDの有無以外の臨床情報が収集中であり、臨床情報を加味したILD合併群/非合併群各群の背景因子の検討が課題である。今回の解析で用いた検体数が有意なアレル頻度差を検出するのに十分でなかった可能性は考えられるが、単独SNPのみでなく候補遺伝子群における分子間相互作用を考慮したパスウェイ解析についても検討している。

上記のとおり、ゲノムワイドスタディにおけるアレル頻度差のTrend検定の結果のp値は最も小さいSNPにおいても 1×10^{-5} 以上であり、解析の対象となった244759SNPsについての多重検定にて単純な補正後の有意水準とされる 1.2×10^{-7} 以下のp値を示したSNPは認められなかった。今回解析に用いた検体では、性別・年齢・RAとILDの診断以外の生活歴臨床情報(表2【2】、図6)は現在収集中であり、これらを加味したILD合併群/非合併群各群の背景因子の検討が課題である。今回の解析で用いた検体数が有意なアレル頻度差を検出するのに十分ではない可能性があるが、今後はさらに2000-3000検体程度を収集して、解析を継続していくことにより、確定的な候補遺伝子を挙げられると予想される。また、これらとは別に薬剤誘発性ILD症例を対象とした遺伝解析によ

て感受性遺伝子を探索していくことも必要である。

E. 結論

ILD 合併 RA 99 例と ILD 非合併 RA 77 例の 2 群間において、候補遺伝子アプローチによる疾患関連多型解析を行った結果、TGF β 関連 126 遺伝子に存在する SNPs のうち 1078SNPs でのアレル頻度差を検討し、単独 SNP として有意な頻度差を有するものは認められなかった。

また、ILD 合併 RA 症例 136 例と ILD 非合併 RA 症例 177 例の 2 群間において、全ゲノムに存在する 244759SNPs でのアレル頻度差を検討したが、単独 SNP として有意な頻度差を有するものは認められなかった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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.
2. Toshihiro Matsui, Kota Shimada, Naoko Ozawa, Hiromi Hayakawa, Futoshi Hagiwara, Hisanori Nakayama, Shoji Sugii, Yoshinori Ozawa, and Shigeto Tohma. Diagnostic Utility of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibodies for Very Early Rheumatoid Arthritis. J Rheumatol 33:2390-2397, 2006
3. Toshihiro Matsui, Kayoko Osumi, Naoko Ozawa, Kota Shimada, Shuji Sumitomo, Kenichi Shimane, Misato Kawakami, Hisanori Nakayama, Shoji Sugii, Yoshinori Ozawa, and Shigeto Tohma. CD64 on Neutrophils is a Sensitive and Specific

Marker for Detection of Infection in Patients with Rheumatoid Arthritis. J Rheumatol 33:2416-2424, 2006

4. Kota Shimada, Toshihiro Matsui, Misato Kawakami, Hisanori Nakayama, Yoshinori Ozawa, Hiroyuki Mitomi and Shigeto Tohma. 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 36:64, 2007
5. Matsui T, Kuga Y, Kaneko A, Nishino J, Eto Y, Chiba N, Yasuda M, Saisho K, Shimada K, Tohma S. Disease Activity Score 28 (DAS28) using C-reactive protein underestimates disease activity and overestimates EULAR response criteria compared with DAS28 using erythrocyte sedimentation rate in a large observational cohort of rheumatoid arthritis patients in Japan. Ann Rheum Dis. 2007 Sep;66(9):1221-6
6. Yang Xiang, Toshihiro Matsui, Kosuke Matsuo, Kota Shimada, Shigeto Tohma, Hiroshi Nakamura, Kayo Masuko, Kazuo Yudoh, Kusuki Nishioka, and Tomohiro Kato. Comprehensive Investigation of Disease-Specific Short Peptides in Sera from Patients with Systemic Sclerosis (SSc): Complement C3f-des-arginine (DRC3f), Detected Dominantly in SSc, Enhances Proliferation of Vascular Endothelial Cells. Arthritis Rheum 56:2018-2030, 2007
7. Kanda H, Yokota K, Kohno C, Sawada T, Sato K, Yamaguchi M, Komagata Y, Shimada K, Yamamoto K, Mimura T. Effects of low-doseage simvastatin on rheumatoid

arthritis through reduction of Th1/Th2 and CD4/CD8 ratios. Mod Rheum 17:364-368, 2007

2. 学会発表

1. Kota Shimada, Futoshi Hagiwara, Hiromi Hayakawa, Shuji Sumitomo, Kenichi Shimane, Tatsuo Ikenaka, Takahiro Yamada, Misato Kawakami, Hisanori Nakayama, Toshihiro Matsui, Shoji Sugii, Yoshinori Ozawa, Shigeto Tohma. Optimal Cutoff Values of Serum KL-6 and Surfactant Protein D for Diagnosis of and Prediction of Acute Development of Interstitial Lung Disease in Patients with Rheumatoid Arthritis. ACR 2006, Nov. 2006. Washington DC, USA.
2. Toshihiro Matsui, Kota Shimada, Futoshi Hagiwara, Hisanori Nakayama, Shoji Sugii, Yoshinori Ozawa, Shigeto Tohma. Combination of Anti-CCP Antibody and Rheumatoid Factor is Useful for a Diagnosis of Very Early RA. ACR 2006, Nov. 2006. Washington DC, USA.
3. Toshihiro Matsui, Atsushi Kaneko, Kota Shimada, Shigeto Tohma. DAS28-CRP Overestimates the Disease Activity of RA Compared with DAS28-ESR. ACR 2006, Nov. 2006. Washington DC, USA.
4. Hisanori Nakayama, Futoshi Hagiwara, Kota Shimada, Shoji Sugii, Toshihiro Matsui, Yoshinori Ozawa, Shigeto Tohma. Three-Year Effects of Bisphosphonates on Treatment of Osteoporosis and on Reducing the Risk for Vertebral Fractures of Rheumatoid Arthritis Patients. (fracture intervention trial) ACR 2006, Nov. 2006. Washington DC, USA.
5. 島田浩太, 松井利浩, 藤田英樹, 川上美里, 池中達央, 山田高広, 中山久徳, 小澤義典, 當間重人. リウマトイド因子陰性関節リウマチに生じた Rheumatoid Neutrophilic Dermatitis の一例, ポスターセッション, 第 50 回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 平成 18 年 4 月 24 日. 長崎
6. 島田浩太, 朝比奈昭彦, 松井利浩, 山澤美緒子, 川上美里, 池中達央, 山田高広, 中山久徳, 小澤義典, 當間重人. 皮疹・関節炎ともにインフリキシマブが著効した膿疱性乾癬・乾癬性関節炎の一例, ポスターセッション, 第 50 回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 平成 18 年 4 月 24 日. 長崎
7. 島田浩太, 松井利浩, 當間重人. DAS(Disease Activity Score)28 でみた関節リウマチ(RA)活動性の季節性推移, ワークショップ, 第 50 回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 平成 18 年 4 月 26 日. 長崎
8. 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), ワークショップ, 第 50 回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 平成 18 年 4 月 26 日. 長崎
9. 當間重人, 萩原太, 早川洋美, 住友秀次, 島根謙一, 池中達央, 山田高広, 川上美里, 島田浩太, 中山久徳, 松井利浩, 杉井章二, 小澤義典. 関節リウマチ患者の間質性肺病変合併診断における血清マーカー(KL-6, SP-D)の至適カットオフ値の検討. ワークショップ, 第 50 回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 平成 18 年 4 月 26 日. 長崎
10. 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—, ポスターセッション, 第 60 回国立病院総合医学会, 平成 18 年 9 月 23 日, 京都
11. 當間重人, 萩原太, 早川洋美, 池中達央, 道下和也, 島田浩太, 中山久徳, 松井利浩, 杉井章二, 小澤義典. 関節リウマチ患者の間質性肺病変合併診断における血清マーカーの至適カットオフ値は従来の値より低い. ポスターセッション, 第 60 回国立病院総合医学

会, 平成 18 年 9 月 22 日, 京都

12. 當間重人, 萩原太, 早川洋美, 池中達央, 道下和也, 島田浩太, 中山久徳, 松井利浩, 杉井章二, 小澤義典. 関節リウマチ患者において「KL-6 高値」「SP-D 高値」「肺間質性病変」は, 間質性肺病変増悪の危険因子だ. ポスターセッション, 第 60 回国立病院総合医学会, 平成 18 年 9 月 22 日, 京都
13. 島田浩太, 松井利浩, 川上美里, 道下和也, 池中達央, 中山久徳, 小澤義典, 當間重人. リウマトイド髄膜炎として加療し得た, 関節リウマチに伴う慢性髄膜炎の一例. ワークショップ, 第 51 回日本リウマチ学会学術集会, 平成 19 年 4 月 26 日, 横浜
14. 島田浩太, 松井利浩, 當間重人. DAS28 でみた関節リウマチ疾患活動性の季節性推移(第 3 報) ~関東地方での検討~. 一般演題, 第 72 回日本温泉気候物理医学会学術集会, 平成 19 年 5 月 18 日, 箱根
15. 島田浩太, 松井利浩, 岩田香奈子, 道下和也, 池中達央, 中山久徳, 小澤義典, 當間重人. リウマトイド髄膜炎として加療し得た関節リウマチに伴う慢性髄膜炎の一例. 免疫アレルギー-2, 第 61 回国立病院総合医学会, 2007 年 11 月 16-17 日, 名古屋
16. 松井利浩, 小宮明子, 島田浩太, 西野仁樹. 炎症反応高値関節リウマチ患者における感染症診断マーカーとしての末梢血好中球上 CD64 分子定量の有用性の検討, 一般演題, 第 82 回(中)日本感染症学会総会, 平成 20 年 4 月 18 日. 島根
17. 松井利浩, 小宮明子, 道下和也, 池中達央,

島田浩太, 中山久徳, 西野仁樹, 當間重人. CRP 高値関節リウマチ患者における感染症マーカーとしての好中球上 CD64 分子定量の有用性の検討, ワークショップ, 第 52 回(中)日本リウマチ学会総会・学術集会, 平成 20 年 4 月 21 日. 札幌

18. 中山久徳, 池中達央, 島田浩太, 松井利浩, 當間重人. リウマチ性疾患患者に対して便潜血検査は有用である. ポスターセッション, 第 62 回国立病院総合医学会, 2008 年 11 月 21 日, 東京
19. T. Matsui, A. Komiya, K. Michishita, T. Ikenaka, K. Shimada, H. Nakayama, J. Nishino, S. Tohma . CLINICAL UTILITY OF NEUTROPHIL CD64 EXPRESSION TO DISTINGUISH RA FLARE FROM INFECTION IN RA PATIENTS WITH A HIGH TITER OF INFLAMMATORY MARKER. Annual European congress of rheumatology 2008 2008.6.12 Paris, France,

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

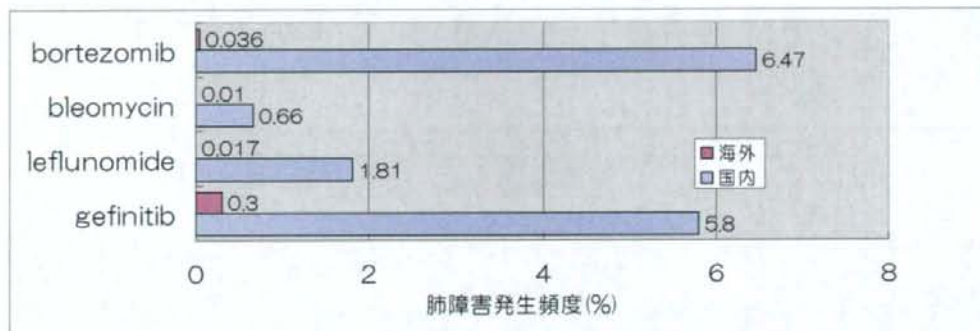
1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表 1. 副作用としてILDが記載されている抗リウマチ薬(各添付文書による)

D-ペニシラミン	金チオリンゴ酸ナトリウム
アクタリット	オーラノフィン
ブシラミン	ミゾリビン
サラゾスルファピリジン	インフリキシマブ
メトトレキサート	エタネルセプト
レフルノミド	タクロリムス*

*「間質性肺炎の悪化」

図 1. 各種薬剤性肺障害の国内外比較



工藤翔二 日内会誌 95:1058-62, 2006 掲載データより作成

図 2. KEGG 上のパスウェイマップ (TGFβ)

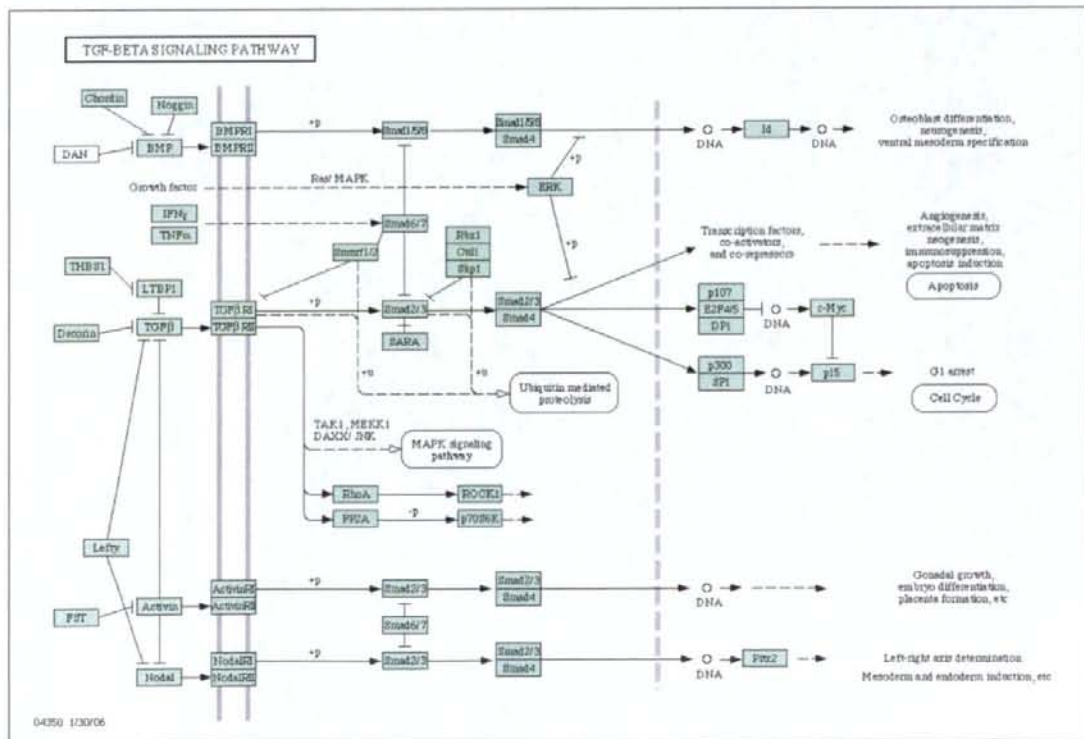


図 3. KEGG 上のパスウェイマップ (MAPK シグナル)

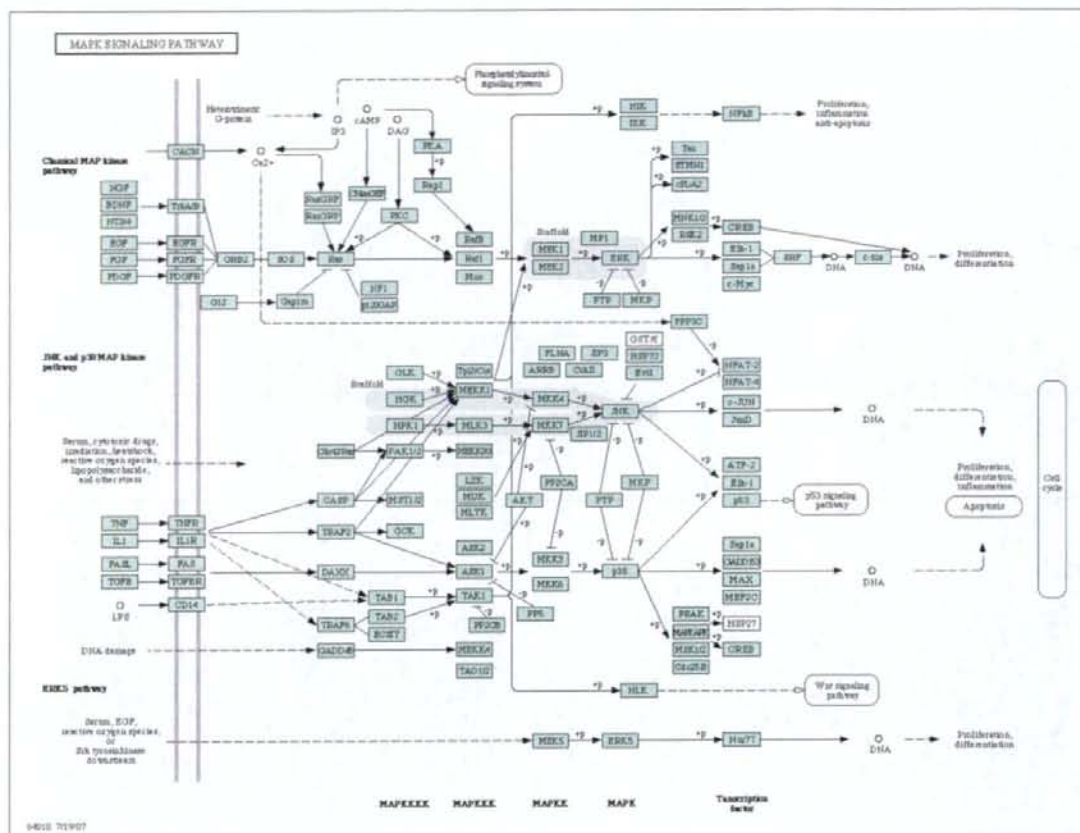


表2. 収集する臨床情報

【1】基本情報

- ・生年月日
- ・性別
- ・RA発症年月
- ・RAのStage
- ・RAのClass

【2】生活歴

- ・喫煙の有無
- ・鳥飼育歴
- ・羽毛布団の使用歴
- ・無機・有機粉塵曝露歴
- ・乳癌等胸部放射線療法歴

【3】画像所見

- ・画像分類（「A」～「H」および「X」～「Z」のいずれか）（表2参照）
- ・撮像日：「A」～「H」について、根拠となる画像の撮像年月日。

【4】付帯情報

- ・薬剤性肺炎歴の有無
- ・間質性肺病変急性増悪歴の有無
- ・現存間質性肺病変についての他の診断の有無とその診断（ILD症例のみ）

表3. 画像所見の分類

「A」: HRCT上、間質性肺病変の所見^{*1}が認められ、所見が最大となるスライスにおいてその病変の短径が2cm以上であるもの^{*2}。

「B」: HRCT未撮像であるもののうち、HRでない胸部CT上、間質性肺病変の所見が認められ、所見が最大となるスライスにおいてその病変の短径が2cm以上であるもの^{*2}。

「C」: HRCT上、間質性肺病変の所見^{*1}が認められるが、所見が最大となるスライスにおいてもその病変の短径が2cmに満たないもの^{*2}。

「D」: HRCT未撮像であるもののうち、HRでないCT上、間質性肺病変の所見が認められるが、所見が最大となるスライスにおいてもその病変の短径が2cmに満たないもの^{*2}。

「E」: HRCT、HRでないCTいずれも撮像されていず、胸部単純レントゲンにて明らかな間質性肺病変の所見が認められるもの。

「F」: HRCT、HRでないCTいずれも撮像されていず、胸部単純レントゲン上肺病変の所見が認められないもの。

「G」: HRCT未撮像であるもののうち、HRでないCT上、肺病変の所見が見られないもの。

「H」: HRCT上、肺病変の所見が見られないもの。

「X」: HRCT上評価・分類困難 (含: 気管支拡張症主とする症例、細気管支病変主とする症例、肺気腫を主とする症例、BOOP(COP)パターン症例)

「Y」: HRCT撮像なく、従来CT上評価・分類困難 (同上)

「Z」: CT撮像なく、CXR上評価・分類困難 (同上)

註

*1: すりガラス影、小葉間隔壁の肥厚、小葉内網状陰影、牽引性気管支拡張、structural distortion、蜂巢肺、末梢血管影の不規則な腫大、細気管支拡張像を伴う高度の肺野高吸収域、不正な小葉間隔壁肥厚像及び小葉内間質肥厚像、胸膜下線状影、浸潤影、のいずれかまたはいくつかからなり、総合的に間質性肺病変と考えられるもの。

*2: 間質性肺病変の所見を主たる変化とする画像については、気腫性病変所見、気管支拡張所見、細気管支病変所見を伴っていても、「A」～「D」に分類することとする。

表4. 各施設ゲノム検体収集状況

施設	収集済検体数
京大病院	347
道後温泉病院	472
相模原病院	1118
東大病院	48
計	1985

図4. 画像所見分類フローチャート

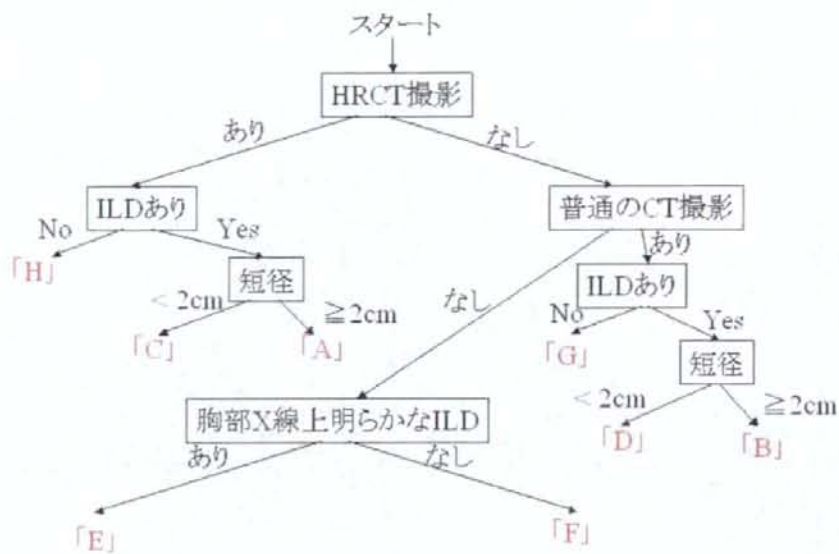


図5. SNPsのアレル頻度差のp値(Trend検定)

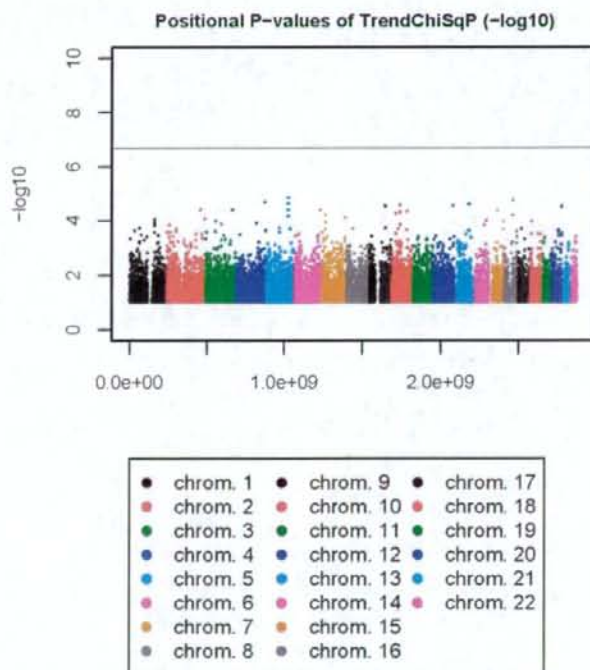


図 6. 生活・職業歴収集用アンケート用紙

アンケートのお願い

大変お手数ではございますが、以下のアンケートにお答えいただきたく、よろしくお願いたします。

1. たばこは吸いますか？（あてはまるもの1つを選んで○印をつけてください。）
 - A. 吸わない。
 - B. 以前は吸ったが今は吸わない。
 - C. 現在吸っている。

2. たばこを吸っている方・吸ったことのある方にお尋ねします。1日に吸う（吸った）本数と吸った年数をおしえてください。

1日_____本、_____年間

3. 鳥を飼っていますか？（あてはまるもの1つを選んで○印をつけてください。）
 - A. 飼ったことはない。
 - B. 以前は飼っていたが今は飼っていない。
 - C. 現在飼っている。

4. 羽毛布団をつかっていますか？（あてはまるもの1つを選んで○印をつけてください。）
 - A. つかったことはない。
 - B. 以前は使っていたが今は使っていない。
 - C. 現在使っている。
 - D. わからない。

5. 粉じん*の多い環境で働いていますか？（あてはまるもの1つを選んで○印をつけてください。）
(*「粉じん」とは、金属、岩石、木材などからなる、粉のように細かいちりのことです。)
 - A. いたことはない。
 - B. 以前は粉じんの多い環境で働いたことがあるが今はそうでない。
 - C. 現在粉じんの多い環境で働いている。

6. 乳癌など、胸部に放射線治療を受けたことがありますか？（あてはまるもの1つを選んで○印をつけてください。）
 - A. 受けたことはない。
 - B. 以前受けたことがあるが今は受けていない。
 - C. 現在受けている。
 - D. わからない。

ご協力ありがとうございました。

○○病院○○科

関節リウマチにおけるメトトレキサート肺炎の高分解能 CT による評価方法の検討

研究分担者 杉井章二 独立行政法人 国立病院機構相模原病院 リハビリテーション科 医師
研究協力者 中込一之 東京大学医学部附属病院アレルギーリウマチ内科 医員

研究要旨：関節リウマチの治療薬として用いられるメトトレキサート（以下、MTX）は、ときに、MTX 肺炎と呼ばれる間質性肺病変を惹起する。一方、間質性肺病変の診断においては高分解能 CT が不可欠な検査となっている。本研究では、統一された読影方法を用いて MTX 肺炎 13 症例の画像所見の特徴を検討した。その結果、MTX 肺炎の画像所見としてびまん性または斑状に、肺の中枢から末梢にかけて分布し、上肺野優位が多いすりガラス影が主体で構造改変を伴うものは少ない画像所見の特徴が得られた。画像診断では、読影者によって使用する異なる用語・解釈が客観的な記述を困難とする。本研究では統一した読影方法によって MTX 肺炎の客観的な画像所見が得られた。この方法は、画像を対象とする研究一般に有用と考えられた。

A. 研究目的

現在、間質性肺炎の診断において CT、特に高分解能 CT（以下、HRCT）は不可欠な検査となっている。診療や研究において CT 上の間質性肺炎所見を比較・分類などの分析を行う際には、統一された読影方法によってのみ客観的な評価が可能となる。今回は、関節リウマチに対して用いられる薬剤の一つであるメトトレキサート（以下、MTX）が引き起こした MTX 肺炎の読影において統一読影方法を試みた。

B. 研究方法

複数の施設から MTX 肺炎の症例の臨床情報と CT を得た（全 14 症例）。

(1) 所見の用語の統一：びまん性肺疾患の CT 所見でよく使用される用語を用いた。「すりガラス影」、「浸潤影」、「小葉間隔壁の肥厚」、「結節陰影」、「牽引性気管支拡張」、「structural distortion」、「蜂窩肺」、「嚢胞状陰影」、「肺気腫」、「気管支壁肥厚」、「気管支拡張」、「細気管支病変」、の全 12 個の用語での記述を行った。

(2) 病変の広がりや強さの記述：(1)の所見は、1.大動脈弓レベル、2.気管支分岐部レベル、3.中間

気管支幹レベル、4.下肺静脈レベル、5.横隔膜直上レベル、の 5 つのスライスで評価された。一スライスにおける各所見の病変範囲は、「すりガラス影」と「浸潤影」に関しては、病変部の面積を 5 つのグレード（0：病変なし、1：<25%、2：25～50%、3：50～75%、4：>75%）に分けて評価した。面積など定量が困難である「小葉間隔壁の肥厚」や「結節陰影」などその他の所見については、一、十、十十、と主観的に病変の強さと広がり記述した。

(3) 読影者：読影は、びまん性肺疾患に詳しい放射線科医、呼吸器の専門医、リウマチ性疾患に合併する間質性肺炎の診療にあたっているリウマチ科医によって構成された。読影者は読影前に使用する CT 所見用語の見解を確認しあい、記述する統一のワークシートを作成した（図 1）。読影は読影者ごとに独立になされ、(1)(2)の所見・広がりを共通のワークシートに記入した。後日、読影者は一同に会し、討議の上、画像所見・診断の統一見解を得た。

C. 研究結果

14 症例の検討で 13 症例が MTX 肺炎と診断さ

れた。これらより MTX 肺炎の画像所見として以下の特徴を得た(図2・3)。分布上の特徴は、「びまん性または斑状」で肺の「中枢から末梢にかけての広がり」を認める点であった(図2)。画像所見としては「すりガラス影が主体」であり、「上肺野優位が多い」。「牽引性気管支拡張などの構造改変を伴うものは少ない」が特徴的であった(図3)。

D. 考察

今回、MTX 肺炎の比較的特徴的な画像所見を得ることができた。間質性肺炎の画像所見では、読影者によって使用する用語が違ったり、所見の取り方や解釈が異なったりするため、客観性の高い記述が困難となる。今回、(1)用語の統一、(2)用語の解釈の統一、(3)読影スライスの統一、(4)共通ワークシートの使用、(5)複数の専門家による独立した読影、(6)討議による最終的な統一見解、により MTX 肺炎において、独善性を極力排した、より客観性の高い画像所見が得られたものと思われた。この方法は、画像を対象にした研究すべてに有用な方法であると思われる。

なお、今回得られた MTX 肺炎の画像の特徴からは「ニューモシスティス肺炎を画像だけで鑑別・除外することは困難」と考えられた。

E. 結論

MTX 肺炎の画像診断・解析に、統一的な画像読影方法を取り入れることで、比較的特徴的な MTX 肺炎所見を得ることができた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 学会発表

1. 杉井章二. Rheumatoid Arthritis(RA) associated with complete AV block and severe mitral regurgitation(MR). 第 50 回日本リウマチ学会 学術集会. 2006 年 4 月 24 日、長崎
2. 杉井章二. 関節リウマチの治療薬と呼吸器関連副作用・MTX の効果と呼吸器関連副作用. イブニングシンポジウム. 第 46 回日本呼吸器学会学術集会. 2006 年 6 月 2 日、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

図1. 読影に用いた用紙

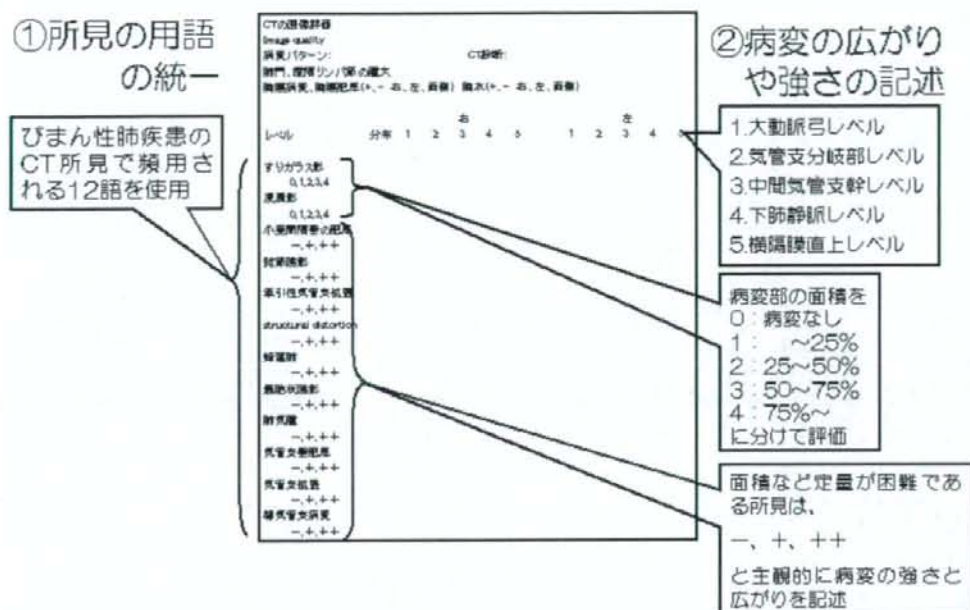
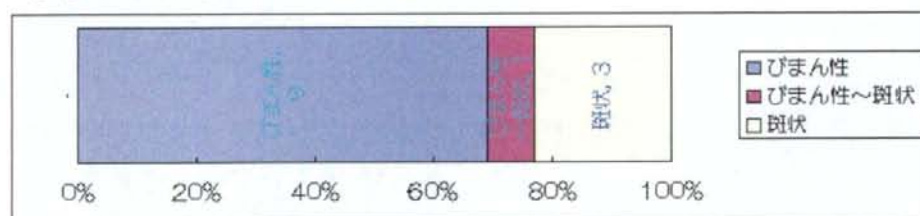


図2. MTX 肺炎 13 症例の病変分布

びまん性が多い



肺の中樞から末梢にかけて広く分布

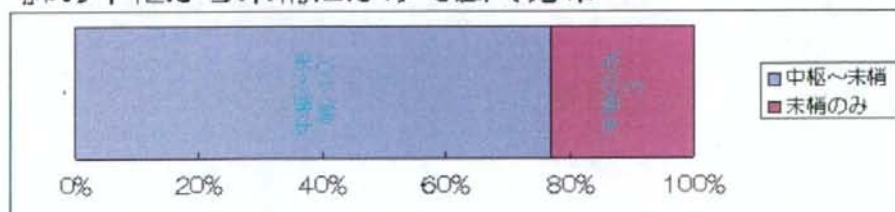
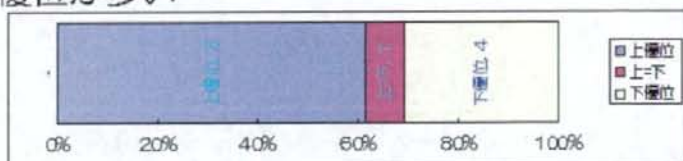


図3. MTX 肺炎 13 症例の画像所見

すりガラス影が主体



上肺野優位が多い



牽引性気管支拡張等の構造改変を伴うものは少ない

