

200936198A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

再発性多発軟骨炎の診断と治療体系の確立

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 鈴木 登

平成 22 (2010) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告	1
研究代表者 鈴木 登	
II. 分担研究報告	
1. 再発性多発軟骨炎における II 型コラーゲン特異的細胞障害性 T 細胞 関与の可能性に向けた CTL エピトープの予測解析	
聖マリアンナ医科大学 医学部 リウマチ・膠原病・アレルギー内科学 尾崎 承一	4
2. 再発性多発性軟骨炎のアンケート調査	
聖マリアンナ医科大学 医学部 予防医学 須賀 万智	7
3. 再発性多発軟骨炎の診断と治療体系の確立に関する研究： RP に対する薬物治療の現状	
聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 遊道 和雄	11
4. 再発性多発軟骨炎患者の生体試料バンク整備と疾患特異的 バイオマーカーの解析	
聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 山野 嘉久	14
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	19
IV. 研究成果の刊行物・別刷	20
V. 平成 21 年度班員名簿	37
VI. 再発性多発軟骨炎の診断・治療指針（案）2009 年版	38

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

総括研究報告書

再発性多発軟骨炎の診断と治療体系の確立に関する研究

研究代表者 鈴木 登 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター, 免疫学・病害動物学

研究要旨:再発性多発軟骨炎は多彩な病態を呈する原因不明の稀な難治性炎症性疾患で鼻や耳介を中心に軟骨の炎症が持続する。本邦における疫学調査や病態解明の研究は未だ不十分な為、本邦における RP の臨床像および治療の実態を明らかにするため全国疫学調査を実施した。

その結果、平均発症年齢は 52.7 歳、男女の罹患率はほぼ同等であった。血中では軟骨組織構成成分に対する自己抗体や種々のケモカインの増加を認め、組織学的にも軟骨組織周囲への炎症細胞浸潤を認めた。初発症状として約 6 割に耳介軟骨炎が見られ外耳介の疼痛・腫脹・発赤を認めた。気道病変(気管軟骨炎、喉頭軟骨炎)はほぼ半数の患者に認め、咳嗽、喘鳴、呼吸困難を呈し予後を左右した。

経口ステロイドが治療の中心だが、気道病変を持つ場合には免疫抑制薬の使用を考慮する必要がある事、軽症例や関節炎に対しては非ステロイド系抗炎症薬を用いられていた。難治性症例ではステロイドパルスが適応されていた。ステロイドや免疫抑制薬に抵抗性症例で生命予後に影響がある場合は保険適応外で、かつ 50-60%前後の奏効率ではあるものの生物学的製剤(レミケード、アクテムラ)が有効な症例があった。

今後、多数例で長期の観察を行い、病態解明と生物学的製剤を用いた治療指針の策定を行う必要がある。

研究分担者:

岡 寛 聖マリアンナ医科大学
難病治療研究センター

遊道和雄 聖マリアンナ医科大学
難病治療研究センター

山野嘉久 聖マリアンナ医科大学
難病治療研究センター

清水 潤 聖マリアンナ医科大学
難病治療研究センター

須賀万智 聖マリアンナ医科大学予防医学

尾崎承一 聖マリアンナ医科大学
リウマチ・膠原病・アレルギー内科学

宮澤輝臣 聖マリアンナ医科大学
呼吸器・感染症内科

肥塚 泉 聖マリアンナ医科大学耳鼻咽喉科学

中島康雄 聖マリアンナ医科大学放射線医学

A. 研究目的

再発性多発軟骨炎 (relapsing polychondritis: RP) は、原因不明の稀な難治性疾患であるが、本邦における疫学調査や病態解明の研究は未だ不十分である。我々は、本邦における RP の臨床像および治療の実態を明らかにするため全国疫学調査を実施した。

B. 研究方法

全国基幹医療機関・施設の RP 診療担当科(耳鼻咽喉科、呼吸器科、リウマチ科等)の医師を対象に疫学調査(記入アンケート方式)を行い、RP 臨床像と治療の実態を解析した。

(倫理面への配慮)

・疫学調査の臨床試験について本学の生命倫理委員会に申請し臨床試験部会(平成 21 年 8 月 7 日審議)にて審議し承認された(承認番号: 第 1580 号)。

・臨床検体採取の臨床試験について本学の生命倫理委員会に申請し臨床試験部会(平成 21 年 10 月 14 日審議)にて審議し条件付き承認された(承認番号: 第 1625 号)。

C. 研究結果

一次調査票 1,894 通の送付に対して 856 通の回答があり、そのうち RP 症例「治療経験有り」の回答は 240 通、「経験なし」の回答は 616 通であった。次に二次調査票 395 通を送付し、121 施設から回答があり 200 症例の臨床情報を得た。RP 200 例の解析では、平均発症年齢 52.9 歳(3~82 歳:男性 105 例、女性 95 例)、初発症状として 108 例(54.0 %)に耳介軟骨炎がみられた。気道病変(気管軟骨炎、喉頭軟骨炎)122 例(61.0 %)、骨髄異形成症候群 4 例(4.3%)、白血病 1 例も観察された。

200 例中 186 例(93.0 %)にステロイド治療歴があり、免疫抑制剤治療ならびに生物学的製剤は気管軟骨炎を伴う重症例で用いられる傾向にあった。気道病変に対しては 41 例(20.5%)に気管切開、20 例(10.0 %)に気管内ステント挿入、11 例(5.5 %)に二相式気道陽圧療法が施行されていた。

免疫抑制剤では、メソトレキサート、シクロフォスファミド、シクロスポリンの 3 剤は有用性が示唆された。生物学的製剤による治療では、インフリキシマブ 8 例中 4 例が有効であった。気道病変を来した 122 例のほぼ全例にステロイド治療歴があり、ステロイド単独治療例 12 例全例に気道の処置が行われていたため、ステロイドのみでは、気道病変を防止できないことが明らかになった。

RP 200 例の臨床経過は、治癒・改善が 72 %、不変 13 %、悪化 4 %、死亡が 9 %であり、RP 関連死は呼吸不全(5 例)、感染症(4 例)であった。

4. 評価

1) 達成度について

初年度において本邦の推定患者(400~500 人)の約半数の疫学データを集積することができた。また、60%を占める気道病変に対する治療における免疫抑制剤の併用効果が示唆された。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

RP の全国疫学調査は、本邦を含めてアジア圏で

は初めての試みであり、RP の予後、治療反応性の方向性が示された最新の調査である。

3) 今後の展望について

今後は神奈川県川崎市、静岡県浜松市、島根県出雲市において疫学調査を再度行い、本邦における有病率を確定する。また、患者血清におけるサイトカインレパートリーの解析より、RP に有効な治療法を選択していく。

疫学調査における臨床症状と治療反応性を解析することにより、本邦の RP 治療のガイドライン作成を予定している。

4) 研究内容の効率性について

将来、患者検体のバンク化を計り、研究の効率性向上を計ることを予定している。

5. 結論

- ① RP は、全年齢層に分布し、50~60 歳台が最多であったが、男女差はなかった。
- ② 気道病変は、61%に存在し、30%以上に気管切開、気管内ステント等の処置が行われていた。
- ③ ステロイド治療は 93%に行われていたが、ステロイドのみでは、気道病変を防止できなかった。
- ④ 免疫抑制剤として、メソトレキサート、シクロフォスファミド、シクロスポリンの 3 剤有用性が示唆された。
- ⑤ 臨床経過は、治癒・改善が 72 %であったが、死亡も 9%あり、呼吸不全と肺感染症が原因であった。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表 3 件

原著論文による発表 0 件

それ以外(レビュー等)の発表 1 件

そのうち主なもの

論文発表

鈴木登.再発性多発軟骨炎.今日の治療指針 2011.

医学書院 印刷中.

学会発表

岡 寛、遊道和雄、山野嘉久、鈴木登、尾崎承一、
須賀万智.

本邦における再発性多発軟骨炎の疫学調査研究
102例の報告、第20回日本リウマチ学会関東支部
学術集会、2009年12月.

鈴木登、山野嘉久、岡 寛、遊道和雄.

-再発性多発性軟骨炎-治療研究中間報告会、
2009年9月27日

鈴木登、山野嘉久、岡 寛、遊道和雄.、永松勝利
再発性多発軟骨炎(RP)神奈川公開シンポジウム、
2009年11月15日

2)海外

口頭発表 0件

原著論文による発表 1件

それ以外(レビュー等)の発表 0件

そのうち主なもの

論文発表

Oka Hiroshi, Yudo Kazuo, Yamano Yoshihisa,
Shimizu Jun, Suzuki Noboru

Nationwide Epidemiologic Study of Relapsing
Polychondritis in Japan; results of 240 cases.
(Submitted for publication)

学会発表 なし

7. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む。)

- 1) 特許取得 出願準備中
- 2) 実用新案登録 なし
- 3) その他

II. 分担研究報告

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

再発性多発軟骨炎における II 型コラーゲン特異的細胞障害性 T 細胞関与
の可能性に向けた CTL エピトープの予測解析

分担研究者 尾崎承一（聖マリアンナ医科大学
リウマチ膠原病アレルギー内科教授）

研究要旨：再発性多発軟骨炎（relapsing polychondritis、以下 RP）は、原因不明で稀な難治性疾患であり、重症例では時に致命的となる。現在までの報告では標的臓器である軟骨に存在する II 型 collagen に対する抗体の存在報告はあるが、細胞障害性 T 細胞 (CTL) の関与を示す報告はない。この CTL の関与の可能性を検討する為に、日本人における代表的な組織主要適合因子である HLA-A2、HLA-A24 における CTL エピトープの予測検索をおこなった。この予測検索の結果 HLA-A24 においては、HLA との十分な結合力をもつ CTL エピトープは存在しなかったものの、HLA-A2 では、Type II collagen (12-20)、LLTLLVAAV および Type II collagen (1411-1419)、LLIQGSNDV の 2 つペプチドモチーフが発見された。今後これらのペプチドモチーフを人工合成し、ELISPOT などによる反応が、HLA-A2 陽性 RP 患者でのスクリーニング検索で有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

再発性多発軟骨炎（relapsing polychondritis、以下 RP）は、原因不明で稀な難治性疾患であり、重症例では時に致命的となる。その病態像として、時に抗 Type II collagen 抗体の存在も指摘されているが、Kraus らの報告 (Arthritis & Rheumatism, 48: 2942, 2003) では、治療経過に平行して、Th 1 サイトカイン (IFN- γ 、IL-12, IL-2) が血清レベルで変化しているとした報告を考慮すると、Th2 を主体とした抗体介在性の病態機序よりも、T 細胞を中心とした病態生理を検索する必要があると考えられる。細胞障害性 T

細胞 (CTL) は、CD4T 細胞とともに、Th 1 の主体をなす T 細胞である。一方、現在では Bioinformatics の発達により、これら CTL のエピトープの候補をよそおく解析することが可能となっている。今回我々は、ヒト Type II collagen に対して、日本人における代表的な主要組織適合因子である HLA-A24 と HLA-A2 に関して、Bioinformatics の手法を用いて、Type II collagen の構造中に、有力な CTL エピトープの候補が存在するかどうかを検討した。

B. 研究方法

検索時に使用するヒト Type II collagen のアミノ酸配列は、Cheah K. らの報告(PNAS 82, 2555, 1985)に基づいたアミノ酸配列 (COL2A1, 1487 AA) を使用した。また、予測解析計算は、米国国立衛生研究所の Bioinformatics and Molecular Analysis Section が公開している HLA Peptide Binding Predictions を使用した。

C. 研究結果

表 1 に予測解析結果を示す。HLA-A2 拘束性の代表的な CTL エピトープである HIV-1 p17 Gag77-85 epitope, SLYNTVATL (Score157. 227) と比較した場合、HLA-A24 拘束性 CTL エピトープにおいては有力な CTL エピトープになりうるペプチドモチーフの存在予測は出来なかった。しかし、HLA-A2 拘束性 CTL エピトープについては、COL2A1 (12-20) の LLTLLVAAV (Score 271. 948) および、COL2A1 (1411-1419) の LLIQGSNDV (Score 118. 23. 8) が SLYNTVATL とほぼ同等あるいはそれ以上の結合性を予測出来る結果を得た。

D. 考察

RP は、原因不明で稀な難治性疾患である。組織学的には診断に特徴的な所見はみられないものの、軟骨周囲には多くのリンパ球浸潤が認められる。また、血清サイトカインも Th1 パターンを示すこと

から、T 細胞がその病態形成において大きく関わっていることが推察される。我々は、Th1 細胞の 1 つである CTL の関与の可能性を検索する最初的手段として今回の解析をおこなった。HLA-A24 では有力な CTL エピトープの候補を呈示することは出来なかったが、HLA-A2 では、2 つの有力な CTL エピトープとなりうる候補を見つけ出した。このエピトープに CTL エピトープとしての抗原性を持ちうるかどうかを HLA-A2 トランスジェニックマウスにおいて確認後、ヒト末梢血を用いた ELISPOT にてさらにヒトでの抗原性を示すことが出来るかどうかを今後の重要な課題となる。

E. 結論

ヒト Type II collagen 蛋白における HLA-A24 および HLA-A2 拘束性 CTL エピトープの予測解析をおこない、HLA-A2 において 2 つの CTL エピトープ候補となる配列を見いだした。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 ヒトType II collagenにおけるHLA-A2, A24拘束性CTLエピトープの予測解析

1) HLA-A2

Rank	Start Position	Subsequence Residue Listing	Score (Estimate of Half Time of Disassociation of a Molecule Containing This Sequence)
1	12	LLTLLVAAV	271.948
2	1411	LLIQGSNDV	118.238
3	11	VLLTLLVAA	71.872
4	3	RLGAPQTLV	69.552
5	9	TLVLLTLLV	69.552
6	1365	NLAPNTANV	69.552
7	1373	VQMTFLRLL	23.814
8	1399	YLDEAAGNL	20.951
9	1323	CVYPNPANV	19.475
10	15	LLVA AVLRC	19.425

2) HLA-A24

1	1358	HFSYGDDNL	20.000
2	989	RGERGF PGL	14.400
3	620	KGLPGAPGL	14.400
4	707	RGSPGAQGL	11.520
5	68	ICEDVKDCL	10.080
6	275	RGFPGTPGL	9.600
7	1133	RGFTGLQGL	9.600
8	515	RGFPGQDGL	9.600
9	1130	KGHRGFTGL	9.600
10	1237	QYMRADQAA	9.000

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
再発性多発性軟骨炎の診断と治療体系の確立
分担研究報告書

再発性多発性軟骨炎のアンケート調査

研究分担者 須賀 万智（聖マリアンナ医科大学予防医学教室・准教授）

研究要旨：再発性多発性軟骨炎（RP）の臨床像と診療の実態を明らかにすることを目的として、RP 診療に携わる専門医療機関を対象としたアンケート調査を実施した。本稿では、アンケート調査の計画・設計について説明した。

A. 研究目的

再発性多発性軟骨炎（relapsing polychondritis; RP）は軟骨組織の炎症・破壊を特徴とする原因不明の慢性疾患である。効果的な治療法を確立するためには、患者の分布と臨床像を理解すると共に、診療の実態を把握することが重要である。しかし、RP に関する疫学調査は、海外ではいくつか報告されているが、国内ではこれまで実施されていない[1,2]。日本における RP の臨床像と診療の実態を明らかにすることを目的として、本研究では、RP 診療に携わる専門医療機関を対象としたアンケート調査を実施した。本稿では、アンケート調査の計画・設計について説明した。

B. 研究方法

RP の臨床像と診療の実態を調べるアンケート調査を計画・設計した。具体的には、1) 属性、2) 症状・検査、3) 治療に注目し、これら情報を効率的に収集しうる調査対象と調査方法を検討した。

C. 研究結果

アンケート調査を計画・設計するうえで、日本の RP 患者の分布を推測しうるデータが存在しないため、調査対象は特定の地域に限定せず、RP 患者が受診する可能性がある専門医療機関すべてとした。調査方法は自記式郵送法による 2 段階調査とした。す

なわち、第 1 段階（1 次調査）で RP 患者の診療経験をたずね、調査時点で受診患者が存在すると回答した場合、第 2 段階（2 次調査）で、その詳細をたずねる。RP 患者は稀少であるため、調査票の回収率を上げて取りこぼしをできるかぎり減らすことが肝要であり、このような 2 段階調査が望ましいと判断した。

各調査の調査票を別紙に示した。

1 次調査は、受診患者を網羅的に把握しうるよう、質問数を絞り込み、往復はがきで送付とした。問 2 で性年齢別人数、問 3 で受診先（診療科）を尋ねる。

2 次調査は、1 次調査から把握された受診患者について詳細な情報を収集するもので、封書で送付とした。前半部分で、発症状況（②～③）、病変部位（④）、検査（⑤～⑦）、後半部分で、治療（⑧）、合併症（⑨）、予後（⑩）を尋ねる。治療については、参考まで、方法別に有効性を主観的に評価する欄を設けた。

D. 考察

RP の臨床像と診療の実態を調べるアンケート調査を実施するにあたり、調査対象と調査方法をどのように設定したかを説明した。このアンケート調査から、RP 患者がどこに所在するか、受診患者がどのような臨床像を呈して、どのような検査と治療を受けているかが明らかになる。調査結果は

日本の RP を理解するための基礎資料として有用な情報となるだろう。

ただし、このアンケート調査には、以下のような限界がある。

第 1 に、1 次調査で調査票を返送しない機関は受診患者がゼロなのか、調査協力が得られないのかを判断できない。このアンケート調査から有病率を算出することは困難である。

第 2 に、2 次調査で収集されるのは医師の記憶やカルテ情報に基づく情報であり、想起バイアスが生じうる。

第 3 に、2 次調査で収集されるのは受診患者の調査時点の情報であり、さらに追跡した場合には、追加（症状、検査、治療、合併症）や変更（転帰）が生じうる。

結果の解釈に注意すると共に、必要と目的に応じてさらに詳細な調査を追加することが検討される。とくに治療の有効性の評価は医師の主観で、明確な基準に基づくものでない。治療効果を比較検討するためには、評価基準の確立と、それに基づく臨床試験の実施が求められる。

E. 参考文献

[1] Gergely P Jr, Poór G.

Relapsing polychondritis. Best Pract Res Clin Rheumatol 2004; 18: 723-738.

[2] Rapini RP, Warner NB.

Relapsing polychondritis. Clin Dermatol 2006; 24: 482-485.

F. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表 なし

G. 知的所有権の取得など

1. 特許許可 なし

2. 実用新案登録 なし

【1次調査 調査票】

(Q1) これまでに再発性多発軟骨炎(RP)患者を診察・治療されたことがありますか？

ない ・ ある () 人

(Q2) いま現在、先生が診察されている患者の中に RP 患者はいますか？

いない ・ いる () 人

「いる」と答えた方は下の表の該当欄に人数を記入して下さい

~19歳, 20~30歳代, 40~50歳代, 60~70歳代, 80歳以上

男性 () () () () ()

女性 () () () () ()

(Q3) おもなご専門は？

耳鼻科/内科/整形外科/皮膚科/その他 ()

(Q4) Q2でいま現在 RP 患者を診察されていると答えた先生には日本の RP の現状を明らかにする為に症状や経過等を教えて頂きたく二次調査への参加協力をお願いいたします。調査票の送付先をご記入ください。

医療機関名 ()

住所 ()

氏名 ()

電話 ()

E-mail () @

【2次調査 調査票】

再発性多発性軟骨炎 (RP) のアンケート調査票

No.
県名:

※ ④～⑧については、全経過を通じて該当する項目の全てにチェックをお願いします。

① 発症時期 (西暦) _____ 年 _____ 月 _____ 日頃

最終診察日 (西暦) _____ 年 _____ 月 _____ 日

② 発症年齢と性別 満 _____ 歳 ・ 男性 / 女性

③ 初発症状 耳介軟骨炎 / その他 (_____)

④ 臨床症状 軟骨炎 (耳: 両側 / 左 / 右) [鼻: 鞍鼻 / 鼻中隔湾曲 / その他 (_____)]

蝸牛・前庭神経障害 [神経性感音性難聴 / 耳鳴 / めまい / その他 (_____)]

非びらん性関節炎 (血清反応陰性 / 血清反応陽性 / 不明)

[部位: 手指 / 足趾 / その他 (_____)]

眼病変 [結膜炎 / 上強膜炎 / ぶどう膜炎 / その他 (_____)]

気道軟骨炎 (気管・気管支 / 喉頭軟骨炎)

皮膚病変 (有 (_____) / 無)

心血管系病変 [大動脈瘤 / AR / その他 (_____)]

中枢神経障害 [有 (_____) / 無]

腎障害 [有 (_____) / 無]

⑤ 画像所見 有 [3D-CT MRI 単純X-P その他 (_____)] / 無

⑥ 病理所見 有 (病理標本の採取部位: _____) [軟骨染色性変化 / 軟骨の分裂 /

単核球の浸潤 / その他 (_____)]

無 / 不明

→裏面へつづく

⑦ 検査所見 有 [CRP陽性 / 赤沈亢進 / フェリチン高値 / MMP-3高値 / 抗コラーゲンII型抗体陽性

呼吸機能検査 (_____) / その他 (_____)] / 無 / 不明

⑧ 治療 非ステロイド系抗炎症剤

ステロイド (経口 / 静注 / バルス)

ミノマイシン

免疫抑制剤 [MTX 有効性: 有 / 無

エンドキサン 有効性: 有 / 無

シクロスポリン 有効性: 有 / 無

プログラフ 有効性: 有 / 無

イムラン 有効性: 有 / 無

プレディニン 有効性: 有 / 無

その他 (_____) 有効性: 有 / 無]

抗けいれん療法 [インフリキシマブ 投与量: 3mg/kg 有効性: 有 / 無

エタネルセプト 投与量: 25mg/週 / 50mg/週 有効性: 有 / 無

アダリムマブ 投与量: 40mg/回 / 80mg/回 有効性: 有 / 無

トシリズマブ 投与量: 8mg/kg 有効性: 有 / 無]

その他の治療 [気管切開 / BIPAP (二相式気道陽圧療法) / 気管内ステント 有効性: 有 / 無 / その他 (_____)]

⑨ 合併症 有 (_____) / 無 / 不明

⑩ 予後 治癒 / 改善 / 不変 / 悪化

死亡 [死亡原因: 呼吸障害 / 感染症 / 心疾患 / その他 (_____)]

以上

研究要旨: 再発性多発軟骨炎 (relapsing polychondritis、以下RP) は、原因不明で稀な難治性疾患である。国内外における疫学情報や病態研究は不十分であり、かつ診断・治療のための明確な指針も作成されていない。その為、認知度が低く診断が見過ごされているケースも多く、気道軟骨病変などの臓器病変を伴う患者の予後は極めて不良なため、診断・治療法の確立が急務である。

我々は平成 21 年度本研究事業[課題名: 再発性多発軟骨炎の診断と治療体系の確立]において、本邦で初めての全国医療機関を対象とした RP に対する患者実態・疫学調査(239 症例)を行ない、患者実態(初発年齢、性差、臨床像、予後)ならびに、治療状況の把握に加えて、免疫抑制剤や生物学的製剤等の治療薬の有効性に関する新たな知見を得ることができた。本報告書では、RP 治療(主に薬物療法)の現状と、その臨床成績について調査分析結果を報告する。

A. 研究目的

再発性多発軟骨炎(relapsing polychondritis: RP)は、原因不明の稀な難治性疾患であるが、本邦における疫学調査や病態解明の研究は未だ不十分である。我々は、本邦における RP の臨床像および治療の実態を明らかにするため全国疫学調査を実施した。

B. 研究方法

1) 疫学調査の対象基準:

本疫学調査の対象は、これまでに学術誌等に報告を行ってきた医療機関、全国の基幹医療機関における当該疾患の診療担当科(耳鼻咽喉科、呼吸器科、リウマチ科等)の医師に疫学実態調査一次アンケート票を送り、疫学調査に同意をした医療機関・施設ならびに、本症患者支援の会の協力を得て、患者支援の会を通じて当該疫学調査に同意をした医療機関・施設とした。同意を得られた医療機関に対して、有病率、臨床像、治療の実態ならびに転機に関する情報を集積していくための疫学調査二次アンケート票を送付した。

2) アンケート票による疫学調査から治療状況の解析:

RP の患者実態(初発年齢、性差、臨床像、予後)、症状ならびに、治療状況の把握のためのアンケート票(研究分担者須賀の分担報告書参照)から、治療の実態について解析した。

(倫理面への配慮)

本学の生命倫理委員会臨床試験部会において、疫学調査の臨床試験については平成 21 年 8 月 7 日(承認番号: 第 1580 号)、臨床検体採取の臨床試験については平成 21 年 10 月 14 日(承認番号: 第 1625 号)に承認された。

提供された臨床情報は、連結不可能匿名化の方法によって整理番号が付与される。研究実施者は匿名化(番号化)された臨床情報のみを受け取るため、患者を特定できない。また、いかなる研究成果の公表においても個人名およびそれを想起させることのないように留意する。疫学調査のための臨床情報の取得に当たっては、研究担当者からアンケート対象医師に対して、本研究の目的、プライバシーに関する遵守事項を十分説明する。

C. 研究結果

全国基幹医療機関の RP 診療担当科(耳鼻咽喉科、

呼吸器科、リウマチ科等)の医師を対象に疫学調査(記入アンケート方式)を行い、RP臨床像と治療の実態を解析したところ、一次調査票1,894通の送付に対して856通の回答があり、そのうちRP症例「治療経験有り」は240通、「経験なし」は616通であった。次に二次調査票395通を送付し、121施設から回答があり239症例の臨床情報を得た。

薬物療法の現状:

1) 239例中219例(91.6%)にステロイド治療歴があった。気道病変を来した119例の解析では、ステロイド単独治療群12例全例に気道の処置が行われており、ステロイドのみでは、気道病変を防止できないことが示唆された。

2) 免疫抑制剤治療ならびに生物学的製剤は気管軟骨炎を伴う重症例で用いられていた。免疫抑制剤の中ではエンドキサン、メトトレキサート、シクロスポリンAの有効性が約60~75%と他の薬剤に比べ高いことが明らかとなり、今後の基礎的検討と臨床試験を経て、治療薬選択基準を策定していける可能性が示唆された。

3) ステロイドならびに免疫抑制剤治療に対する抵抗例や難治症例には生物学的製剤が用いられる傾向にあり、約50~70%の有効性を示した。

D. 評価

1) 達成度について

本研究において、本邦で初めての全国医療機関を対象としたRPに対する患者実態・疫学調査(239症例)を行ない、患者実態(初発年齢、性差、臨床像、予後)に加えて、治療状況の把握に加えて、免疫抑制剤や生物学的製剤等の治療薬の有効性に関する新たな知見を得ることができた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

RPは原因不明で稀な難治性疾患である。国内外における疫学情報や病態研究は不十分であり、かつ診断・治療のための明確な指針も作成されていない。その為、認知度が低く診断が見過されているケースも多く、気道軟骨病変などの臓器病変を伴う患者の予後は極めて不良なため、診断・治療法の確立が急務である。本研究成果は、本邦にとどまらず国際的にもRPの病因・病態解明ならびに医療向上に貢献するものであり、さらに研究を広く深く掘り下げる意義を示すものと考えられる。

3) 今後の展望について

本研究を通じて、RPの診療と研究に関するネットワークを全国の医療機関や研究機関と形成して共同研究を加速させることを計画している。その先端的基礎、臨床・治療研究の成果を逐次公表し、かつ診断・治療指針を作成・公開していくことによって全国における本疾患の関心を高め、早期診断と適切な治療が推進されることが期待される。

4) 研究内容の効率性について

i) データベース作成: 診断と治療の指針形成に向けて臨床データ(臨床的重症度、合併症、治療内容、血液・生化学検査結果、画像診断情報など)を集積し、データベースを作成する。

ii) 医療ネットワークの形成: 正確に患者ならびに治療実態を把握するためには多施設との連携が重要であることから、本研究を通して医療ネットワーク作りを進める。難病患者連絡会および県・市の健康福祉局とも連携して推進する。さらに、ネットワークを通じて患者紹介等の連携が行われた診療機関・主治医へデータベース化した情報をフィードバックして相互的なネットワーク形成に努め、患者実態の正確な把握を通して診断と治療の指針形成につなげていく

E. 結論

- ① ステロイド治療は 93%に行われていた。ステロイドのみで治療された症例は全例気道病変が進行して気管切開やステント挿入術が行われており、ステロイドに加えて早期から免疫抑制剤等の併用療法が必要である事が示唆された。
- ② 免疫抑制剤として、メソレキサート、シクロフォスファミド、シクロスポリンの 3 剤有用性が示唆された。
- ③ ステロイドまたは免疫抑制剤治療抵抗例や難治症例には生物学的製剤が用いられる傾向にあり、約 50~70%の有効性を示した。

口頭発表 0 件
 原著論文による発表 0 件
 それ以外(レビュー等)の発表 0 件
 そのうち主なもの
 論文発表 なし
 学会発表 なし

7. 知的所有権の出願・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

F. 研究発表

1)国内

口頭発表 3 件
 原著論文による発表 1 件
 それ以外(レビュー等)の発表 0 件
 そのうち主なもの

論文発表

Oka Hiroshi, Yudoh Kazuo, Yamano Yoshihisa,
 Shimizu Jun, Suzuki Noboru
 Nationwide Epidemiologic Study of Relapsing
 Polychondritis in Japan; results of 240 cases.
 (Submitted for publication)

学会発表

岡 寛、遊道和雄、山野嘉久、鈴木登、尾崎承一、
 須賀万智.

本邦における再発性多発軟骨炎の疫学調査研究
 102 例の報告、第 20 回日本リウマチ学会関東支部
 学術集会、2009 年 12 月.

鈴木登、山野嘉久、岡 寛、遊道和雄.
 -再発性多発軟骨炎-治療研究中間報告会、
 2009 年 9 月 27 日

2)海外

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

再発性多発軟骨炎患者の生体試料バンク整備と
疾患特異的バイオマーカーの解析

分担研究者 山野嘉久（聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター准教授）

研究要旨：再発性多発軟骨炎（relapsing polychondritis、以下 RP）は、原因不明で稀な難治性疾患であり、重症例では時に致命的となる。RP 患者の診療において、診断マーカー・疾患活動性や治療効果の判定指標マーカー・治療のための標的分子などを解明することは、RP 患者の診療を向上する為にも非常に重要であるが、国内外における病態研究は不十分であり、いまだ不明である。そこで本研究では、RP 患者の検体を収集・バンク化し病態研究を行う臨床試験に関する生命倫理委員会の承認を得て（承認番号：第 1625 号）、RP 患者の検体を収集・保存し、現時点で 16 名の患者由来血清、末梢血単核球、DNA を保存した。さらにその検体を用いて、RP 患者血清のサイトカイン・ケモカイン等に関する網羅的解析を行い、疾患特異的バイオマーカーや治療標的の候補となる分子を複数抽出し、特に、単球系・骨髄系の細胞由来因子の上昇を世界で初めて明らかにした（特許申請準備中）。

A. 研究目的

再発性多発軟骨炎（relapsing polychondritis、以下 RP）は、原因不明で稀な難治性疾患であり、重症例では時に致命的となる。本研究班で施行された RP に関する疫学調査等によって、RP 患者の診療の現状において、以下のような問題点が存在することが判明した。

- ①診断マーカーが存在しない為に、診断が遅れるケースがある。
- ②疾患活動性を評価する為の感度・特異度に優れたバイオマーカーが存在しないために、不十分な治療で放置され症状が進行している症例がある。

③治療はステロイドや免疫抑制剤などの非特異的な薬剤が使用されており、特異的な薬剤の開発が望まれる。

④関節リウマチなどに使用される抗 TNF- α 製剤や抗 IL-6 受容体抗体などの、抗サイトカイン療法の有効性が不明である。

このように、診断マーカー・疾患活動性や治療効果の判定指標マーカー・治療標的分子などを解明することは、RP の早期診断、重症度に応じた治療法の選択、治療予後改善、根本的な治療法の開発にとって必須な研究課題である。しかしながら、RP は希少疾患である為に系統的な研究を施行することは極めて困難であり、

国内外における研究は症例報告等の研究がほとんどであり、RP の病態はいまだ不明な点が多い。

そこで本研究では、RP の病態に関する研究を多数例で施行する体制を整備する為に、RP 患者の検体を収集・バンク化する臨床試験に関する生命倫理委員会の承認を得ること。またその承認のもとに、RP 患者の検体を収集・保存し、RP 患者血清のサイトカイン・ケモカイン等に関する網羅的解析を行い、疾患特異的バイオマーカーや治療標的の候補となる分子を抽出することを目的とした。

B. 研究方法

RP 患者の検体（末梢血単核球細胞、血清、DNA、病理検査をした際の残存組織）を収集、バンク化し、それを用いて病態研究を行うことを目的とする臨床研究について、本学の生命倫理委員会の承認をまず得た（承認番号：第 1625 号）。末梢血単核球細胞（PBMC）は液体窒素内に、血清は -80 度に保存し、以下の実験を行った。

まず、活動性 RP 患者 1 例、非活動性 RP 患者 1 例、健常者コントロール 2 例の血清を用いて、Human Cytokine Array kit (R&D systems)にて 36 種類のサイトカイン・ケモカイン等の濃度を半定量的に網羅的にスクリーニングし、活動性 RP 患者で上昇している候補分子を抽出した。

次に、RP 患者 16 例、健常者コントロール 16 例の血清を用いて、ELISA 法やフローサイトメトリーによる cytokine beads array 法にて、25 種類のサイトカインやケモカイン、マトリックスメタロプロテ

イネースなどの炎症関連因子を定量的に測定した。さらに、RP 患者において統計学的有意に上昇していた分子について ROC 曲線を統計学的に算出して感度・特異度に関する順位付けを行い、より優れたバイオマーカーの同定を行った。

（倫理面への配慮）

臨床検体の提供に関しては、文書によるインフォームドコンセントにて許可を頂いた。検体は非連結匿名化して使用した。本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承諾を得て（承認番号：第 1625 号）行った。

C. 研究結果

本年度は、RP 患者 16 例（男性 8 例、女性 8 例）から、PBMC、血清、DNA を分離収集し保存することが出来た。

これらの検体（血清）を用いて、RP の新規バイオマーカーを同定する為にサイトカイン・ケモカインなどの解析を行い、その結果の一部を図 1 に示す。定量的に測定した 25 種類の項目の中で、5 因子（Factor 1 から Factor 5）が RP 患者群において統計学的に有意に上昇していた（特許申請の関係上、因子名を開示できない）。さらに、これらの因子の感度・特異度について ROC 曲線を用いて解析したところ（図 2）、Factor 1 が感度・特異度共に最も優れていた。この分子は単球系・骨髄系の細胞由来因子として知られており、RP 患者における解析の報告はこれまで存在しない。また図には示していないが、TNF- α や IL-6 の濃度に関しては、統計学的有意差は認められなかった。

D. 考察

RP は軟骨の炎症を主病態とするが、一般的な非特異的炎症マーカーである CRP の値は軟骨破壊が進行していても正常範囲内である症例が認められる。それらの症例の中には、CRP が正常値であるがために疾患活動性が低いと判断され、治療が積極的に施行されずに気道軟骨病変が進行してしまう症例も消して稀ではない。この現状は RP の診療において非常に重要な課題の一つであり、その解決のためには、より感度に優れた RP の新規バイオマーカーの同定が必要である。本研究では、サイトカイン・ケモカイン等の網羅的解析により、CRP よりも感度・特異度共に優れたマーカーを同定することが出来た。今後はさらに症例数を増やして検討し、さらに重症度との相関関係、障害部位（臓器）との相関関係、治療効果との相関関係などについての解析を実施し、有用性に関するエビデンスの蓄積が必要であると考えられる。

この分子の RP 患者における上昇は世界で初めての知見であり、CRP などの非特異的炎症マーカーとは異なり、単球系・骨髄系の細胞由来因子であるという点は、RP の病態を理解する上でも非常に重要な知見となる可能性が高い。局所病変における本分子の発現や分布などに関する解析により、本分子の RP 病態における役割を今後明らかにしていきたい。

また、本分子は RP の病態特異的な治療

の標的としても将来発展する可能性が期待される。今回の研究では、TNF- α や IL-6 も測定したが、RP 患者で高い症例は一部であり、当初期待された抗 TNF- α 抗体や抗 IL-6 受容体抗体などの製剤の有効性に関しては、今後慎重に判断する必要性があるものと示唆された。一方で、本分子の発現はほとんどの RP 患者で亢進しており、治療標的の有用性に関する検討は重要であると思われる。

E. 結論

RP 患者の検体を収集・バンク化し病態研究を行う臨床試験に関する生命倫理委員会の承認を得て（承認番号：第 1625 号）、RP 患者の検体を収集・保存し、現時点で 16 名の患者由来血清、末梢血単核球、DNA を保存した。さらにその検体を用いて、RP 患者血清のサイトカイン・ケモカイン等に関する網羅的解析を行い、疾患特異的バイオマーカーや治療標的の候補となる分子を複数抽出し、特に、単球系・骨髄系の細胞由来因子の上昇を世界で初めて明らかにした（特許申請準備中）。今後はさらに症例を蓄積し、病理学的検討、RP 患者診療における有用性、治療標的としての有用性などに関する検討を重ねていく研究の必要性が高い。

F. 健康危険情報

特になし。