

200934006A

厚生労働科学研究費補助金
免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

関節リウマチの寛解導入療法体系化に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 竹内 勤

平成22(2010)年3月

目 次

I. 構成員名簿	3
II. 総括研究報告書	
1. 関節リウマチの寛解導入療法体系化に関する研究 竹内 勤	7
III. 分担研究報告書	
1. 制御性 T 細胞のマスター遺伝子 EGR2 の遺伝子多型と関節リウマチ 山本 一彦	19
2. IL-6 阻害治療による関節リウマチ患者の寛解導入の可能性の 検討に関する研究 – トシリズマブ効果予測遺伝子セットを 用いたインフリキシマブの効果予測の可能性 – 西本 憲弘	21
3. 0.3T compacTscan による関節リウマチの診断および生物学的製剤の 治療効果判定に関する研究 住田 孝之	25
4. 関節リウマチにおけるバイオフリー寛解導入療法体系化に関する研究 田中 良哉	29
5. 関節リウマチ患者の臨床的寛解と機能的寛解の関係 – IORRA コホートにみる治療薬の寛解に及ぼす影響 山中 寿	33
6. 日本における生物学的製剤使用関節リウマチ患者に関する 疫学研究 (REAL 研究) 南木 敏宏	37
7. 関節リウマチの寛解導入に関するマーカーの抽出に関する研究 川上 純	42
8. 早期関節リウマチ患者における全身関節造影 MRI 渥美 達也	51
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	55
V. 合同研究発表会プログラム	73

I. 構 成 員 名 簿

平成 21 年度
 厚生労働科学研究費補助金
 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業
 関節リウマチの寛解導入療法体系化に関する研究

構成員名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	竹内 勤	慶應義塾大学医学部 リウマチ内科	教授
研究分担者	山本一彦	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	教授
	西本憲弘	和歌山県立医科大学 免疫制御学講座	教授
	住田孝之	筑波大学大学院人間総合科学研究科 先端応用医学専攻臨床免疫学	教授
	田中良哉	産業医科大学医学部 第一内科学講座	教授
	山中 寿	東京女子医科大学附属 膠原病リウマチ痛風センター	教授
	南木敏宏	東京医科歯科大学 薬害監視学講座	寄付講座 准教授
	川上 純	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・制御学講座 第一内科	講師
	渥美達也	北海道大学大学院医学研究科 病態内科学講座・第二内科	講師

II. 総括研究報告書

関節リウマチの寛解導入療法体系化に関する研究

研究代表者 竹内 勤
慶應義塾大学医学部リウマチ内科 教授

研究要旨

我国の関節リウマチ治療は、ここ数年飛躍的に進歩し、寛解導入率は30%を超えるまでに向上した。その背景には、MTXを初めとした強力な抗リウマチ作用を有する薬剤が、より多くの症例に発症早期から使用されてきたこと、ならびに2003年以降の生物学的製剤導入がある。生物学的製剤を導入すれば、寛解率は20～50%まで上乘せすることが可能である事が、我国で承認された2剤のTNF阻害薬、抗IL-6受容体抗体の検討で明らかにされた。その場合、インフリキシマブの増量、エタネルセプトの追加併用の有効性が明らかとなった。さらに寛解維持率を向上させる工夫、寛解導入持続例における中止プログラムの検証が行なわれ、インフリキシマブ中止後にも寛解を得られる可能性がある事が示された。一方、生物学的製剤導入前の関節破壊は、総シャープ・スコアが100前後と高度に進行している事が示された。罹病期間によって関節破壊進行度が異なっており、寛解導入の個別化、関節破壊抑止の観点からも、罹病期間別の治療戦略を構築する必要があると考えられた。

研究分担者

山本一彦	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 教授
住田孝之	筑波大学大学院人間総合科学研究科先端応用医学専攻臨床免疫学 教授
山中 寿	東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 教授
西本憲弘	和歌山県立医科大学 免疫制御学講座 教授
田中良哉	産業医科大学医学部第一内科学講座 教授
南木敏宏	東京医科歯科大学 薬害監視学講座 寄附講座准教授
川上 純	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座（第一内科）准教授
渥美達也	北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座第二内科 講師

A. 研究目的

高齢者に多い関節リウマチ（RA）は、高度の破壊性関節炎を特徴とし機能予後のみならず生命予後も不良である。RAの自然経過を変えうる薬剤として抗リウマチ薬が積極的に投与されているが、生物学的製剤開始時すでに関節破壊が進展しており、また本邦のRAは欧米の症例より関節破壊度がより高度であることが明らかとなってきた。その原因とし

て、効果判定の目標設定が低い、目標到達までの期間が長い、有効な抗リウマチ薬が十分量投与されていない、生物学的製剤導入決定の遅れ、などの要因が考えられる。それを解決するためには、治療の目標を臨床的寛解とし、厳密なモニタリングによって、早期から強力な積極的な治療を行い、関節破壊進行のない『真の寛解』を目指す治療戦略が必要である。そこで本研究では、機能予後改善を指

向した薬物治療戦略を展開するため、わが国の治療の現状を分析、検討し、個々の症例に適した効率よい寛解導入法を構築し、それを体系化する事を目的とする。

B. 方法と結果

コホート研究

- 1) 臨床現場における寛解導入率の推移：
RA 患者を対象とした前向き観察研究 IORRA では、このコホートでの DAS28 は年々改善がみられ、2000年10月の 4.15 ± 1.18 から 2008年10月のデータとして 3.28 ± 1.15 まで改善。一方、JHAQ 平均値は 0.801 から 0.745 とわずかに低下していたが、JHAQ と強く影響する罹病期間で補正すると明らかな改善を認めた。2000年以降 RA 患者の疾患活動性が低下し、機能障害の進行が改善していることが示された。疾患活動性の制御が機能障害の進行防止に寄与することが改めて確認された。2000年10月には 8.5% であった臨床的寛解は、2008年10月には 30.3% まで向上していた。
- 2) 生物学的製剤使用 RA 患者を対象とした疫学研究：南木班員は、『生物学的製剤使用関節リウマチ患者登録システム [Registry of Japanese Rheumatoid Arthritis Patients on Biologics for Long-term safety (REAL)]』を構築し、生物学的製剤使用 RA 患者及び対照として疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARDs) 使用 RA 患者に関する安全情報を収集した。SAE の発現件数は、B 群で 171 件、C 群で 82 件であり、そのうち重篤感染症は B 群 69 件、C 群で 26 件であった。SAE および重篤感染症頻度 (/100 患者・年) は B 群 (1205.3 患者・年) で 14.2、5.7、C 群 (970.2 患者・年) で 8.5、2.7 であった。COX 比例ハザードモデル解析では、生物学的製剤の重篤感染症発現に関するハザード比は 2.1 (95% 信頼区間, 1.4-3.4) であった。日本人 RA 患者の生

物学的製剤使用群においては、SAE および重篤感染症の発現頻度が、DMARDs 使用群に比較し有意に高く、生物学的製剤が感染症に関する独立した危険因子である事が明らかになった。これと関連する因子として、年齢、ステロイド薬併用、慢性呼吸器疾患、MTX 投与量、病期の進行 (Stage III または IV) が明らかになった。

各薬剤を用いた臨床研究

- 3) インフリキシマブの寛解導入と関節破壊抑制の検討：班員 3 施設で行なってきた RECONFIRM-2 研究が明らかにされ、インフリキシマブ投与 410 例の 22 週時点での寛解導入率は、27.8%、54 週時点での寛解導入率は 27.6% とほぼ同様に推移した。インフリキシマブ投与前後で手足の X-P が撮影されていた 67 例に関して関節破壊年間進行度を解析すると、投与前総シャープ・スコアと関節破壊の抑止を示す強力な効果が明らかにされた。これまでのデータは主として 3mg/kg 8 週間隔の用法・用量による検討であったため、効果源弱が観察されていた。0, 2, 6 週を 3mg/kg で導入後、14 週～52 週までに盲検的に 3mg/kg, 6mg/kg, 10mg/kg を比較する RISING 試験が行われた。その結果、54 週目の臨床的寛解率は 3mg/kg 群の 30.3% に対し、6mg/kg では 39.4%、10mg/kg では 45.2% に達成される事が明らかになった。
- 4) インフリキシマブ寛解導入後の中止プログラムの構築：インフリキシマブにより導入された低疾患活動性の維持に関する研究は、田中班員を中心として実施した。田中班員の所属施設で RA 患者 294 例にインフリキシマブを投与し、22 名が寛解後に中止し得た。インフリキシマブ中止群と非休薬群との患者背景の統計解析では、罹病期間とステロイド量に有意差を認めた。竹内の施設では、インフリキシマブを 22 週以上継続して投与された 352 例中、55 名 (16%) が寛解後に中止して

おり、その罹病期間中央値は、43ヶ月と効果不十分中止の90ヶ月に比して有意に短かった。インフリキシマブで導入された低疾患活動性の維持に関する多施設研究(RRRスタディ)では、100症例中73例でインフリキシマブ休薬が継続でき、38例は1年以上に亘って休薬可能であった。患者背景は、平均年齢は51歳、平均罹病期間は約6.0年で、平均stageは2.4、インフリキシマブ投与前の平均PSL量は1.0mg、平均MTX量は7.9mg/週で、平均DAS28は5.4であった。再燃した27例では、インフリキシマブを再投与したが、5例で軽度の注射時反応を認めたが、再投与後は疾患活動性を制御できた。以上によりインフリキシマブ中止によっても約50%の症例で寛解が維持され、インフリキシマブ中止後の寛解維持は現実的な目標と考えられた。

5) エタネルセプトの寛解導入療法の検討: JESMR (Japanese Etanercept Switching on MTX resistant) 試験: MTX 不応例に対し、エタネルセプトスイッチ群と追加併用の1年後の臨床的効果、関節破壊進行度を評価する臨床試験で、各種評価法を用いた。52週の寛解率は併用35.6%、単独18.8%と併用群が優れ ($p=0.036$)、年間シャープスコアも単独群の3.58に対し、併用群0.79であり特に骨びらんスコアは単独群の1.8に対し、併用群は-0.1と優位に抑制していた ($p=0.018$)。MTX 抵抗性でエタネルセプトを開始する場合、臨床的にも関節破壊の観点からも追加併用が優れている事が明らかとなった。

6) 抗IL-6受容体抗体トシリズマブの有効性予測: 西本班員は、DNAマイクロアレイを用いて、治療前の患者末梢血中の遺伝子発現を網羅的に解析し、24週後の臨床的寛解ならびにIL-6正常化の予測を試みた。SATORI試験に登録した患者末梢血全血よりtotal RNAを抽出した。増幅

後アミノアリルRNAを蛍光色素Cy3、Cy5で標識し、ヒトの3万個の遺伝子からデザインしたオリゴDNA搭載マイクロアレイDNAチップ(AceGene®)にハイブリシ、末梢血細胞中の29640種のRNA発現量を測定した。trainingを行ったトシリズマブ群では、1)EULAR「Good response」、を予測する正確度は、92.6%で、感度97.2%、特異度は83.3であった。治療前の遺伝子発現プロファイルにより24週後の臨床効果の予測に有用と判断した。

7) インフリキシマブの有効性予測: 竹内を中心としてAgilent社44K DNAマイクロアレイを用いてインフリキシマブ治療前の患者末梢血の遺伝子発現を42例のRAで解析。14週後のCRP値、臨床的有効性と関連する10遺伝子を同定し、これを用いた有効性アルゴリズムを構築した。56例のインフリキシマブ投与例、27名のエタネルセプト投与例を前向きに検討したところ、14週のCRP陰性化を予測する正診率は、インフリキシマブ62.5%、エタネルセプト59.7%とほぼ同等で、この遺伝子セットで両剤の有効性判定が可能と考えられた。インフリキシマブによる22週後のACR20反応率による有効性を予測する正診率は、66.7%と実用化に向けた検討が可能な水準と考えられる。

免疫、遺伝学的研究

8) RA疾患感受性遺伝子の検討: 山本班員は、疾患感受性遺伝子として、SLAM (signaling lymphocyte activation molecule) ファミリー遺伝子の一つであり、NK細胞やCD8陽性T細胞などに発現しているCD244の機能性多型に着目し解析した。RA 830検体とコントロール658検体の第1コホートでの解析で、強い関連を認めた2つのSNP (rs3766379, rs6682654)について検討したところ、RA感受性アレルの塩基配列は強いエンハンサー活性を示し、upstream transcription (USF-1) と

呼ばれる転写因子が結合していることが明らかになった。NK細胞などに発現しているCD244遺伝子が日本人RAと関連することを示した。また、新たな制御性T細胞としてCD4+CD25+LAG3+細胞のマスター遺伝子であるEGR遺伝子多型とRAおよびSLEとの関連性が明らかとなった。今後のテーラーメイド医療に重要な情報を提供するものと考えられる。

- 9) 川上班員は、臨床的ならびに基礎的な検討で、RA治療経過で寛解導入に関連する因子の抽出を試みた。診断未確定関節炎(UA)へのDMARDs治療は有効で、RAへの進展リスクが高いUA(自己抗体陽性かつMRI骨変化陽性)に対しても約50%の症例で臨床的寛解が導入された。エタネルセプトを導入したRA 152症例ではMTX併用と導入時中等度疾患活動性が24週後の臨床的寛解と関連があった。また、エタネルセプトを24週継続投与し、かつ、CRP、ESR、抗CCP抗体、IgM-RF、MMP-3、COMPを経時的に測定し得た45症例の評価では、24週後のDAS、CRP、ESR、MMP-3、COMPは有意に低下した。45症例は10症例が寛解達成、35症例が寛解非達成に分類され、CRP、ESR、MMP-3は両群で低下するもCOMPは寛解達成群でのみ有意な低下が認められた。早期RAに生物学的製剤を導入し治療経過でMRIを計時的に撮像した症例では、MRI骨変化消失症例はその後のX-p骨変化進展は認めず、MRI骨変化の推移はX-p骨破壊の進展予測に有用と考えられた。
- 10) 投与前の全血RNAの発現からのTNF阻害剤の投与後の効果予測：埼玉医科大学総合医療センターリウマチ・膠原病内科にて、インフリキシマブまたはエタネルセプト投与開始直前のRA患者から、本研究の同意を得て採血を行い、PAXgene Blood RNA Kitによって全血RNAを抽出し、Agilent Whole Human Genome

4X44KでRNA発現量を測定した。薬剤効果は投与14週後(インフリキシマブ、エタネルセプト)もしくは22週後(インフリキシマブ)の血中CRP濃度、ACR、EULAR response criteriaを用い、閾値を設定し、有効、無効を定義しRNA発現量によって2群判別を行った。インフリキシマブ投与14週後の効果を予測する遺伝子マーカーを用い、インフリキシマブ14週、22週、エタネルセプト14週の有効性を前向きに予測した。インフリキシマブ14週予測(56名)では、ACR20達成が有効の場合、正診率、陽性的中立、陰性的中立が63.6%、67.5%、53.3%であった。CRP0.3mg/dl以下が有効の場合、62.5%、71.9%、50.0%、EULAR Response criteriaでGood, Moderate responderを有効としたとき、62.5%、82.1%、17.7%を得た。同剤22週予測(55名)では、それぞれ、ACR20が66.7%、75.0%、42.9%、CRPが65.5%、74.2%、54.2%、EULAR Response criteriaが、61.8%、78.9%、23.5%であった。エタネルセプト14週予測(27名)では、CRPにおいて59.3%、53.9%、64.3%であった。インフリキシマブ14週効果予測の遺伝子マーカーにより同剤の22週のみならず、同じTNF阻害剤であるエタネルセプトの効果予測も可能であることが示された。正解率は65%前後であり、有益な検査と考えられる。

寛解導入を目指す画像評価研究

- 11) 生物学的製剤治療効果予測における治療直前手関節造影MRI有用性評価
渥美班員は、造影MRIを両手関節に応用し、生物学的製剤治療直前、治療後のMR画像を定量評価することにより治療効果予測が可能かどうかを検討した。治療前に両手の造影MRIが施行された関節リウマチ患者17例(エタネルセプト;5例、インフリキシマブ;11例)を対象とした。MRIは造影剤投与5分後から両手を撮像

し、病勢優位側の手根部滑膜量を定量測定した。治療効果と比較した。治療前の滑膜定量値は治療後の DAS28 (ESR)、DAS28 (CRP) とそれぞれ、 $r = 0.625$ ($p = 0.0096$) と $r = 0.5148$ ($p = 0.0413$) で正の相関があった。造影 MRI を用いて計測された生物製剤治療前後の滑膜定量値は DAS28 に相関し、病勢評価に有用であった。治療直前の滑膜定量値は治療後の DAS28 に相関し、予後予測にも使用できる可能性が示された。

12) コンパクト MRI スコアによる生物学的製剤の治療効果判定

住田班員は、RA に対する生物学的製剤の治療効果判定に造影剤不要の 0.3T コンパクト MRI を用いて客観的な評価をおこなった。筑波大学の倫理委員会の承諾を得て、コンパクト MRI 装置(磁束密度 0.3T compactTscan)による画像診断をおこなった。骨びらん、骨髄浮腫、滑膜炎を 1-3 の 4 段階に分類し、コンパクト MRI スコア = 総骨びらん点数 \times 1.5 + 総骨髄浮腫点数 \times 1.25 + 総滑膜炎点数として算出した。 Δ MRI と Δ DAS28-CRP の相関係数は $R=0.625$ であり極めて高い相関性を示した。1.5T 大型 MRI との比較検討の結果、RA の画像的診断価値として同等と結論づけられた。生物学的製剤による治療効果判定に、compactTscan による治療効果判定が有効であると考えられた。

C. 考察と結論

我国の関節リウマチ治療は、ここ数年飛躍的に進歩し、寛解導入率は 30% を超えるまでに向上した。その背景には、MTX を初めとした強力な抗リウマチ作用を有する薬剤が、より多くの症例に発症早期から使用されてきたこと、ならびに 2003 年以降の生物学的製剤導入がある。生物学的製剤を導入すれば、寛解率は 20~50% まで上乘せすることが可能である事が、我国で承認された 2 剤の TNF 阻害薬、抗 IL-6 受容体抗体の検討で明らか

にされた。その場合、インフリキシマブの増量、エタネルセプトの追加併用の有効性が明らかとなった。さらに寛解維持率を向上させる工夫、寛解導入持続例における中止プログラムの検証が行なわれ、インフリキシマブ中止後にも寛解を得られる可能性がある事が示された。一方、生物学的製剤導入前の関節破壊は、総シャープ・スコアが 100 前後と高度に進行している事が示された。罹病期間によって関節破壊進行度が異なっており、寛解導入の個別化、関節破壊抑止の観点からも、罹病期間別の治療戦略を構築する必要がある。一方、TNF 治療薬、IL-6 受容体抗体トシリズマブの高い寛解導入率が示されたが、網羅的遺伝子発現解析によってその有効性を予測するアルゴリズムが検証された。個々の症例に適した効率よい薬剤選択を行なうため、免疫遺伝学的解析が進められ、今回、新たな疾患感受性遺伝子と、その機能的解析からテラメイド医療構築に向けて新たなエビデンスが得られた。これらの情報を統括することによって、エビデンスに基づいた寛解導入の体系化が可能になると考える。

D. 健康危険情報

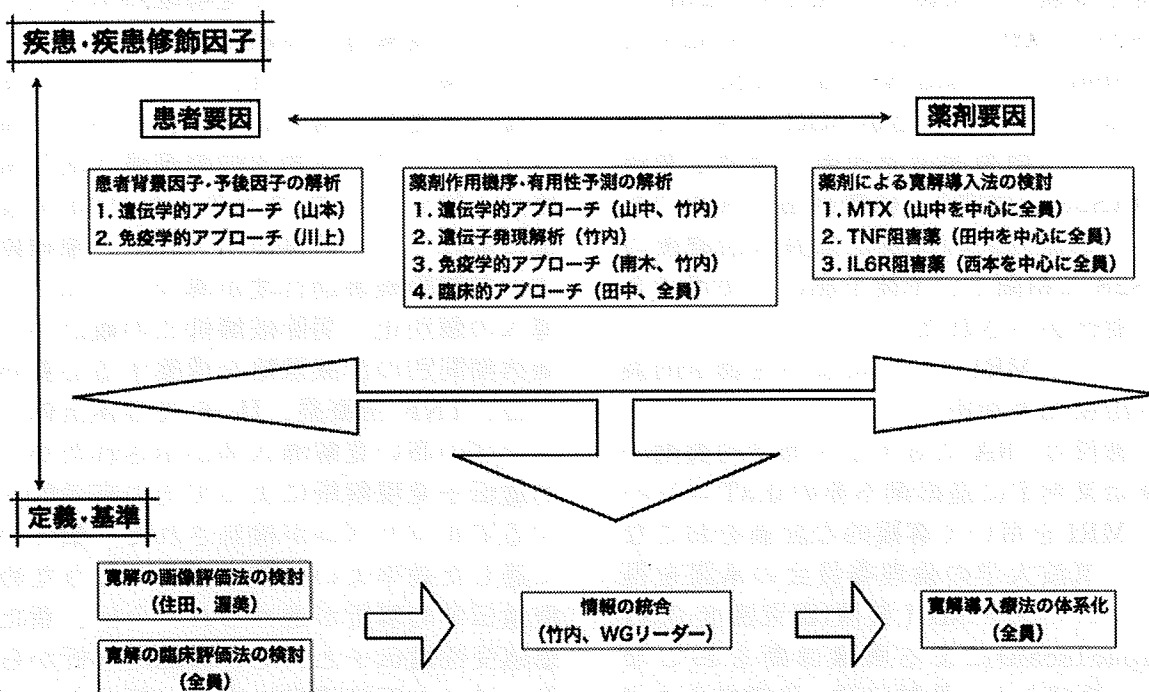
特になし

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Nishimoto N, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Azuma J, and Kishimoto T. Study of Active controlled Tocilizumab monotherapy for Rheumatoid Arthritis Patients with an Inadequate Response to Methotrexate (SATORI) : significantly reduction in disease activity and serum vascular endothelial growth factor by IL-6 receptor inhibition therapy. *Mod Rheum* 19:12-19, 2009.

関節リウマチに対する寛解導入の体系化に関する研究班



- Suzuki K, Kameda H, Amano K, Nagasawa H, Sekiguchi H, Nishi E, Ogawa H, Tsuzaka K, and Takeuchi T. Single Center Prospective Study for Efficacy and Safety of Tacrolimus in Rheumatoid Arthritis. *Rheumatology Int* 29:431-6, 2009.
- Nagasawa H, Kameda H, Sekiguchi N, Amano K, and Takeuchi T. Improvement of the HAQ score by infliximab treatment in patients with RA: its association with disease activity and joint destruction. *Mod Rheum* 19: 166-172, 2009.
- Komano Y, Harigai M, Koike R, Sugiyama H, Ogawa J, Saito K, Sekiguchi N, Inoo M, Onishi I, Ohashi H, Amamoto F, Miyata M, Kageyama G, Imaizumi K, Tokuda H, Okochi Y, Tanaka Y, Takeuchi T, and Miyasaka N. Pneumocystis pneumonia in patients

- with rheumatoid arthritis treated with infliximab: a retrospective review and case-control study of 21 patients. *Arthritis & Rheum* 61:305-12, 2009.
- Nishimoto N, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, and Azuma J. Long-term safety and efficacy of tocilizumab, an anti-interleukin(IL)-6 receptor monoclonal antibody, in monotherapy, in patients with rheumatoid arthritis (the STREAM study): evidence of safety and efficacy in a 5-year extension study. *Ann Rheum Dis* 68: 1580-84, 2009.
- Takeuchi T, Miyasaka N, Inoue K, Abe T, and Koike T. Impact of through serum level on Radiographic and Clinical Response to Infliximab plus Methotrexate in Patients with Rheumatoid Arthritis: results from the RISING Study. *Mod Rheumatology*

- 19:478-87, 2009.
7. Hashimoto J, Garnero P, van der Heijde, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Yoshikawa H, and Nishimoto N. A combination of biochemical markers of cartilages and markers of cartilage and bone turnover, radiographic image and body mass index to predict progression of joint destruction in patients with rheumatoid Arthritis treated with Disease modifying Anti-Rheumatic Drugs. *Mod Rheum* 19: 273-282, 2009.
 8. Tanino M, Matoba R, Nakamura S, Kameda H, Amano K, Okayama T, Nagasawa H, Suzuki K, Matsubara K, and Takeuchi T. Prediction of efficacy of anti-TNF biologic agent, infliximab, for rheumatoid arthritis patients using a comprehensive transcriptome analysis of white blood cells. *Biochem Biophys Research Comm* 387: 261-265, 2009.
 9. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Inoue K, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Tanaka Y, Yamanaka H, Fujii K, Freundlich B, and Suzukawa M. Post-marketing surveillance of the safety and efficacy of etanercept in Japan. *J Rheum* 36:898-906, 2009.
 10. Nagasawa H, Kameda H, Sekiguchi N, Amano K, and Takeuchi T. Normalization of physical function by infliximab in RA patients: Factors associated with normal physical function. *Clin Exp Rheum* in press.
 11. Nagasawa H, Kameda H, Sekiguchi N, Amano K, and Takeuchi T. Differences between the Health Assessment Questionnaire Disability Index (HAQ-DI) and the modified HAQ (mHAQ) score before and after infliximab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheum*, in press.
 12. Tanaka Y, Takeuchi T, Mimori T, Saito K, Nawata M, Kameda H, Nojima T, Miyasaka N, Koike T. Discontinuation of infliximab after attaining low disease activity in patients with rheumatoid arthritis, RRR (remission induction by remicade in RA) study. *Ann Rheum Dis*. In press
 13. 竹内 勤: RECONFIRM-2J 研究と RRR 研究から関節破壊抑制をみる. 分子リウマチ治療 2(4): 161-164, 2009
 14. 谷野元彦、天野宏一、竹内 勤: インフリキシマブ投与前の全血 RNA の遺伝子発現パターンからの投与後の効果予測. 分子リウマチ治療 2(4):194-197,2009
 15. 竹内 勤: 関節リウマチ-治癒を目指す治療の新時代へのアプローチ (治療パラダイムシフト) -医学のあゆみ 230(9): 727-731,2009
 16. 竹内 勤: 関節リウマチの治療 -Next Stage- 臨床のあゆみ 81 : 7-8,2009
 17. 亀田秀人、竹内 勤: エタネルセプト -わが国のエビデンス (市販後調査、JESMR 試験). リウマチ科 2009: 42(3): 257-261.
- ## 2. 学会発表
- (竹内 勤)
1. Kameda H, Kanbe K, Sato E, Ueki Y, Saito K, Nagaika S, Hidaka T, Atsumi T, Tsukano M, Kasama T, Shiozawa S, Tanaka Y, Yamanaka H, Takeuchi T. Etanercept (ETN) plus methotrexate (MTX) combination therapy resulted in a better outcome in joint damage and physical function than ETN monotherapy even in patients with active rheumatoid arthritis despite MTX treatment: 52-week results from the JESMR study. Annual European

- Congress of Rheumatology (EULAR 2008). 2009年6月、コペンハーゲン.
2. Tsutomu Takeuchi: Industry Sponsored Symposium 3. HUMIRA: for a long term and comprehensive RA Disease management-clinical Data, Radiographic Data, Functionally Data, Work Productivity Data- The 9th World Congress on Inflammation. 2009年7月、東京.
 3. Nishimura K, Kameda H, Kurasawa T, Kondo T, Okuyama A, Nishi E, Takei H, Suzuki K, Nagasawa H, Abe H, Tsuzaka K, Amano K, Takeuchi T. Influence of tocilizumab to interstitial pneumonia (IP) complicating rheumatoid arthritis patients. The 9th World Congress on Inflammation. 2009年7月、東京.
 4. Tsutomu Takeuchi: New biologics for rheumatoid arthritis in Japan: A multi-center, randomized, double-blind, controlled, dose-response study of Abatacept(BMS-188667) in Japanese active rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to Methotrexate. The 53rd Annual General Assembly and Scientific meeting of Japan College of Rheumatology, The 18th International Rheumatology symposium. Tokyo. April.2009.
 5. 竹内 勤: 関節リウマチ治療に抗 TNF α がもたらしたもの 第137回日本医学会シンポジウム 2009年12月 東京
 6. 竹内 勤: 抗リウマチ薬の現状と課題 第30回日本臨床薬理学会 シンポジウム 2009年12月 横浜
 7. 西村幸治、亀田秀人、倉沢隆彦、近藤恒夫、奥山あゆみ、西英子、武井博文、長澤逸人、天野宏一、竹内 勤. 皮膚筋炎に合併した急速進行性間質性肺炎に対し
て多剤併用療法が奏効した一例. 第20回日本リウマチ学会関東支部学術集会. 2009年12月、横浜.
 8. 竹内 勤: RA 完全寛解に向けた治療戦略 ランチョンセミナー 第37回日本臨床免疫学会総会. 2009年11月、東京.
 9. 竹内 勤: 分子標的治療-Annual Review 1- 第37回日本臨床免疫学会総会. 2009年11月、東京.
 10. 竹内 勤: 免疫難病における新しいターゲット分子と制御 シンポジウム 第37回日本臨床免疫学会総会. 2009年11月、東京.
 11. 奥山あゆみ、亀田秀人、瀬戸山由美子、鈴木美由紀、西村幸治、倉沢隆彦、近藤恒夫、西英子、武井博文、鈴木勝也、長澤逸人、竹内 勤、天野宏一. 関節リウマチ患者における infliximab の注射時反応と Fc γ receptor III 遺伝子多型との関連. 第37回日本臨床免疫学会総会. 2009年11月、東京.
 12. 近藤恒夫、鈴木勝也、亀田秀人、西村幸治、倉沢隆彦、奥山あゆみ、西英子、武井博文、長澤逸人、津坂憲政、天野宏一、竹内 勤. インフリキシマブ投与関節リウマチ症例における抗 CCP 抗体価の推移と臨床的意義. 第37回日本臨床免疫学会総会. 2009年11月、東京.
 13. 竹内 勤: より良い治療成績をめざす～ RISING STUDY の示唆するもの～ シンポジウム 第24回日本臨床リウマチ学会 2009年11月 岩手
 14. 竹内 勤: 関節リウマチの最新薬物療法 ランチョンセミナー 第82回日本整形外科学会 2009.5 福岡
 15. 竹内 勤: リウマチ治療の最前線 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会. ランチョンセミナー 2009年4月、東京.
 16. 竹内 勤: リウマチに使うくすり～最新情報～ 市民公開講座 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2009年4月、東京.

17. 亀田秀人、神戸克明、佐藤恵理、植木幸孝、斎藤和義、長岡章平、日高利彦、渥美達也、東野通志、笠間毅、塩沢俊一、田中良哉、山中寿、竹内 勤. メトトレキサートは効果不十分例においてもエタネルセプトを中止せず継続した方が良好な関節破壊の阻止と身体機能の改善が得られる (JESMR 試験 52 週の結果から). 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (シンポジウム). 2009 年 4 月、東京.
18. 倉沢隆彦、亀田秀人、西村幸治、近藤恒夫、奥山あゆみ、西英子、武井博文、鈴木勝也、長澤逸人、阿部治男、津坂憲政、天野宏一、竹内 勤. Infliximab 中止後の活動性コントロール維持における bucillamine の有用性: BuSHIDO (Bucillamine study of holding remission after infliximab drop-off) 試験. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2009 年 4 月、東京.
19. 奥山あゆみ、亀田秀人、瀬戸山由美子、鈴木美由紀、西村幸治、倉沢隆彦、近藤恒夫、西英子、武井博文、鈴木勝也、長澤逸人、阿部治男、津坂憲政、天野宏一、竹内 勤. 関節リウマチ (RA) 患者における infliximab の注射時反応と Fcγreceptor (FcγR) IIIA 遺伝子多型との関連. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2009 年 4 月、東京.
20. 津坂憲政、鈴木勝也、長澤逸人、武井博文、西英子、阿部治男、奥山あゆみ、近藤恒夫、倉沢隆彦、西村幸治、亀田秀人、天野宏一、永田雅良、竹内 勤. ステロイド剤治療とトシリズマブの有効性. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2009 年 4 月、東京.
21. 西村幸治、亀田秀人、倉沢隆彦、近藤恒夫、奥山あゆみ、西英子、武井博文、鈴木勝也、長澤逸人、阿部治男、津坂憲政、天野宏一、竹内 勤. 関節リウマチ合併間質性肺炎患者に対するトシリズマブ投与の影響. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2009 年 4 月、東京.
22. 天野宏一、長澤逸人、鈴木勝也、亀田秀人、津坂憲政、竹内 勤. 関節リウマチに対する tocilizumab の短期的有用性. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2009 年 4 月、東京.
23. 近藤恒夫、鈴木勝也、亀田秀人、西村幸治、倉沢隆彦、奥山あゆみ、西英子、武井博文、長澤逸人、阿部治男、津坂憲政、天野宏一、竹内 勤. インフリキシマブ投与 RA 症例における抗 CCP 抗体価の推移と臨床的意義. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2009 年 4 月、東京.
- F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)**
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

Ⅲ. 分 担 研 究 報 告 書

制御性 T 細胞のマスタ一遺伝子 EGR2 の遺伝子多型と関節リウマチ

研究分担者 山本一彦
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 教授
分担協力者 明前敬子、高地雄太
理化学研究所ゲノム医科学研究センター
藤尾圭志、岡村僚久
東京大学大学院アレルギーリウマチ学

研究要旨

関節リウマチ (RA) の寛解導入を目指す上で、その病態に関連した遺伝子多型情報を用いたテーラーメイド医療は重要である。今年度は、我々がマウスで新たに見出した制御性 T 細胞 (CD4+CD25-LAG3+T 細胞) の機能発現をコントロールしていると考えられるマスタ一遺伝子である EGR2 の遺伝子多型が関節リウマチ(RA)の疾患関連遺伝子であることを見出した。

A. 研究目的

関節リウマチ (RA) の寛解導入を目指す上で、疾患感受性遺伝子の違いによる病型や治療法に対する反応性、副作用などの違いをあらかじめ知って治療法を選択するという、いわゆるテーラーメイド医療は重要である。一方、マウスの免疫学で解明されつつある事実がヒトの疾患に実際に関与しているかを検証することにより、より詳細な疾患のメカニズムが明らかになることが期待される。今回は、我々がマウスで新たに見出した制御性 T 細胞 (CD4+CD25-LAG3+T 細胞) において、その機能発現をコントロールしていると考えられるマスタ一遺伝子である EGR2 の遺伝子多型が関節リウマチ (RA) の疾患関連遺伝子であるか否かを検討した。

B. 研究方法

EGR2 遺伝子の蛋白翻訳部分の遺伝子多型は 24 人の日本人 DNA を用いて検討した。遺伝子発現と一塩基多型 (SNP) の関係を公表されている HapMap データベースより検討した。この領域の 14 の SNP を選び、まず

全身性エリテマトーデス (SLE) 患者で関連解析を行い、さらに候補となる SNP について RA 患者 1,932 名と健常人コントロール 1,816 名で検討した。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノムを用いた解析を含むことから、ヒトゲノム解析・遺伝子解析に関する倫理指針に則り、倫理委員会の審査を経た上で、研究を遂行した。

C. 研究結果

EGR2 遺伝子の蛋白翻訳部分には高頻度に存在する遺伝子多型は見いだせなかった。そこで HapMap データベースを用いて、EGR2 の遺伝子発現とこの領域の SNP との関連を検討したところ、EGR2 の 5'領域の SNP と EGR2 の発現が関連することが明らかとなった。特に最も強く相関する SNP を 1 つ同定した。さらに、この領域の 14 の SNP を選び、まず SLE 患者と健常人コントロールの間で関連解析を行ったところ、2 つの SNP で関連が認められた。このうちの一つは先の発現が

強く関連した SNP であった。そこで、RA 患者 1,932 名と健常人コントロール 1,816 名で関連を検討したところ、 $P=0.0019$ の有意差で関連があることが判明した。

D. 考察

自己免疫疾患の成立や病勢に制御性 T 細胞が関与していることが推測され、多くの研究が行われている。特に Foxp3 陽性の制御性 T 細胞が注目されている。しかし、実際の RA 患者で Foxp3 陽性制御性 T 細胞が重要な働きをしていることを示す明確な証拠は明らかにされていない。一方、我々は、この細胞とは全く異なる分化、分布を示す CD4+CD25-LAG3+ の表現型を持つ制御性 T 細胞をマウスにおいて見出し、病態との関係を報告している。今回、この新規制御性 T 細胞のマスター遺伝子と考えられる EGR2 遺伝子の SNP が RA および SLE 患者で関連が認められたことは、実態のヒトの疾患の病態にこの新規制御性 T 細胞が一義的に関与していることを示している。従って、この SNP の違いと病態の関係を詳細に検討していくことで、RA の寛解導入を目指す上でのテーラーメイド医療に向けた新たな知見になると考える。

E. 結論

新しい制御性 T 細胞に関係する遺伝子多型が RA と関連することを見出した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okada Y, Yamada R, Suzuki A, Kochi Y, Shimane K, Myouzen K, Kubo M, Nakamura Y, Yamamoto K. Contribution of a haplotype in the HLA region to anti-cyclic citrullinated peptide antibody positivity in rheumatoid arthritis, independently of HLA-DRB1.

Arthritis Rheum. 30:60:3582-3590, 2009.

2. Kochi Y, Suzuki A, Yamada R, Yamamoto K. Genetics of rheumatoid arthritis: underlying evidence of ethnic differences. J Autoimmun. 32:158-62, 2009.

3. Okada Y, Yamada R, Suzuki A, Kochi Y, Shimane K, Myouzen K, Kubo M, Nakamura Y, Yamamoto K. Contribution of a haplotype in the HLA region to anti-cyclic citrullinated peptide antibody positivity in rheumatoid arthritis, independently of HLA-DRB1. Arthritis Rheum. 60:3582-90, 2009.

2. 学会発表

Myouzen K, Kochi Y, Shimane K, Suzuki A, Fujio K, Okamura T, Yamada R, Nakamura Y and Yamamoto K. Association Analysis of EGR2 Gene with SLE Susceptibility ACR 2009

H. 知的財産権の出願・登録

特になし

IL-6 阻害治療による関節リウマチ患者の寛解導入の可能性の検討に関する研究 — トシリズマブ効果予測遺伝子セットを用いたインフリキシマブの効果予測の可能性 —

研究分担者 西本憲弘 和歌山県立医科大学免疫制御学講座 教授

研究要旨

生物学的製剤は従来の抗リウマチ薬に比べ優れた治療効果を示すといえども、すべての患者に有効であるわけではない。ましてや、寛解にいたる症例は限られている。もし、長期の臨床効果を治療開始前に予測することができれば、オーダーメイドの治療が可能となり、患者の QOL をより確実に改善できるとともに、医療経済的にも大きなメリットがある。これまでに、治療開始前の患者末梢血中の遺伝子発現を、DNA マイクロアレイを用いて網羅的に解析し 24 週後の臨床的寛解ならびに IL-6 正常化を予測するのに有用な 197 分子を同定した。さらに、これらの分子は、全く異なる治療標的分子である TNF の作用を阻害するキメラ型抗 TNF 中和抗体（インフリキシマブ）の効果予測にも有用であることが可能になった。一方、TNF と IL-6 の効果の識別に有用な分子セットの選択の可能性もあり、TNF 阻害と IL-6 阻害治療の使い分けが可能になるかもしれない。これらを 1 枚のチップに搭載したカスタムチップを作成し、実用化を目指したい。

A. 研究目的

生物学的製剤は従来の抗リウマチ薬に比べ優れた治療効果を示す。しかしながら、すべての患者に有効であるわけではない。ましてや、寛解にいたる症例は限られている。もし、長期の臨床効果を治療開始前に予測することができれば、個々の患者に応じた治療薬の選択が可能となり、患者の QOL をより確実に改善できる。さらに、生物学的製剤は、値段が非常に高いことから、無効な治療を省くことにより、医療経済的にも大きなメリットがある。この目的を達成するために、昨年度の研究では、DNA マイクロアレイを用いて、治療前の関節リウマチ (RA) 患者末梢血における遺伝子発現を網羅的に解析することにより、トシリズマブの治療効果判定予測に有用な 197 分子を決定し、ヒト化抗 IL-6 受容体抗体（トシリズマブ）を用いた治療の 24 週後の臨床的寛解ならびに IL-6 正常化の予測が可能であることを明らかにした。特に、血中 IL-6 の正常化は体内での IL-6 産生そのもの

の低下、すなわち真の疾患活動性の消失を意味し、トシリズマブを少なくとも急激な再燃なく休薬できる可能性、いわゆるドラッグフリー寛解の可能性を示唆する。もし、休薬できれば、患者の精神的な負担を大きく軽減するばかりでなく、医療費をさらに大幅に減らすことができる。そこで、本年度は、トシリズマブの治療効果判定予測に用いた 197 分子を用いて、IL-6 とは全く異なる治療標的分子である TNF の作用を阻害するキメラ型抗 TNF 中和抗体（インフリキシマブ）の効果予測が可能であるか否かを検討した。

B. 研究方法

トシリズマブの第Ⅲ相 SATORI 試験から見出した治療効果判定予測 197 分子 (EULAR response criteria では 74 分子, ACR core set では 83 分子, IL-6 濃度では 67 分子) は、ヒトの 3 万個の遺伝子からデザインしたオリゴ DNA 搭載マイクロアレイ DNA チップ (AceGene®) を用いて発現を解析したもので

ある。一方、共同研究者の竹内らは、インフリキシマブ治療を行う患者の末梢血における Agilent Whole Human Genome4x44K®を用いた遺伝子発現解析を行っていたことから、まず、AceGene®のアノテーション情報に基づき、Agilent のプローブと対応付けを行った。この結果、トシリズマブの治療効果判定予測に用いた 197 分子は 203 分子の Agilent プローブに対応付けられた。AceGene®と Agilent Whole Human Genome4x44K®での遺伝子発現解析結果は、非常によく相関することが、予備実験で確認された。

次に、203Agilent プローブの発現データのみを用いて、65 例のインフリキシマブ治療患者における 14 週時点での、1) ACR50 達成 vs. ACR20 未達成、2) EULAR「Good、Moderate response」vs. 「No response」、3) CRP 0.3mg/dL 以下 vs. 0.3 mg/dL より大きい、の 3 種類の層間比較を行い識別に利用可能な分子群を設定した (training、学習)。インフリキシマブ患者群では血中 IL-6 値は未測定のため、これに近い挙動を示すと考えられる CRP 濃度を用いた。CRP は IL-6 依存性に産生されるため、IL-6 が正常化すれば CRP も陰性化する。

判別遺伝子の抽出には、マンホイットニー U 検定を用いた。さらに 55 例の新たな症例において、抽出された分子の遺伝子発現量を用いて効果予測を行った (test)。

(倫理面への配慮)

臨床試験は GCP に準拠して行った。患者のインフォームドコンセントを得た上で検査を行った。患者情報に関しては、治療施設・氏名・生年月日・住所などの情報を一切削除し、匿名化の下に行った。

C. 研究結果

203 分子の中から、上記 1) ~3) の層間比較にて、それぞれ 13 分子、15 分子、20 分子が最小数で最大のパフォーマンスを示す分子として抽出された。次に効果予測 (test) を

行ったを行ったところ、正確度：61.8%，55.4%，64.3%で、陽性的中率：55.2%，81.8%，66.0%であり、陰性的中率：69.2%，17.4%，55.6%であった。尚、Agilent Whole Human Genome4x44K®の 4 万分子を用いた解析から抽出した分子での識別能は、正確度：50.9%，62.5%，62.5%で、陽性的中率：45.2%，82.1%，71.9%であり、陰性的中率：58.3%，17.6%，50.0%であった。しかも 203 分子から抽出した分子と重複する分子はなかった。

D. 考察

トシリズマブの効果予測に用いた分子群を用いて、インフリキシマブの効果予測が可能であることがわかった。このことは、TNF 阻害治療と IL-6 阻害治療の効果発現メカニズムに共通性があることを示唆する。すなわち TNF 阻害剤による治療効果の発現には、TNF によって誘導される IL-6 産生抑制を介しているのかもしれない。

一方、4 万分子を用いて行った解析と今回 203 分子を用いた解析との間で、識別に有用な分子に共通するものがなかったことから、それぞれの分子は異なる生物学的現象をとらえている可能性がある。また、これらの違いを利用することで、TNF 阻害と IL-6 阻害治療の使い分けが可能になるかもしれない。

今後、トシリズマブの治療効果を予測する 197 分子に加えて、インフリキシマブの効果予測する分子を、1 枚のチップに搭載したカスタムチップを作成し、実用化の検討にやりたい。

E. 結論

治療前の遺伝子発現プロファイルにより臨床効果の予測が可能である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nishimoto N, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Azuma J, Kishimoto T. Study of active controlled tocilizumab monotherapy for rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate (SATORI): significant reduction in disease activity and serum vascular endothelial growth factor by IL-6 receptor inhibition therapy. *Mod Rheumatol*.19:12-19, 2009
2. Nishimoto N, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Azuma J. Long-term safety and efficacy of tocilizumab, an anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody, in monotherapy, in patients with rheumatoid arthritis (the STREAM study): evidence of safety and efficacy in a 5-year extension study. *Ann Rheum Dis*. 68:1580-1584, 2009.
3. Mima T, Nishimoto N. Clinical value of blocking IL-6 receptor. *Curr Opin Rheumatol* 21:224-30, 2009
4. Hashimoto J, Garnero P, van der Heijde D, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Yoshikawa H, Nishimoto N. A Combination of Biochemical Markers of Cartilage and Bone Turnover, Radiographic Damage and Body Mass Index to Predict Progression of Joint Destruction in Patients with Rheumatoid Arthritis treated with Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs. *Mod Rheumatol* 19:273-82, 2009.
5. Nishimoto N, Ito K, Takagi N. Safety and efficacy profiles of tocilizumab monotherapy in Japanese patients with rheumatoid arthritis – meta-analysis of 6 initial trials and 5 long-term extensions -. *Mod Rheumatol* (in press).

6. Nishimoto N. Interleukin-6 as a therapeutic target in candidate inflammatory diseases. *Clin Pharmacol Ther* (in press).

2. 学会発表

1. 西本憲弘：RA の関節破壊における IL-6 の重要性. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会シンポジウムサテライトシンポジウム サイトカインネットワークと関節破壊—何を指すべきか—. 東京. 2009.4.23-26
2. 西本憲弘：関節リウマチに対する IL-6 阻害治療の効果発現メカニズムと効果予測. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会サテライトシンポジウム. 東京. 2009.4.24-26
3. 美馬 亨, 西本憲弘：トシリズマブの TNF 阻害剤抵抗性関節リウマチに対する第Ⅲ相試験—有効性と安全性ならびに IL-6 阻害による IL-17 の変化. 第 53 回日本リウマチ学会. 東京. 2009.4.23-26
4. 西本憲弘, 美馬 亨, 川田祐一：RA 患者に対するトシリズマブの治療効果は DNA チップを用いて予測可能である. 第 53 回日本リウマチ学会ワークショップトシリズマブ. 東京. 2009.4.25
5. 橋本 淳, 平尾 眞, 坪井秀規, 南平昭豪, 中原英子, 吉雄直子, 美馬 亨, 吉川秀樹, 西本憲弘：抗 IL-6 使用下での周術期の問題点と対策. 第 53 回日本リウマチ学会学術集会サテライトシンポジウム. 東京. 2009.4.23-26
6. 平尾 眞, 南平昭豪, 小瀬弘樹, 坪井秀規, 吉川秀樹, 西本憲弘, 橋本 淳：関節リウマチにおけるトシリズマブ治療の酸化ストレスへの影響. 第 53 回日本リウマチ学会ワークショップトシリズマブ. 東京. 2009.4.24
7. 都留智巳, 美馬 亨, 洲崎みどり, 中島 衡, 寺尾公男, 寛 高裕, 西本憲弘：トシリズマブによる IL-6 阻害治療中の関