

201126023A

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

関節リウマチの関節破壊機序の解明と
関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立に関する研究

平成23年度 総括・研究分担報告書

平成24年3月

研究代表者 田中 良哉

【目 次】

I. 構成員名簿	1
II. 総括研究報告	
関節リウマチの関節破壊機序の解明と関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立に関する研究 田中 良哉 (産業医科大学 医学部 第一内科学講座)	3
III. 分担研究報告	
1. 近赤外線カメラによる手指関節滑膜血流評価の有用性 小池 隆夫 (N T T 東日本札幌病院)	15
2. T-bet トランスジェニックマウスにおける関節炎制御機構に関する研究 住田 孝之 (筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻臨床免疫学)	17
3. 生物学的製剤の関節破壊抑制効果と機能障害改善効果に関する検討 竹内 勤 (慶應義塾大学医学部 リウマチ内科)	21
4. 抗シトルリン化ペプチド抗体陰性関節リウマチ患者における新規自己抗体に関する研究 三森 経世 (京都大学大学院医学研究科 臨床免疫学)	25
5. 新規関節炎治療法開発を目指した TREM-1 リガンド相互作用解析 宮坂 信之 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 膠原病・リウマチ内科学)	29
6. 関節リウマチにおける関節破壊危険因子の同定に関する研究 山中 寿 (東京女子医科大学 膠原病リウマチ痛風センター)	31
7. 蛋白のシトルリン化酵素である PADI4 の病態への関与と新規治療法の研究 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)	34
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	37
V. 研究成果の刊行物・別刷	53

【 I 】 構成員名簿

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）

「関節リウマチの関節破壊機序の解明と

関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立に関する研究班」構成員名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	田中 良哉	産業医科大学 医学部 第一内科学講座	教 授
研究分担者	小池 隆夫	N T T 東日本札幌病院	院 長
	住田 孝之	筑波大学医学医療系内科 (膠原病・リウマチ・アレルギー)	教 授
	竹内 勤	慶應義塾大学医学部 リウマチ内科	教 授
	三森 経世	京都大学大学院医学研究科 内科学講座 臨床免疫学	教 授
	宮坂 信之	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 膠原病・リウマチ内科学	教 授
	山中 寿	東京女子医科大学 膠原病リウマチ痛風センター	教 授
	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

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究協力者	天野 宏一	埼玉医科大学総合医療センター リウマチ・膠原病内科	准教授
	猪狩 勝則	東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター	准教授
	岩井 秀之	東京医科歯科大学 膠原病・リウマチ内科	特任講師
	上阪 等	東京医科歯科大学 膠原病・リウマチ内科	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	講 師
	近藤 裕也	筑波大学医学医療系内科 (膠原病・リウマチ・アレルギー)	講 師
	齋藤 和義	産業医科大学 医学部 第一内科学講座	准教授
	庄田 宏文	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
	鈴木 亜香里	理化学研究所 ゲノム医科学研究センター	上級研究員
	瀬理 祐	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	大学院生
	深江 淳	北海道内科リウマチ科病院	医 長
	藤尾 圭志	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
	山岡 邦宏	産業医科大学 医学部 第一内科学講座	講 師

【Ⅱ】総括研究報告

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)

研究代表報告書

関節リウマチの関節破壊機序の解明と関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立に関する研究

研究代表者 田中良哉 産業医科大学医学部第一内科学講座 教授
研究分担者 小池隆夫 NTT 東日本札幌病院院長、北海道大学 名誉教授
住田孝之 筑波大学大医学医療系内科(膠原病・リウマチ・アレルギー) 教授
竹内 勤 慶応義塾大学医学部リウマチ内科 教授
三森経世 京都大学大学院医学研究科 臨床免疫学 教授
宮坂信之 東京医科歯科大学膠原病・リウマチ内科 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
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

研究要旨

関節リウマチ(RA)患者は約70万人を数え、必発する進行性関節破壊は機能予後不良に伴う社会的損失や関節置換術などによる医療費負担を生じてきた。日本人RAは、難治性、関節破壊進行が急速・高度とされ、一旦、関節が破壊・変形すると不可逆的で、身体機能の低下は必至である。本研究では、関節破壊の機序を分子細胞学的、免疫学的観点から解明し、破壊を抑制、再生する治療開発を目指した基礎的・臨床的な重層的研究を行う。平成23年度には、RA疾患・関節破壊関連分子としてPADI4、TREM-1、T-betなどが同定された。また、これらの分子に着目して関節破壊の分子機序の解明と抗体や阻害薬などの治療開発研究が開始された。さらに、ヒト間葉系幹細胞を用い、骨芽細胞、軟骨細胞への分化誘導、3次元骨再生系を確立され、関節破壊の機序解明、修復の基盤が明らかになった。

一方、RAの治療は生物学的製剤やMTXの普及により飛躍的に進歩した。しかし、現状では生物学的製剤の投与前に既に関節破壊が進行し、変形による機能障害が不可逆性の難治性症例が大部分であり、診療ガイドラインの設定による医療の標準化が最重要課題である。平成23年度には、関節破壊を『ゼロ』にすることを目的とした治療ガイドラインを改訂し、検証、確立するためのエビデンスを構築することを目的とした”ZERO-J”試験(UMIN000001281)を開始した。現在、関節破壊を『ゼロ』にできる治療ガイドラインを確立し、日本リウマチ学会と共同で公布することを目指して、継続的な患者データベースを構築し、関節X線から総Sharpスコアを算出して関節破壊を評価すべく症例の蓄積を開始した。

A.研究目的

関節リウマチ(RA)患者は約70万人を数え、必発する進行性関節破壊は機能予後不良に伴う社会的損失や関節置換術などによる医療費負担を生じてきた。日本人RAは、難治性、関節破壊進行が急速・高度とされ、一旦、関節が

破壊・変形すると不可逆的で、身体機能の低下は必至である。一方、RAの治療は生物学的製剤やメトトレキサートの普及により飛躍的に進歩した。しかし、現状では大部分の症例は生物学的製剤の投与前に既に関節破壊が進行し、変形による機能障害が不可逆性の難治性症例が大部

分であり、診療ガイドラインの設定による医療の標準化が最重要課題である。以上より、本研究においては、(1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復、(2) 関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立を主目的とし、下記に示す基礎的・臨床的の重層的研究をオールジャパンで実施する。

1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究においては、本研究者らが同定してきた RA 疾患・関節破壊関連分子である ADI4、TREM-1、T-bet などに着目し、関節破壊の分子機序の解明と抗体や阻害薬などの治療開発を目指す。さらに、関節破壊機序に関与する遺伝子多型の解析、重症型関節リウマチの網羅的自己抗体検出により、新規標的分子の同定を継続する。一方で、申請者らが確立したヒト間葉系幹細胞を用い、骨芽細胞、軟骨細胞への分化誘導、3次元骨再生系を確立し、細胞や実験動物レベルでの評価系を確立し、関節破壊の機序解明、修復の基盤的研究を施行する。

2) RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究では、関節破壊を『ゼロ』にすることを旨とした治療ガイドラインを改訂し、検証、確立するためのエビデンスを構築することを目的とした“ZERO-J”試験(UMIN000001281)を開始し、継続的な患者データベースを構築し、関節 X 線から総 Sharp スコアを算出して関節破壊を評価し、関節破壊を『ゼロ』にできる治療ガイドラインを確立し、日本リウマチ学会と共同で公布する計画である。また、高精度の画像検査(MR, US 等)、バイオマーカー、遺伝子情報を駆使し、検証の信頼性、治療効率・経済効率の向上を目指す。

B. 研究方法

1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究

1. RA における関節破壊危険因子の同定(山中)

本学で行われている前向き観察研究 IORRA に登録され、DNA を収集しえた患者のうち 628 名について、両手 X 線を用いて発症 5 年時の Sharp van der Heijde score (SHS、hands) により骨関節破壊の評価を行った。罹病期間を揃えたことで、関節破壊に強い影響を与える罹病期間の影響を排除するとともに、単回の読影で 5 年間の関節破壊の変化

量(delta-5yrs)の近似値を得ることが可能となる。遺伝子型の同定にはすでに本学で施行したタイピングデータを用いた。統計解析には解析ソフト R を使用し、SHS を従属変数とし、平均 DAS28、発症年齢、性、自己抗体(RF)陽性の有無、各遺伝子のリスクアレルの数を説明変数とする重回帰分析を行った。

2. PADI4 を標的とする関節破壊の治療戦略(山本)

RA における関節破壊は、抗 CCP 抗体に代表される抗シトルリン化蛋白抗体陽性患者で顕著である。そこで、標的抗原の発現に関係する蛋白のシトルリン化酵素 PADI4 の関節破壊機序の解明、標的治療の開発を目指す。平成 23 年度には PADI4-KO マウスを作成し、CIA による関節破壊の責任分子、細胞を同定する。PADI4 ノックアウトマウスを作成し、バッククロス法を繰り返し、DBA/1J 系へのバッククロスを完成させた。既に完成している C57BL/6 系へのバッククロスマウスと共に、II 型コラーゲンの免疫により惹起される関節炎モデルにおける PADI4 の役割を検証した。

3. T-bet を介する関節破壊の治療戦略(住田)

T-bet を T 細胞においてのみ過剰発現させた T-bet トランスジェニックマウス(T-bet Tg)を用いて、野生型(WT)および T-bet Tg に対して CIA を誘導し、臨床像を比較検討した。さらに、T 細胞分化に対する T-bet 過剰発現の影響を解析するために、WT、T-bet Tg および T-bet Tg と IFN γ 欠損マウス(IFN $\gamma^{-/-}$)を交配させることにより作成した T-bet Tg/IFN $\gamma^{-/-}$ マウスの脾臓 na ve CD4+ T 細胞を MACS を用いて分離し、in vitro で T 細胞分化を誘導して、サイトカイン産生パターン、転写因子発現について FACS により解析した。

4. TREM1、TREM1L を介する関節破壊治療(宮坂)

TREM-1 発現細胞であるマクロファージに対する、mTREM-1-L-B-Ig 刺激、あるいは mTREM-1-L-B 発現細胞である B 細胞との共培養による、TNF- α 産生や増殖能に与える影響を検討する。ヒト TREM-1 細胞外ドメイン 6 x Histidine 融合蛋白(hTREM-1-His)を用いて、hTREM-1-L が発現する細胞を確認する。同細胞の cDNA ライブラリーを用いた発現クローニングにより hTREM-1-L を同定する。

5. 重症型 RA の網羅的自己抗体検出研究(三森)

RA の最重症型といえる全身性ムチラン型 RA 患者における、抗 CCP 抗体陰性患者の頻度について調べた。次に、抗 CCP 抗体陰性かつ RF 陰性で X 線上典型的な骨破壊像を認める RA 患者血清 8 検体を用いて自己抗体のスクリーニングを AlphaScreen 法で行った。自己抗体アレイに用いる蛋白は、RA 滑膜細胞のマイクロアレイデータから RA 滑膜に特異的に発現される蛋白および自己免疫疾患感受性遺伝子座の候補遺伝子約 3000 の中で、予備実験において RA 血清に反応することがわかっている 243 蛋白を用いた。

6. 間葉系幹細胞を用いた関節破壊の機序の解明、再生・修復に関する研究(田中)

In vitro における骨芽細胞分化誘導:骨芽細胞分化誘導培地に炎症性サイトカインを添加し、RUNX-2、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性、石灰化を指標に骨芽細胞分化を評価した。In vivo における骨形成誘導:MSC を播種したポリ乳酸ファイバー(PLGA)を 24 時間培養後、CIA 発症前の関節近傍に移植し、MSC を直接関節内投与したラットと関節炎スコア、病理組織標本、軟部 X 線、micro CT を比較検討した。

2)RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究

1. 関節破壊を「ゼロ」にする治療ガイドラインの検証と公布(田中を中心に全員)

研究分担者施設を中心とした多施設共同研究で、各施設の倫理委員会承認後に漸次エントリーを開始する。選択基準は ACR/EULAR2010 年 RA 分類基準に基づき診断され、抗 CCP 抗体陽性、罹病歴 2 年以内、関節 X 線で骨びらんが 3 個以内、MTX 未使用症例。これらの症例に MTX6-16 mg/週を 3 ヶ月投与後、「関節リウマチに対する TNF 阻害療法施行ガイドライン」の基準を満たす症例より同意が得られれば、TNF 阻害薬を 1 年間投与(T 群)。非同意症例は、MTX で 1 年間治療を継続(M 群)。また、ガイドラインの基準を満たさない症例も high responder (HR) 群として 1 年間経過観察する。主要評価項目は、初診時(MTX 開始時)、TNF 阻害薬開始時(または TNF 阻害薬に

非同意時)、開始 1 年後に於ける総 Sharp スコア。副次的評価項目として新たな骨びらんの発生、骨びらんスコア、関節裂隙狭小化スコア、SDAI、DAS28、有害事象などを評価する。

2. 生物学的製剤の関節破壊抑制効果と機能障害改善効果に関する検討(竹内)

埼玉医科大学総合医療センターリウマチ 膠原病内科、東京女子医科大学リウマチ膠原病痛風センター、産業医科大学第一内科、慶應義塾大学医学部リウマチ内科などで行われたインフリキシマブを対象とした RECONFIRM-2 研究 (n=410)、エタネルセプトを対象とした ENRICH 研究 (n=208)、アダリムマブを対象とした HARMONY 研究 (n=167)、トシリズマブを対象とした REACTION-52w 研究 (n=232)について、その結果を比較検討した。加えて、NAGASAWA 研究 (n=125)、JESMR 研究を用いた。

3. 高精度画像検査による関節破壊の評価(小池)

関節 X 線に加えて高感度の関節画像検査(MRI 検査、超音波検査、近赤外線カメラ)を施行する。決定された時系列で画像評価を含めた観察をおこない、観察開始前後の血流変化率や骨破壊の関連を系統的に解析し、関節破壊抑制に必要な基準を算出し、本研究や治療法の信頼性を向上させる。殊に、近赤外線カメラ(浜松ホトニクス)については、活動性 RA 患者の患手に対して、関節超音波検査と近赤外線カメラを同時期に施行した。カメラ本体は手より 20cm に固定し、対側の肘静脈よりインドシアニンググリーン(0.25mg/body)を静脈内投与した

(倫理面への配慮)

臨床検体を使用する場合には、ヘルシンキ宣言を遵守し、研究分担者の所属機関の倫理委員会、或は、IRB で承認を得た研究に限定し、患者及び家族からインフォームドコンセントを得た上で、倫理委員会の規約を遵守し、所属機関の現有設備を用いて行う。患者の個人情報が入属機関外に漏洩せぬよう、試料や解析データは万全の安全システムをもって厳重に管理し、患者は、経済的負担を始め如何なる不利益も被らない事を明確にする。患者情報に関しては、個人情報守秘義務を徹底し、研究代表者の施設コ

ンピューターを用いた中央管理とする。なお、関節リウマチの関節破壊ゼロを目指す治療指針の確立に関する研究は、申請者の施設の倫理委員会で承認し、また、“ZERO-J 試験”として UMIN に登録した (UMIN000001281)。

C. 研究結果

1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究

1. RA における関節破壊危険因子の同定 (山中)

DNA を収集しえた患者 628 名について、両手 X 線で関節破壊を SHS で評価したところ、骨関節破壊関連因子として、平均 DAS28、年齢 (若年発症)、性別 (女性)、HLA-DRB1、*PADI4* (rs7639618) が検出された。最も有意差を認めた平均 DAS28 については、活動性の上昇に従って発症 5 年時の SHS が増加していた。

2. PADI4 を標的とする関節破壊の治療戦略 (山本)

PADI4 ノックアウトにより C57BL/6, DBA/1J 系ともに CIA の発症・関節炎スコアが有意に抑制された。さらに、PADI4 ノックアウトマウスでは、CIA 血清で抗 CCP 抗体価の低下がみられたのみならず、抗 II 型コラーゲン抗体価も初回免疫後 3 週で IgM, IgG 型抗体ともに有意に低値を示した。PADI4 ノックアウトの CIA 関節炎組織ではシトルリン化フィブリノーゲンの発現消失がみられた。初回免疫後 7 日目の検討では、PADI4 ノックアウトマウスにおいて、所属リンパ節・脾臓の両方で Tfh, GC B 細胞の割合が有意に減少していた。さらに、PADI4 ノックアウトマウスにおいて、DBA/1J 系での関節炎スコアが有意に抑制された。

3. T-bet を介する関節破壊の治療戦略 (住田)

T-bet Tg では WT と比較して CIA の発症率、重症度について有意な減少が認められ、関節の病理学的評価においても炎症、関節破壊は有意に抑制されていた。T-bet Tg において T-bet の発現亢進と Th-17 分化に重要な転写因子である ROR γ t の発現抑制が認められた。T-bet Tg 由来の CD4⁺ T 細胞では Th-17 分化誘導条件においても T-bet⁺ 細胞の増加と ROR γ t⁺ 細胞の減少が認められ、ROR γ t⁺ 細胞からの IL-17 産生の低下が認められた。T-bet Tg マウスの脾臓 na ve CD4⁺ T 細胞の IL-6 レセプタ

ー発現は WT と比較して低下しており、IL-6 刺激に対する STAT3 のリン酸化についても抑制されていた。

4. TREM1、TREM1L を介する関節破壊治療 (宮坂)

mTREM-1-L-B-Ig を用いた、TREM-1 を介したマクロファージ刺激では TNF- α の産生が確認された。この作用には LPS 刺激による TNF- α 産生への増幅効果も認めた。mTREM-1-His 同時投与によりこの TNF- α 産生は抑制され、mTREM-1-L-B-Ig による刺激は TREM-1 特異的であることがわかった。マクロファージと mTREM-1-L-B を発現していると考えられる B 細胞との共培養では抗 IgM 抗体存在下で、TNF- α 産生は増加した。この増加は抗 mTREM-1-L-B 抗体投与で抑制され、primary 細胞でも TREM-1 特異的な相互作用が確認された。

5. 重症型 RA の網羅的自己抗体検出研究 (三森)

全身性ムチランス患者 38 例において、3 例 (7.9%) は抗 CCP 抗体陰性、2 例 (5.3%) は 10U/ml 以下の弱陽性であり、抗 CCP 抗体陰性であるからといって、必ずしも関節破壊が軽いとはいえない。抗 CCP 抗体陰性 RA 血清中の自己抗体のスクリーニングを AlphaScreen 法を用いて行った。8 例の抗 CCP 抗体陰性 RA 患者に共通する自己抗体 (抗原) を 6 蛋白同定し、そのうちの 2 蛋白に関して Western Blot (WB) 法で自己抗体の確認ができた。

6. 間葉系幹細胞を用いた関節破壊の機序の解明、再生・修復に関する研究 (田中)

骨芽細胞分化誘導: ヒト MSC は骨芽細胞分化培地に IL-1 を添加することで培養 4 日目に ALP 陽性、10 日目でアザリンレッド陽性石灰化が観察された。IL-1 の効果は、TNF、IL-6、IL-17 より強力であった。IL-1 を添加後 7 日目では RUNX2, Bone sialoprotein, Osteocalcin の mRNA の発現が亢進し、迅速で効率的な骨芽細胞分化が確認された。Wnt5a とその受容体 Ror2 の mRNA 発現の亢進が観察され、Wnt5a または ROR2 を siRNA で発現抑制すると石灰化は阻害されたことから、non-canonical pathway を介すシグナル伝達を示された。一方、IL-1 による canonical pathway の活性化は観察されなかった。CIA ラットを用いた検討では、MSC を直接関節内投与しても無治療群と相を

認めなかったが、MSC を PLGA に播種して関節近傍に移植すると、関節炎スコアの低下、軟部 X 線、microCT、組織学的評価における骨破壊の進展抑制が観察された。

2) RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究

1. 関節破壊を「ゼロ」にする治療ガイドラインの検証と公布 (田中を中心に全員)

2011 年 11 月現在、4 施設で倫理申請承認、8 施設で申請中。症例登録数は 2 施設計 19 症例で 女性 15 名、男性 4 名、stage I 12 名、II 7 名、罹病期間 1-24 か月 (平均 5.88 ± 5.28 か月)、MTX 治療開始時点での疾患活動性は DAS28 4.45 ± 0.85 、SDAI 16.8 ± 5.88 、HAQ 0.54 ± 0.51 。MTX 開始 3 か月後のガイドライン基準判定時点へ到達した症例は 8 例で、MTX はこの間に 13.4 ± 2.26 mg/週まで増量された。DAS28 2.79 ± 0.72 、SDAI 5.61 ± 4.34 まで改善し、5 例は TNF 阻害療法施行ガイドライン基準を満たさず、T 群 1 例、M 群 1 例、HR 群 5 例に振り分けられた。また、HAQ は 0.16 ± 0.24 と顕著に改善し、全例 HAQ 0.5 以下であった。

2. 生物学的製剤の関節破壊抑制効果と機能障害改善効果に関する検討(竹内)

年間関節破壊進行度 (YP) は、生物学的製剤投与によって 0~4 と、投与前の 15~25 と比較して明らかに低下していた。これを投与前後の抑制率(%YP 抑制)で表すと 77.8%~100%で、強力な関節破壊抑制効果が確認された。しかし、これらの数字には幅があり、各研究の患者背景との関連を比較すると MTX 併用率の最も低い ENRICH 研究で、この抑制率が 88.3%と低い傾向にあり、MTX が 100%の RECONFIRM-2J で 100%抑制を記録した。JESMR 研究では、エタネルセプト単独群では 77.8%であったのに対して、エタネルセプト+MTX 併用様群では、これが 95.2%と高い数字を示した。

3. 高精度画像検査による関節破壊の評価(小池)

関節 X 線に加えて高感度の関節画像検査として、近赤外線カメラ、関節超音波検査を施行した。活動性 RA 患者の右手に対して施行された近赤外線カメラでは、III-V PIP

関節、II-III MCP 関節に集積した異常血流スポット像を認めた。関節超音波検査は、近赤外線カメラ検査とは独立して施行された。両検査に共通した部位に滑膜異常血流を認めた。

D. 考察

1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究

RA 骨関節破壊関連因子として、平均 DAS28、年齢(若年発症)、性別(女性)、HLA-DRB1、*PADI4* (rs2240340)が同定されたが、DAS28 だけは唯一コントロール可能な因子である。つまり RA を低活動性に tight control することが骨破壊の防止につながると考えられた。また骨関節破壊予後不良因子を同定し得たことで RA 患者に対して治療法を選択する上で非常に有益であると考えられた。

PADI4 はマウス関節炎モデルに関して、その priming phase、effector phase の両方で作用している可能性がある。priming phase としては、抗原のシトルリン化による抗原性の変化の可能性に加えて、*PADI4* が Tfh、GC B 細胞の分化そのものに影響を与え、抗 CCP 抗体、抗 II 型コラーゲン抗体の産生を制御している可能性が示された。effector phase としては、マクロファージ、樹状細胞のサイトカイン産生能などへの影響が考えられ、*PADI4* はシトルリン化抗原の産生のみならず、各種の免疫細胞において多面的な遺伝子発現を制御している可能性が推測された。

T-bet Tg に対して CIA を誘導した場合に WT と比較して関節炎の有意な抑制が認められた。in vitro での抗原反応性のサイトカイン産生、転写因子発現の評価では、T-bet Tg において IL-17 産生の低下および ROR γ t 発現の抑制が認められ、抗原特異的な Th-17 分化が抑制されていることが示された。T-bet Tg では抗原反応性の T-bet 発現亢進が認められたが、IFN γ の産生亢進は認められず、Th17 分化抑制には IFN γ の関与が乏しい可能性が示された。さらに T-bet Tg/IFN γ ^{-/-}マウス由来の CD4⁺ T 細胞を用いた検討では、IFN γ の欠損にも関わらず Th-17 分化は誘導されず、T-bet が IFN γ を介さずに Th-17 分化を抑制していることが示唆された。

マクロファージ及び B 細胞の相互作用に関与する分子として、BAFF が知られている。今回、TREM-1 及び TREM-1-L を介する経路が存在することが示唆された。また、新規に同定された hTREM-1-L-M は mTREM-1-L-B とは発現様式も全く異なるものであり、この機能解析も行い、関節炎における役割の解明を行っていく必要がある

全身性ムチラン型 RA のような重症型 RA においても 8% は抗 CCP 抗体陰性であり、抗 CCP 抗体陰性 RA であっても、早期診断、早期治療の重症性は抗 CCP 抗体陽性 RA と同様であることが示された。関節破壊ゼロを目指すためには抗 CCP 抗体陰性 RA の診断能向上につながるよいバイオマーカーの確立が望まれる。我々は AlphaScreen 法にて抗 CCP 抗体(-)RF(-)RA でも多数の自己抗体が存在することを示しており、今回その端緒として AlphaScreen 法で検出した 2 種の自己抗原蛋白に関して、WB 法および ELISA 法による自己抗体検出の確認を行った。

ヒト MSC は、IL-1 などの炎症性サイトカインの存在下で骨芽細胞へ分化可能であり、その機序は Wnt5a/ROR2 発現誘導およびその下流の non-canonical pathway の関与が初めて示された。一方、CIA ラットにおいては、関節内投与と比較して MSC 播腫 PLGA (ナノファイバー) による関節炎発症抑制作用と石灰化形成が観察された。これらの結果より、MSC を用いた関節炎治療では、直接の関節内投与より、ナノファイバーを足場として関節近傍に MSC をとどめる事による関節炎発症や関節破壊の抑制の可能性が示唆された。今後、マトリゲルやナノファイバーを用いて間葉系幹細胞からの 3 次元骨再生系を確立し、RA 患者の MSC からの関節修復・再生系を動物モデルへ応用し、破壊された関節の修復・再生を目指した治療ツールとしての展開を検討していく予定である。

2) RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究

関節破壊『ゼロ』を目標とした保険診療内で実施できる治療ガイドラインを試用し、検証する事を目的として”ZERO-J”試験を開始し、今回 RA 分類基準の改定、MTX 使用法の変更などを反映させた新エントリー基準によ

る検証を遂行中である。今回の検討では、真の意味での関節破壊ゼロを導く治療戦略が明らかにされることが期待される。また、MTX 量を保険改定を反映させて 16 mg/週まで容認したことで、実臨床に沿ったエビデンスの構築が可能となるが、MTX 開始 3 ヶ月の疾患活動性はかなり制御されたことより未だ少ない症例数ではあるが TNF 阻害療法へ移行を要する症例は極めて少ない。今後、統計的な検討では症例数の再考の必要性も示唆された

生物学的製剤の強力な関節破壊抑制効果が日常診療下における観察研究でも明らかになり、多くの治験データを支持する成績が得られた。一方、臨床的寛解率は、罹病期間 10 年前後の長期罹患患者でも 30% を超えており、長期罹患患者でも達成可能な目標である可能性が示唆された。課題として、臨床的寛解を達成し、関節破壊が強力に抑制されたとしても、機能的寛解を達成する事は、罹病期間とともに低下する可能性がある事が明らかとなった。身体機能障害には、不可逆的な関節破壊が関与し、生物学的製剤が開始される時点で、関節破壊が進行していると、機能的寛解は望めない。Smolen らは治験データによるメタ解析の結果、TSS10 の進行は HAQ0.1 の悪化に相当すると試算している。これを機能的寛解の上限である 0.5 を想定すると、TSS は 50 である。機能的寛解を最終的に目指すのであれば、この TSS を念頭に生物学的製剤の開始時期を遅れないような配慮が求められる。関節破壊と関連する機能障害 damage-associated HAQ が、果たして日常診療下でも、また、日本における解析でも示されるかどうか、の検討も必要である。

E. 結論

1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究

RA 骨関節破壊関連因子として、平均 DAS28、年齢(若年発症)、性別(女性)、HLA-DRB1、*PADI4* (rs2240340) が同定された。特に、*PADI4* ノックアウトマウスを用いた研究により関節炎・破壊との多面的な関わりがより明確になった。また、T 細胞における T-bet の過剰発現は Th17 分化を抑制して関節炎・破壊を抑制すること、マクロファージと B 細胞

の新たな作用経路に TREM-1 が関与することが示唆された。さらに、抗 CCP 抗体陰性 RA でも、他の自己抗体が陽性で関節破壊の進行の早い亜集団が示された。一方、IL-1 などの炎症性サイトカインの刺激存在下においてヒト MSC から迅速、効率的な骨芽細胞の増幅・誘導系を確立し、生体内においても骨形成可能であることが示された。

2) RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究

「関節破壊『ゼロ』を目標とした保険診療内で実施できる治療ガイドラインを試用し、検証する事を目的として”ZERO-J”試験を開始し、RA 分類基準の改定、MTX 使用法の変更などを反映させた新エントリー基準による検証を遂行中である。また、4大学で行われている観察研究を中心として解析したところ、生物学的製剤の強力な関節破壊抑制効果が明らかになり、多くの治験データを支持する成績が得られた。また、臨床的寛解を達成し、関節破壊が強力に抑制されたとしても、機能的寛解を達成する事は罹病期間とともに低下した。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1. 論文発表

(代表研究者)

田中良哉

1. Tanaka Y, Maeshima Y, Yamaoka K. In vitro and in vivo analysis of a Jak inhibitor in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* (in press)
2. Tanaka Y, Harigai M, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, et al. Golimumab, a human anti-TNF- α monoclonal antibody, injected subcutaneously every 4 weeks in Japanese patients with active rheumatoid arthritis in combination with methotrexate: results of the Phase 2/3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled GO-FORTH study through 24 weeks. *Ann Rheum Dis*

(in press)

3. Tak PP, Mease PJ, Genovese MC, Kremer J, Haraoui B, Tanaka Y, Bingham III CO, et al. Efficacy and safety of ocrelizumab in patients with active rheumatoid arthritis with an inadequate response to at least one TNF inhibitor: results from the phase III SCRIPT trial. *Arthritis Rheum* (in press)
4. Maeshima K, Yamaoka K, Kubo S, Nakano K, Iwata S, Tanaka Y, et al. A JAK inhibitor tofacitinib regulates synovitis through inhibition of IFN- γ and IL-17 production by human CD4+ T cells. *Arthritis Rheum* (in press)
5. Takeuchi T, Tanaka Y, Amano K, Hoshi D, Nawata M, Nagasawa H, et al. Clinical, radiographic, and functional effectiveness of tocilizumab for rheumatoid arthritis patients - REACTION 52-week study -. *Rheumatology* (in press)
6. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Tanaka Y, Ito K, et al. Postmarketing Surveillance of Tocilizumab for Rheumatoid Arthritis in Japan Interim Analysis of 3,881 Patients. *Ann Rheum Dis* (in press)
7. Oshita K, Yamaoka K, Udagawa N, Fukuyo S, Sonomoto K, Tanaka Y. Human mesenchymal stem cells inhibit osteoclastogenesis through osteoprotegerin production. *Arthritis Rheum* (2011) 63, 1658-1667
8. Nakano K, Yamaoka K, Hanami K, Saito K, Sasaguri Y, Tanaka Y. Dopamine induces IL-6-dependent IL-17 production via D1-like receptor on CD4 na ve T-cells and a D1-like receptor antagonist SCH-23390 inhibits cartilage destruction in a human rheumatoid arthritis/SCID mouse chimera model. *J Immunol* (2011) 186, 3745-3752
9. Tanaka Y, Suzuki M, Nakamura H, Toyozumi S, Twillich S. Phase 2 study of tofacitinib (CP-690,550)

- combined with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to methotrexate. *Arthritis Care Res* (2011) 63, 1150–1158
10. 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* (2010) 69, 1286–1291
 11. Sawamukai N, Yukawa s, Saito K, Nakayamada S, Kambayashi T, Tanaka Y. Mast cell-derived tryptase inhibits apoptosis of human rheumatoid synovial fibroblasts via rho-mediated signaling. *Arthritis Rheum* (2010) 62, 952–959
- (分担研究者)
- 小池隆夫
1. Koike T. The new era of autoimmune disease research. *Arthritis Research & Therapy*. 13:113, 2011
 2. Kato M, Atsumi T, Kurita T, Odani T, Fujieda Y, Otomo K, Horita T, Yasuda S, Koike T. Hepatitis B virus reactivation by immunosuppressive therapy in patients with autoimmune diseases: Risk analysis in hepatitis B surface antigen-negative cases. *J Rheumatol*. 38:10, 2209–14, 2011
 3. Koike T. IFN γ independent suppression of Th-17 differentiation by T-bet expression in autoimmune arthritis mice. *Arthritis Rheum*. 2012 64(1):40–41
- 住田孝之
1. Hasebe, N., Kawasaki, A., Ito, I., Kawamoto, M., Hasegawa, M., Fujimoto, M., Furukawa, H., Tohma, S., Sumida, T., Takehara, K., Sato, S., Kawaguchi, Y., and Tsuchiya, N. Association of UBE2L3 polymorphism with diffuse cutaneous systemic sclerosis in a Japanese population. *Ann. Rheum. Dis.* (in press)
 2. Tanaka, Y., Matsumoto, I., Iwanami, K., Inoue, A., Minami, R., Umeda, N., Kanamori, A., Ochiai, N., Miyazawa, K., Sugihara, M., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. Six-transmembrane epithelial antigen of prostate 4 (STEAP4) is expressed on monocytes/neutrophils, and is regulated by TNF antagonist in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* (in press).
 3. Tanaka, Y., Matsumoto, I., Iwanami, K., Inoue, A., Umeda, N., Sugihara, M., Hayashi, T., Ito, S., and Sumida, T. Six-transmembrane epithelial antigen of prostate 4 (STEAP4) is a tumor necrosis factor alpha-induced protein that regulates IL-6, IL-8, and cell proliferation in synovium from patients with rheumatoid arthritis. *Mod. Rheumatol.* (in press).
 4. Kondo, Y., Matsumoto, I., Iizuka, M., Wakamatsu, E., Zhaojin, Y., Tsuboi, H., Sugihara, M., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Takahashi, S., and Sumida, T. Overexpression of T-bet gene regulates murine autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum*. 64:162–172, 2012.
 5. Yoshiga, Y., Goto, D., Segawa, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Ito, S., Taniguchi, M., and Sumida, T. Activation of natural killer T cells by α -carba-GalCer (RCAI-56), a novel synthetic glycoipid ligand, suppresses murine collagen-induced arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 164(2):236–247, 2011.
 6. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Horikoshi, M., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. Involvement of NK 1.1-positive $\gamma \delta$ T cells in interleukin-18 plus interleukin-2-induced interstitial lung disease. *Am. J. Res. Cell. Mol. Biol.* 45(3):659–666, 2011
 7. Hikami, K., Kawasaki, A., Koga, M., Ito, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Kusaoi, M.,

Takasaki, Y., Hashimoto, H., Arinami, T., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of SP11 with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 63:755–763, 2011.

竹内勤

1. Kameda H, Kanbe K, Sato E, Ueki Y, Saito K, Nagaoka S, Hidaka T, Atsumi T, Tsukano M, Kasama T, Shiozawa S, Tanaka Y, Yamanaka H, and Takeuchi T. Continuation of Methotrexate resulted in better clinical and radiographic outcomes than discontinuation upon starting etanercept in patients with Rheumatoid Arthritis: 52-Week results from the JESMR Study. *J Rheum*, 38:1581–92, 2011
2. Tanaka Y, Yamanaka H, Saito K, Iwata S, Miyagawa I, Seto Y, Momohara S, Nagasawa H, Kameda H, Kaneko Y, Izumi K, Amano K, and Takeuchi T. Structural damages disturb functional improvement in patients with rheumatoid arthritis treated with etanercept. *Mod Rheum*, in press.
3. Takeuchi T, Tanaka Y, Kaneko Y, Tanaka E, Hirata S, Kurasawa T, Kubo S, Shidara K, Kimura N, Nagasawa H, Kameda H, Amano K, and Yamanaka H. Effectiveness and safety of adalimumab in Japanese patients with rheumatoid arthritis: Retrospective analyses of data collected during the first year of adalimumab treatment in routine clinical practice (HARMONY study). *Mod Rheum*, Online 6, Sep. 2011
4. Kaneko Y, Kuwana M, Kameda H, and Takeuchi T. Sensitivity and Specificity of 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. *Rheumatology*, 50:1268–74, 2011.
5. Takeuchi T, Tanaka Y, Amano K, Hoshi D, Nawata M, Nagasawa H, Satoh E, Saitao K, Kaneko Y, Fukuyo S, Kurasawa T, Hanami K, Kameda H, and Yamanaka H. Clinical, radiographic, and functional effectiveness of

tocilizumab for rheumatoid arthritis patients – REACTION-52 weeks study. *Rheumatology*, on line July 13, 2011.

6. Takeuchi T, Miyasaka N, Tatsuki Y, Yano T, Yoshinari T, Abe T, and Koike T. Baseline tumor necrosis factor alpha levels predict the necessity for dose escalation of infliximab therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 70:1208–15, 2011.

三森経世

1. Terao C, Yamada R, Ohmura K, Takahashi M, Kawaguchi T, Kochi Y, Human Disease Genomics Working Group, RA Clinical and Genetic Study Consortium, Okada Y, Nakamura Y, Yamamoto K, Melchers I, Lathrop M, Mimori T, Matsuda F: The human AIRE gene at chromosome 21q22 is a genetic determinant for the predisposition to rheumatoid arthritis in Japanese population. *Hum Mol Genet.* 20(13):2680–2685, 2011.
2. Terao C, Ohmura K, Katayama M, Takahashi M, Kokubo M, Diop G, Toda Y, Yamamoto N; Human Disease Genomics Working Group; Rheumatoid Arthritis (RA) Clinical and Genetic Study Consortium, Shinkura R, Shimizu M, Gut I, Heath S, Melchers I, Manabe T, Lathrop M, Mimori T, Yamada R, Matsuda F. Myelin basic protein as a novel genetic risk factor in rheumatoid arthritis—a genome-wide study combined with immunological analyses. *PLoS One.* 6: e20457, 2011.
3. Terao C, Ohmura K, Kochi Y, Ikari K, Maruya E, Katayama M, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Takasugi K, Matsuo K, Tajima K, Suzuki A, Yamamoto K, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Saji H, Matsuda F, Mimori T. A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects. *Ann Rheum Dis.* 70:

- 2134–2139, 2011.
4. Iguchi-Hashimoto M, Usui T, Yoshifuji H, Shimizu M, Kobayashi S, Ito Y, Murakami K, Shiomi A, Yukawa N, Kawabata D, Nojima T, Ohmura K, Fujii T, Mimori T: Overexpression of minimal domain of calpastatin suppresses IL-6 production and Th17 development via reduced NF- κ B and increased STAT5 signals. *PLoS ONE* 6(10):e27020, 2011.
 5. Yukawa N, Fujii T, Kondo-Ishikawa S, Yoshifuji H, Kawabata D, Nojima T, Ohmura K, Usui T, Mimori T. Correlation of antinuclear antibody and anti-double-stranded DNA antibody with clinical response to infliximab in patients with rheumatoid arthritis: a retrospective clinical study. *Arthritis Res Ther.* 13(6):R213, 2011.
 6. Murakami K, Tanaka M, Usui T, Kawabata D, Shiomi A, Iguchi-Hashimoto M, Shimizu M, Yukawa N, Yoshifuji H, Ohmura K, Fujii T, Mimori T: Follistatin-related protein/ follistatin-like 1 evokes an innate immune response via CD14 and toll-like receptor 4. *FEBS Lett.* 586(4):319–324, 2012.
 7. Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, Saji H, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Matsuda F, Mimori T: Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1*09:01. *Ann Rheum Dis.* 2012 Jan 10. [Epub ahead of print]
- 山中寿
1. Iwamoto T, Seto Y, Ikari K, Yamanaka H, Momohara S. Solitary extranodal malignant lymphoma of the forearm in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 63(1):304.2011
 2. Nishimoto K, Ikari K, Kaneko H, Tsukahara S, Kochi Y, Yamamoto K, Nakamura Y, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. Association of EMCN with susceptibility to rheumatoid arthritis in a Japanese population. *J Rheumatol.* 38(2):221–8, 2011
 3. Furuya T, Hosoi T, Saito S, Inoue E, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H. Fracture risk assessment and osteoporosis treatment disparities in 3,970 Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 30(8):1105–11, 2011
 4. Momohara S, Tanaka E, Iwamoto T, Ikari K, Yamanaka H. Reparative radiological changes of a large joint after adalimumab for rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 30(4):591–2, 2011
 5. Sugiura T, Kawaguchi Y, Ikari K, Ichida H, Kawamoto M, Momohara S, Hara M, Yamanaka H. Interleukin-18 promoter polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis: protective effect of the T allele and T/T genotype at rs360722. *Mod Rheumatol.* 21(4):359–64, 2011
 6. Yamanaka H, Tanaka Y, Inoue E, Hoshi D, Momohara S, Hanami K, Yunoue N, Saito K, Amano K, Kameda H, Takeuchi T. Efficacy and tolerability of tocilizumab in rheumatoid arthritis patients seen in daily clinical practice in Japan: results from a retrospective study (REACTION study). *Mod Rheumatol.* 21(2):122–33, 2011
 7. Yamagiwa K, Iijima S, Furuya T, Ikai T, Inoue E, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H. Incidence of falls and fear of falling in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol.* 21(1):51–6, 2011
 8. Momohara S, Ikari K, Kawakami K, Iwamoto T, Inoue E, Yano K, Sakuma Y, Hiroshima R, Tokita A, Taniguchi A, Yamanaka H. The increasing disease duration of patients at the time of orthopaedic surgery for rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* [in press]

9. Momohara S, Inoue E, Ikari K, Yano K, Tokita A, Suzuki T, Sakuma Y, Hiroshima R, Kawakami K, Masuda I, Iwamoto T, Taniguchi A, Yamanaka H. Efficacy of total joint arthroplasty in patients with established rheumatoid arthritis: improved longitudinal effects on disease activity but not on health-related quality of life. *Mod Rheumatol*. 21(5):476-81, 2011
 10. Terao C, Ohmura K, Katayama M, Takahashi M, Kokubo M, Diop G, Toda Y, Yamamoto N; Human Disease Genomics Working Group; Rheumatoid Arthritis (RA) Clinical and Genetic Study Consortium, Shinkura R, Shimizu M, Gut I, Heath S, Melchers I, Manabe T, Lathrop M, Mimori T, Yamada R, Matsuda F. Myelin basic protein as a novel genetic risk factor in rheumatoid arthritis--a genome-wide study combined with immunological analyses. *PLoS One*. 6(6):e20457, 2011
 11. Terao C, Yamada R, Ohmura K, Takahashi M, Kawaguchi T, Kochi Y; Human Disease Genomics Working Group; RA Clinical and Genetic Study Consortium, Okada Y, Nakamura Y, Yamamoto K, Melchers I, Lathrop M, Mimori T, Matsuda F. The human AIRE gene at chromosome 21q22 is a genetic determinant for the predisposition to rheumatoid arthritis in Japanese population. *Hum Mol Genet*. 20(13):2680-5, 2011
- 山本一彦
1. Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Takahashi A, Horita T, Atsumi T, Ishii T, Okamoto A, Fujio K, Hirakata M, Amano H, Kondo Y, Ito S, Takada K, Mimori A, Saito K, Kamachi M, Kawaguchi Y, Ikari K, Mohammed O W, Matsuda K, Terao C, Ohmura K, Myouzen K, Hosono N, Tsunoda T, Nishimoto N, Mimori T, Matsuda F, Tanaka Y, Sumida T, Yamanaka H, Takasaki Y, Koike T, Horiuchi T, Hayashi K, Kubo M, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K. A genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupuseyrrthematosus in Japanese *PLoS Genet*. in press
 2. Kochi Y, Thabet MM, Suzuki A, Okada Y, Daha NA, Toes REM, Huizinga TWJ, Myouzen K, Kubo M, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K. PADI4 polymorphism predisposes male smokers to rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 70:512-5, 2011.
2. 学会発表
(代表研究者)
田中良哉
1. Tanaka Y. In vivo and in vitro analysis of a Jak inhibitor in RA. *Advances in Targeted Therapies 2011*, Dubrovnik
 2. Tanaka Y. Is biologic-free remission possible in patients with RA? *Advances in Targeted Therapies 2011*, Dubrovnik
 3. Y. Tanaka, S. Hirata, M. Nawata, S. Kubo, K. Saito. Discontinuation of adalimumab after attaining remission in patients with rheumatoid arthritis. *The Annual European Congress of Rheumatology 2011*, London, England
 4. Y. Tanaka, M. Harigai, T. Takeuchi, H. Yamanaka, N. Ishiguro, K. Yamamoto, et al. Golimumab, a human anti-TNF- α monoclonal antibody administered subcutaneously every four weeks as monotherapy in patients with active rheumatoid arthritis despitemethotrexate therapy: 4-week results of clinical and radiographic assessments. *The Annual European Congress of Rheumatology 2010*, London, England

(分担研究者)

三森経世

1. Terao C, Ohmura K, Yamada R, Kochi Y, Okada Y, Nakamura Y, Yamamoto K, Melchers I, Lathrop M, Mimori T, Matsuda F: A haplotype of the human AIRE gene is associated with the risk for Rheumatoid Arthritis in Japanese population. European League Against Rheumatism 2011, London, June 2011
2. Terao C, Ohmura K, Mimori T, et al: A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with anti-citrullinated peptide antibody negative rheumatoid arthritis in Japanese. American College of Rheumatology 2011, Chicago, Nov. 2011.

宮坂信之

1. Hideyuki Iwai, Tadashi Hosoya, Yousuke Murakami, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka Identification of the TREM-1 ligand as a therapeutic target of arthritis 4th EAGOR 2011.10
2. Hideyuki Iwai, Tadashi Hosoya, Yousuke Murakami, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka. Identification of the TREM-1 ligand on B lymphocytes as a therapeutic target of arthritis 40th Annual Congress of Japan Society of Immunologists. 2011.11

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H.知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

【Ⅲ】研究分担報告

近赤外線カメラによる手指関節滑膜血流評価の有用性

研究分担者 小池 隆夫 (NTT 東日本札幌病院 院長、北海道大学 名誉教授)

研究協力者 深江 淳 (北海道内科リウマチ科病院 医長)

研究要旨

インドシアニングリーンは肝機能検査に用いられてきた緑色色素であり、生体に投与後、血中アルブミンと結合し近赤外線領域の800nmの励起光を吸収し、845nmの蛍光を発する。近赤外線は人体深部約2cmを貫通するが組織障害はなく、蛍光はデジタルビデオカメラで描出することが可能である。近年、この原理を利用して外科手術後の再開血流の評価や、リンパ管造影も行われている。我々は手指関節において、滑膜炎に伴う異常血流出現を同法を利用して描出可能か否かを検討した。活動性RA患者で、臨床的に腫脹を認めた手に対して、近赤外線カメラと関節超音波検査を施行し比較した。その結果、関節超音波検査にて滑膜異常血流陽性と判別された部位に、近赤外線カメラにて異常蛍光スポットを描出した。近赤外線カメラは低コスト、低浸襲であり、機器に特別な施設を必要としない。関節超音波検査と同様に滑膜異常血流を描出することが可能であり、特に習熟したテクニックは必要としない。近赤外線カメラはRAにおいて有用な検査となる可能性が考えられた。

A.研究目的

関節リウマチ(RA)は治療法の進展により、早期診断とともに、正確な関節炎の評価法が必要となっている。病理学的検討、画像検査(MRI、超音波検査)による検討から関節滑膜内には炎症と相関し異常血流が生じることが明らかとなっている。この異常血流を簡便に捉えることが可能な検査は関節炎評価に有用と考えられる。近赤外線カメラは、インドシアニングリーンを静脈内投与することで血流を赤外線領域に蛍光発光させ、デジタルカメラで画像として捉える検査である。既に臨床応用されており、低浸襲、低コスト、簡便な検査である。近赤外線カメラを使用して手指滑膜異常血流の画像化を試みた。

B.研究方法

近赤外線カメラ(浜松ホトニクス)を使用した。活動性RA患者の患手に対して、関節超音波検査と近赤外線カメラを同時期に施行した。カメラ本体は手より20cmに固定し、対側の肘静脈よりインドシアニングリーン(0.25mg/body)を静脈内投与した。

関節超音波検査は同法に熟練した3名の検査技師が施行した。使用機器は13MHzリニア型探触子(HITACHI EUP-L34P, HITACHI)、超音波断層装置(HITACHI EUB-6500, HITACHI)を使用した。本体に装備するVascularity modeを使い、寸法を固定した方形ROI内の血流ピクセルを測定し、関節血流値とした。

(倫理面への配慮)

本検討は病院倫理委員会を経て討議された後、了承された。患者には紙面同意を得た上で施行された。患者に