

が著効した Neuromyelitis Optica の 1 例, 第 24 回日本神経免疫学会、長野、9. 21, 2012

11) 中村雅一、松岡貴子、山口広美、三宅幸子、荒木学、岡本智子、林幼偉、小川雅文、村田美穂、荒浪利昌、山村隆：多発性硬化症における Fingolimod 投与の末梢血 B 細胞サブセットへの影響、第 40 回日本臨床免疫学会、東京、9. 27, 2012

12) 千葉麻子、田村直人、松平蘭、高碓芳成、山村隆、三宅幸子：Mucosal-associated invariant T 細胞の抗原非特異的活性化機序の解析、第 40 回日本臨床免疫学会、東京、9. 27, 2012

13) NAKAMURA Masakazu, ARANAMI Toshimasa, MIYAKE Sachiko, YAMAMURA Takashi : The effect of fingolimod on B cell subsets in peripheral blood of the patients with multiple sclerosis. 第 41 回日本免疫学会総会・学術集会、神戸、12. 5, 2012

14) CHIBA Asako, YAMAMURA Takashi, MIYAKE Sachiko : Cytokine mediated activation of Mucosal-associated invariant T cells. 第 41 回日本免疫学会総会・学術集会、神戸、12. 7, 2012

#### 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.

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

JAK 阻害薬 Tofacitinib により誘導される Egr2 陽性 PD-L1 陽性 CD4 陽性 T 細胞  
に関する研究

研究分担者	山本 一彦	東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科	教授
研究協力者	藤尾 圭志	東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科	特任講師
	岡本 明子	東京大学保健センター	助教
	岡村 僚久	東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科	特任助教

### 研究要旨

マウスで新規に見出した制御性 T 細胞 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup> T 細胞 (LAG3<sup>+</sup> Treg) は、転写因子 early growth response gene-2 (Egr-2) を発現し、強力な自己抗体産生抑制能を示す。したがって LAG3<sup>+</sup> Treg を誘導する薬剤があれば、自己抗体を産生する自己免疫疾患の治療につながると思われる。Janus kinase (Jak) 3 欠損マウスでは、CD4<sup>+</sup>T 細胞が LAG3 と IL-10 を産生することが知られている。Jak 阻害薬 tofacitinib は関節リウマチ (RA) において高い治療効果を発揮しているが、その作用機序は明らかでない。そこで本研究では Tofacitinib の LAG3<sup>+</sup>Treg 様の細胞に対する影響を検討した。B6 マウスに皮下ポンプを用いて Tofacitinib を 4 週間投与したところ、脾臓 LAG3<sup>+</sup> Treg が増加した。一方全身性エリテマトーデス (SLE) のモデルマウスである NZB/W F1 マウス (BWF<sub>1</sub> マウス) では B6 マウスと比較して脾臓 LAG3<sup>+</sup> Treg が 3 分の 1 に減少しており、Tofacitinib 投与後も LAG3<sup>+</sup> Treg 増加がみられなかった。Tofacitinib 添加下の培養により、B6、BWF<sub>1</sub> 両マウスの CD4<sup>+</sup>T 細胞で Egr2 および PD-L1 が誘導されたが、BWF<sub>1</sub> マウス CD4<sup>+</sup>T 細胞では最大限に Egr2 を誘導するために、より高濃度の tofacitinib を必要とした。Tofacitinib 添加下で培養した Egr2<sup>+</sup>PD-L1<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞は、BWF<sub>1</sub> マウスの抗 DNA 抗体産生と腎炎進展を抑制した。Egr2 の発現には NFAT が重要であり、tofacitinib 添加下の Egr2 誘導は、シクロスポリンにより阻害されたことから、tofacitinib 存在下で NFAT の核内移行が促進されている可能性が考えられた。Tofacitinib は生体内での LAG3<sup>+</sup> Treg 分化、試験管内での CD4<sup>+</sup>T 細胞の Egr2 発現を誘導し、自己免疫疾患の制御に関与する可能性が考えられた。Tofacitinib は TNF- $\alpha$  によるマクロファージでの NFAT 活性化を促進するとの報告があり、Tofacitinib による Egr2 の誘導への NFAT の関与について今後検討が必要である。Tofacitinib による Egr2 誘導機構の解明により、SLE を含めた自己免疫疾患のより良い治療法の解明につながることを期待される。

### A. 研究目的

我々が同定したマウス新規制御性 T 細胞 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup> T 細胞 (LAG3<sup>+</sup> Treg) は、転写因子 early growth response gene-2 (Egr-2) を発現し、強力な自己抗体産生抑制能を示す。さらにヒト CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup> T 細胞もマウス CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup> T 細胞と同様に試験管内の抗体産生抑制能を発揮するが、全身性エリテマトーデス (SLE) と関節リウマチ (RA) の患者では健常人よりも減少していることが判明している。我々は、サイトカイン IL-27 は CD4 陽性 T 細胞の Egr2 発現を誘導することを見出したが、IL-27 のヒトへの臨床応用にはまだ解明すべき課題も多い。したがって LAG3<sup>+</sup> Treg を誘導する薬剤が同定できれば、自己抗体を産生する自己免疫疾患の治療につながると思われる。Janus kinase (Jak) 3 欠損マウスでは、CD4<sup>+</sup>T 細胞が LAG3 と IL-10 を産生することが知られている。Jak 阻害薬 Tofacitinib は関節リウマチにおいて高い治療効果を発揮しているが、その作用機序は明らかで

ない。そこで Jak 阻害薬 Tofacitinib が CD4<sup>+</sup>T 細胞の制御能に与える影響を検討した。

### B. 研究方法

若齢 C57BL/6 (B6) および SLE のモデルマウスである NZB/W F<sub>1</sub> (BWF<sub>1</sub>) マウスに tofacitinib を 4 週間持続投与し、脾臓 LAG3<sup>+</sup> Treg をフローサイトメトリーで解析した。Tofacitinib 添加下に CD4<sup>+</sup>T 細胞を培養し、Egr-2 の発現を検討した。Tofacitinib 添加下に培養した CD4<sup>+</sup>T 細胞の細胞内の Egr-2 発現を検討し、この細胞を腎炎発症前の BWF<sub>1</sub> マウスに養子移入した。

(倫理面への配慮)

すべての研究は各施設の遺伝子倫理委員会の審査を受け、承認を受けた研究計画に則って実施された。

### C. 研究結果

B6 マウスでは Tofacitinib 投与後に脾臓 LAG3<sup>+</sup> Treg が増加した。一方 BWF<sub>1</sub> マウスでは定常状態でも B6 マウスと比較して脾臓 LAG3<sup>+</sup> Treg が 3 分の 1

に減少しており、Tofacitinib 投与後も LAG3<sup>+</sup>Treg 増加がみられなかった。Tofacitinib 添加下の培養により、B6、BWF<sub>1</sub> 両マウスの CD4<sup>+</sup>T 細胞で Egr2 および PD-L1 が誘導されたが、BWF<sub>1</sub> マウス CD4<sup>+</sup>T 細胞では最大限に Egr2 を誘導するために、より高濃度の Tofacitinib を必要とした。Tofacitinib 添加下で培養した Egr2<sup>+</sup>PD-L1<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞は、BWF<sub>1</sub> マウスの抗 DNA 抗体産生と腎炎進展を抑制した。Egr2 の発現には NFAT が重要であり、Tofacitinib 添加下の Egr2 誘導は、シクロスポリンにより阻害されたことから、Tofacitinib 存在下で NFAT の核内移行が促進されている可能性が考えられた。

#### D. 考察

Tofacitinib は生体内での LAG3<sup>+</sup>Treg 分化、試験管内での CD4<sup>+</sup>T 細胞の Egr2 発現を誘導し、自己免疫疾患の制御に関与する可能性が考えられた。Tofacitinib は TNF- $\alpha$  によるマクロファージでの NFAT 活性化を促進するとの報告があり、Tofacitinib による Egr2 の誘導への NFAT の関与について今後検討が必要である。また我々の研究室の検討では、Egr2 欠損 CD4 陽性 T 細胞では IL-27 刺激時の IFN- $\gamma$ 、IL-17 の産生が亢進しており、Egr2 の発現誘導は抑制性の応答時の炎症性サイトカインの抑制にもつながっている可能性が考えられる。RA に対する Tofacitinib 投与時には CD4 陽性 T 細胞からの IL-17 産生が抑制されていることも報告されているが、Egr2 が Batf を介した IL-17 産生を抑制していることも分かかってきており、Egr2 の発現誘導が Tofacitinib による RA 抑制機序の 1 つである可能性が考えられる。Egr2 の発現誘導は SLE など多くの自己免疫疾患において治療的アプローチとなる可能性があり、今後さらに解析を進める必要があると思われる。

#### E. 結論

Tofacitinib の作用機序については様々な報告があるが、本研究により tofacitinib が CD4<sup>+</sup>T 細胞に制御活性を付与し、炎症性サイトカインの発現を抑制している可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Okamura T, Fujio K, Sumitomo S, Yamamoto K. Roles of LAG3 and EGR2 in regulatory T cells. *Ann Rheum Dis*. 2012 Apr;71 Suppl 2:i96-100.
2. Fujio K, Okamura T, Sumitomo S, Yamamoto K. Regulatory T cell-mediated control of

autoantibody-induced inflammation. *Front Immunol*. 2012;3:28.

3. Okamoto A, Fujio K, Tsuno NH, Takahashi K, Yamamoto K. Kidney-infiltrating CD4<sup>+</sup> T-cell clones promote nephritis in lupus-prone mice. *Kidney Int*. 2012 Nov;82(9):969-79.
4. Fujio K, Okamura T, Sumitomo S, Yamamoto K. Regulatory cell subsets in the control of autoantibody production related to systemic autoimmunity. *Ann Rheum Dis*. 2012 Dec 19.
5. Iwasaki Y, Fujio K, Okamura T, Yanai A, Sumitomo S, Shoda H, Tamura T, Yoshida H, Charnay P, Yamamoto K. Egr-2 transcription factor is required for Blimp-1 mediated IL-10 production in IL-27 stimulated CD4(+) T cells. *Eur J Immunol*. 2013 Jan 25.

#### 2. 学会発表

1. 岡本明子、藤尾圭志、松本巧、岡村僚久、住友秀次、岩崎由希子、澁谷美穂子、庄田宏文、山本一彦 ; Tofacitinib は生体内で CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性制御性 T 細胞を誘導し、試験管内で CD4 陽性 T 細胞の Egr2 発現の誘導する 第 56 回日本リウマチ学会学術総会 ワークショップ 平成 24 年 4 月 26 日
2. 藤尾圭志、岡村僚久、住友秀次、岩崎由希子、岡本明子、松本巧、山本一彦 制御性 T 細胞と自己免疫 第 40 回日本臨床免疫学会総会 シンポジウム 平成 24 年 9 月 27 日
3. 岡本明子、藤尾圭志、松本巧、住友秀次、岡村僚久、山本一彦 Jak 阻害薬は生体内で CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性制御性 T 細胞を誘導し、試験管内で CD4 陽性 T 細胞の Egr2 発現の誘導する 第 40 回日本臨床免疫学会総会 ポスター発表 平成 24 年 9 月 28 日
4. Okamoto Akiko, Fujio Keishi, Ishigaki Kazuyoshi, Okamura Tomohisa, Yamamoto Kazuhiko. Tofacitinib induces CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>LAG3<sup>+</sup> regulatory T cells in vivo and the expression of Egr2 in CD4<sup>+</sup> T cells in vitro. 第 41 回日本免疫学会学術総会 平成 24 年 12 月 6 日

#### 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

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

全身性エリテマトーデス難治性病態の  
治療標的分子探索に関する研究に関する研究

研究分担者 竹内 勤 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 教授  
研究協力者 鈴木勝也 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 特任助教

研究要旨

初年度は、未治療活動性 SLE の末梢血の亜分画における遺伝子発現を DNA マイクロアレイで網羅的に定量、統合解析を行い新たな治療標的の探索を試みたところ、末梢血全体での一般的な解析では埋もれてしまっていた本疾患の特徴の一端を明らかにできた。本年度は、ハイスループットシーケンサーを用いることにより、SLE 末梢血のトランスクリプトームワイド解析 (RNAseq) を行った。SLE サンプルに特異的な 9 遺伝子が抽出された。また、昨年マイクロアレイにて抽出した免疫プロテアソームに関する SLE では健常人に比し高いカバレッジが得られその再現性が確認できた。一方で、膨大なデータを実際に扱うこととなり、目的に適した解析法の選択や偽陽性等の判別など、今後引き続き検討すべき課題も多く見つかった。

A. 研究目的

全身性エリテマトーデス (SLE) は、診断および治療の進歩により短期的予後は改善されたとの報告もあるが、1) 難治性病態が存在すること。2) 長期予後が十分とはいえないこと。3) 妊娠可能な若年女性に多いこと、4) 治療による副作用も少なくないことなど、依然として克服すべき課題は数多い。近年の SLE に対する生物学的製剤による臨床試験の結果が、関節リウマチほどのインパクトを与えていない要因としては、その病態が極めて複雑であるために治療に有用な標的分子が絞り込めていないことが考えられる。これまでに治療標的分子探索を目的とした SLE 活動期末梢血における遺伝子発現プロファイルに関する研究が行われた結果 IFN signature に代表される変化が明らかとなったが、SLE の複雑な病態をひも解くにはさらなる詳細な検討が必要と考えた。本研究課題では、新たな手法を用いた患者末梢血試料の詳細な解析により治療標的分子の探索を試みる。

初年度は、未治療活動性 SLE の末梢血を亜分画に分け、DNA マイクロアレイを用いて各分画の遺伝子発現を網羅的に定量、統合解析を行い、免疫プロテアソーム等の新たな治療標的分子の候補

を抽出し、昨年末に本会で報告した。本年度は、ハイスループットシーケンサーを用いることにより末梢血遺伝子発現についてトランスクリプトームワイド解析 (RNAseq) を行った。

B. 研究方法

SLE3 例、関節リウマチ (RA) 3 例、健常人 (HC) 6 例の計 12 検体の末梢血より Total RNA を抽出。Total RNA から poly A 鎖 (+) RNA を精製および数百 bp 程度に断片化した後、ランダムヘキサマーを用いて 2 本鎖 cDNA を合成。両末端に解析用のアダプターを付加し、鋳型となる cDNA ライブラリーを作製。SLE、RA 各 3 例、HC6 例はサンプル混合とし、合計 7 検体を Genome Analyzer IIx (Illumina) を用いて、ペアエンドシーケンシングを行った。塩基配列データを取得し、ヒトゲノム配列をリファレンス配列としてマッピングした。データはゲノムブラウザにインポートし、周辺の既公開ゲノムアノテーションとともにマッピングし比較解析を行った。

(倫理面への配慮)

倫理委員会承認の同意書の取得が得られた検体を用い、連結可能匿名化状態で解析施行。検体提供者のプライバシーについて最大限配慮を行った。

## C. 研究結果

SLE3 例、RA3 例、HC の 7 レーンおよびコントロール( $\phi$ X)のいずれも、総リードペア 5000-6000 万リードのデータが取得でき、平均 depth も 30 前後と十分なカバレッジを持つデータが得られた。各リードよりアダプター配列をトリミングの後、TopHat によりヒトゲノム(UCSC hg19)にマッピング。エキソン情報は、UCSC RefGene (RefSeq 由来)を参照し、エキソンごと、サンプルごとにリードカバレッジを算出したところ、一例として SLE サンプルに特異的な 9 遺伝子が抽出された。また、昨年マイクロアレイにて抽出した免疫プロテアソームに関する SLE では HC に比し高いカバレッジが得られ、その再現性が確認できた。

## D. 考察

RNAseq 法は一塩基レベルで遺伝子解析できる強力な手法である。今回はパイロット研究として試みたが、膨大なデータを実際に扱うこととなり、目的に適した解析法の選択や偽陽性等の判別など、今後引き続き検討すべき課題も多く見つかった。

## E. 結論

臨床分野の研究への本格的な応用も期待されている最先端テクノロジーの導入により、これまで全く手つかずであった知見に一步近づくことができた。引き続き解析をすすめ、難治性病態の解明およびその治療標的の探索に役立てていきたい。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Takeuchi T, Suzuki K, Kondo T, Yoshimoto K, and Tsuzaka K. CD3 z defects in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 71:i78-i81, 2012.
- 2) Takeuchi T and Suzuki K. CD247 variants and single nucleotide polymorphisms observed in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford)* in press.
- 3) 倉沢隆彦、鈴木勝也、竹内勤: 特集 自己免疫疾患の最近の話題と展望 マイクロアレイを用い

## 2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

- 1) 鈴木勝也、瀬戸山由美子、近藤恒夫、吉本桂子、亀田秀人、天野宏一、竹内勤: 未治療活動性 SLE 末梢血亜分画における遺伝子発現の統合解析、2012 年 4 月 27 日、第 56 回日本リウマチ学会学術集会、東京
- 2) 近藤恒夫、鈴木勝也、近藤恒夫、吉本桂子、亀田秀人、竹内勤、天野宏一: カルシニューリン阻害薬による全身性エリテマトーデス患者 TCR $\zeta$  鎖発現の回復効果、第 56 回日本リウマチ学会学術集会、2012 年 4 月 27 日、東京
- 3) 鈴木勝也、瀬戸山由美子、近藤恒夫、吉本桂子、亀田秀人、天野宏一、竹内勤: 未治療活動性 SLE 末梢血亜分画における遺伝子発現の統合解析、2012 年 9 月 27 日、第 40 回日本臨床免疫学会総会、東京
- 4) 鈴木勝也、竹下勝、竹内勤: 関節リウマチの新たなバイオマーカー、第 2 回 TNF 療法研究会、2012 年 10 月 18 日、東京
- 5) Suzuki K, Setoyama Y, Yoshimoto K, Kameda H, Takeuchi T. Integrative gene expression analysis in subpopulation of peripheral blood mononuclear cells from untreated active systemic lupus erythematosus patients 2012 年 12 月 7 日、第 41 回日本免疫学会学術集会、神戸
- 6) Suzuki K and Takeuchi T. Application of transcriptomics for systemic lupus erythematosus pathogenesis analysis 2012 年 12 月 12 日、第 35 回日本分子生物学会年会、福岡

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他  
該当なし

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

抗リン脂質抗体陽性全身性エリテマトーデスの血栓形成機序解析に関する研究

研究分担者 渥美 達也 北海道大学大学院医学研究科 免疫・代謝内科学分野・第二内科 教授  
研究協力者 藤枝 雄一郎 北海道大学大学院医学研究科 免疫・代謝内科学分野・第二内科 大学院生

研究要旨

【目的】全身性エリテマトーデスの代表的な合併症のひとつ、抗リン脂質抗体症候群（APS）は血栓性疾患である。我々はホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体（aPS/PT）がAPSの病態に関わっている病原性自己抗体であることを示したが、aPS/PTが刺激を細胞内部に伝達する受容体については不明である。そこでプロテオミクス的手法を用いてプロトロンビンおよびaPS/PTの結合に関与する分子を同定することを目的とした。【方法】FLAG タグ付加リコンビナントヒトプロトロンビン（rhFLAG-PT）を用い、RAW264.7 細胞膜上のプロトロンビン結合候補タンパクを質量分析により同定した。候補タンパクとプロトロンビンとの結合は、cotransfection assay、酵素免疫測定法（ELISA）、表面プラズモン共鳴（SPR）で確認した。【結果】質量分析により糖転移酵素であるRibophorinII（RPN2）がプロトロンビン結合タンパクとして同定された。プロトロンビンとRPN2間の結合をcotransfection assay、ELISA、SPRにより確認した。【結論】プロテオミクス解析からプロトロンビン結合タンパクとしてRPN2が同定された。RPN2は抗リン脂質抗体症候群における血栓形成病態に関与する可能性が示唆された。

A. 研究目的

全身性エリテマトーデスの代表的な合併症のひとつ、抗リン脂質抗体症候群（APS）は、血中に抗リン脂質抗体（aPL）が証明され、血栓症や妊娠合併症をきたす自己免疫疾患である。aPLは向凝固細胞（血小板、血管内皮細胞、単球）を活性化する病原性自己抗体と考えられている。我々はホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体（aPS/PT）がAPSの診断において有用であることを示し、aPS/PTのモノクローナル抗体である231Dによって向凝固細胞活性化が起こることを報告した。すなわちaPS/PTはAPSの病態に関わっている病原性自己抗体であると考えられるが、aPS/PTが刺激を細胞内部に伝達する受容体については不明である。そこでプロテオミクス的手法を用いてプロトロンビンおよびaPS/PTの結合に関与する分子を同定することを目的とした。

B. 研究方法

FLAG タグ付加リコンビナントヒトプロトロンビン（rhFLAG-PT）を作製し、rhFLAG-PTとRAW264.7細胞をインキュベートし、抗FLAG抗体でアフィニティー精製したものをSDS-PAGE後、銀染色した。ゲル上で分離したいくつかの候補蛋白をonline-nano LC-MS/MSおよびnrNCBI database MASCOT algorithmによって解析し、プロトロンビン結合タンパクを同定した。PTおよびRibophorinII（RPN2）との結合を確認するために、HisタグV5

タグ付加リコンビナントヒトRPN2（His-V5-RPN2）を作製し、cotransfection assay、酵素免疫測定法（ELISA）、表面プラズモン共鳴（SPR）をおこなった。

（倫理面への配慮）

患者検体を使用した全ての実験はヘルシンキ宣言および「臨床研究に関する倫理指針（平成20年7月31日改訂）」に従い、すべての対象者から書面にて事前にインフォームドコンセントを取得した。

C. 研究結果

質量分析によりMASCOT score 195点のRibophorinII（RPN2）がプロトロンビンと結合する膜タンパクの候補として同定された（図）。V5タグ、Hisタグ付加ヒトRPN2リコンビナントタンパク（V5-His-RPN2）を作製し、cotransfection assay、ELISA、SPRをおこなった。cotransfection assayでは、それぞれFLAG抗体とHis抗体で免疫沈降をおこなった結果、FLAGで免疫沈降したサンプルはHis-V5-RPN2であり、Hisで免疫沈降したサンプルは、rhFLAG-PTであり、PTとRPN2が特異的に結合することが示された。ELISAでは、V5-His-RPN2を固相化したプレートに、PTを添加し濃度依存性に特異的に結合することが示された。

SPR では、アナライト V5-His-RPN2 は、リガンドであるヒト精製PTに200RUで特異的に結合することが示された。

#### D. 考察

RPN2は粗面小胞体に局在するI型膜タンパク質で、オリゴ糖転移酵素複合体を構成する成分の一つである。新生ポリペプチド鎖にN-結合型糖鎖を付加する機能を持ち、糖タンパク質の品質管理機構に関与している。今回の実験により、プロトロンビンは単球表面に表出したRPN2に結合し、その結合はaPS/PTによる単球細胞の活性化に関与していると推定される。つまりaPS/PTが認識するエピトープの表出にRPN2との結合が関与している可能性がある。したがって、今後PS存在下、非存在下におけるRPN2とプロトロンビンの結合を比較する必要がある。この検討により、プロトロンビンの構造変化がPSのみに依存するかが明らかとなる。またRPN2が糖転移酵素であることから考察すると、RPN2が細胞表面に表出することで、プロトロンビンの糖鎖修飾に影響を与え、プロトロンビンの機能異常や抗体との結合率に変化が生じている可能性も考えられる。

#### E. 結論

プロテオミクス解析からAPSの主要な対応抗原であるプロトロンビン結合タンパクとして、糖転移酵素であるRPN2を同定した。今後APSにおけるRPN2が関与する血栓形成の病態を検討する。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Otomo K, Atsumi T, Amengual O, Fujieda Y, et al.. The efficacy of Antiphospholipid Score for the diagnosis of antiphospholipid syndrome and its predictive value for thrombotic events. *Arthritis Rheum* 64: 504-12, 2012
2. Kiyohara C, Washio M, Horiuchi T, Asami T, et al.. Risk modification by CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms in the association of cigarette smoking and systemic lupus erythematosus in a

Japanese population. *Scand J Rheumatol* 41:103-9, 2012

3. Noda S, Ogura M, Tsutsumi A, Udagawa T, Kamei K, Matsuoka K, Kitamura H, Atsumi T, Ito S. Thrombotic microangiopathy due to multiple autoantibodies related to antiphospholipid syndrome. *Pediatr Nephrol* 4: 681-5, 2012

4. Hirakawa E, Saito K, Hirata S, Atsumi T, Koike T, Tanaka Y. A case of catastrophic antiphospholipid antibody syndrome complicated with systemic lupus erythematosus, double positive for anti-cardiolipin/ $\beta(2)$  glycoprotein I and anti-phosphatidylserine/prothrombin autoantibodies. *Mod Rheumatol* 22:769-73, 2012

5. Hashimoto T, Yasuda S, Koide H, Kataoka H, Horita T, Atsumi T, Koike T. Aberrant splicing of the hRasGRP4 transcript and decreased levels of this signaling protein in the peripheral blood mononuclear cells in a subset of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 13: R154, 2011

6. Kato M, Atsumi T. Management of resolved hepatitis B in patients with low anti-hepatitis B surface titer who undergo aggressive immunosuppressive therapy: reply to the letter by Mori. *J Rheumatol* (in press)

7. Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Takahashi A, Horita T, Atsumi T, et al. A Genome-Wide Association Study Identified AFF1 as a Susceptibility Locus for Systemic Lupus Erythematosus in Japanese. *PLoS Genet* 8:e1002455, 2012

8. Giannakopoulos B, Gao L, Qi M, Wong JW, Yu DM, Vlahoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM, Atsumi T, Koike T, Hogg P, Qi JC, Krilis SA. Factor XI is a substrate for oxidoreductases: Enhanced activation of reduced FXI and its role in antiphospholipid syndrome thrombosis. *J Autoimmunol* 39:121-9, 2012

9. Fujieda Y, Atsumi T, Amengual O, Odani T, Otomo K, Kato M, Oku K, Kon Y, Horita T, Yasuda S, Koike T. Predominant prevalence of arterial

thrombosis in Japanese patients with the Antiphospholipid Syndrome. Lupus (in press)

3. その他  
なし

10. Kiyohara C, Washio M, Horiuchi T, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Tada Y, Takahashi H. Cigarette Smoking, Alcohol Consumption, and Risk of Systemic Lupus Erythematosus: A Case-control Study in a Japanese Population. J Rheumatol 39:1363-70, 2012.

11. Oku K, Amengual O, Atsumi T. Pathophysiology of thrombosis and pregnancy morbidity in the antiphospholipid syndrome. Eur J Clin Invest 42. 1126-35, 2012.

12. Odani T, Yasuda S, Ota Y, Fujieda Y, Kon Y, Horita T, Kawaguchi Y, Atsumi T, Yamanaka H, Koike T. Up-regulated expression of HLA-DRB5 transcripts and high frequency of the HLA-DRB5\*01:05 allele in scleroderma patients with interstitial lung disease. Rheumatology 51. 1765-74, 2012

13. Amengual O, Atsumi T, Oku K, Suzuki E, Horita T, Yasuda S, Koike T. Phospholipid scramblase 1 expression is enhanced in patients with antiphospholipid syndrome. Mod Rheumatol (in press).

## 2. 学会発表

Fujieda Y, Amengual O, Kanetsuka Y, Odani T, Otomo K, Oku K, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Kuroki K, Maenaka K, Matsumoto M, Hatakeyama S, Atsumi T. Ribophorin II is involved in the tissue factor expression mediated by phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody on monocytes The 76th annual meeting of the American College of Rheumatology, Washington D.C, USA, 10-14, November, 2012.

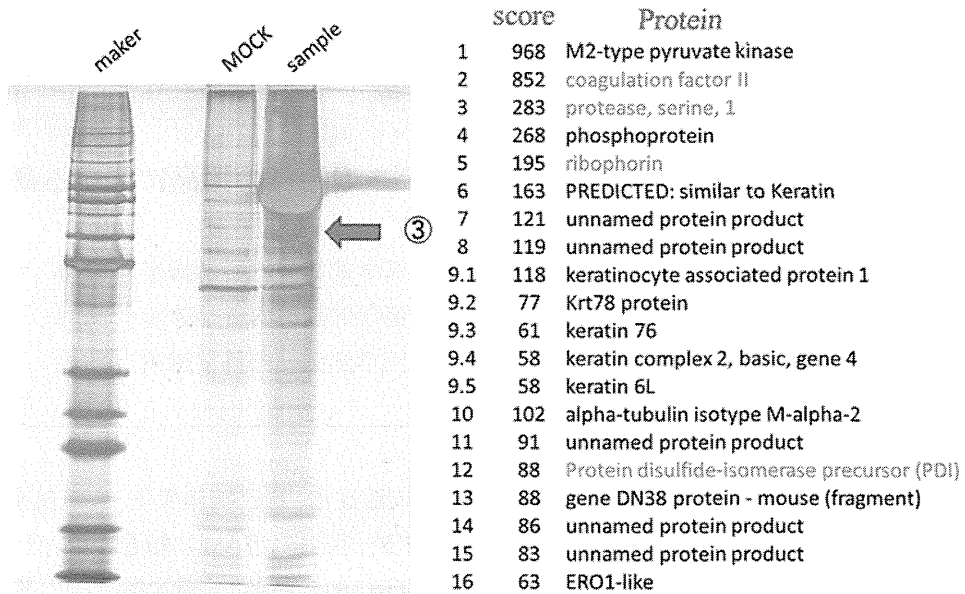
## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし



A



B

Start-stop	Charge	Sequence	Delta mass	Mascott score
289-305		LQVSNVLSQPLAQAAVK	0.9051	90
395-400		VTYPAK	0.7259	7
442-455		TGQEVVFAEPDNK	1.1808	82
460-467		FELDTSER	1.1977	5
504-522		FPEEEAPSTVLSQSLFTP	0.7574	80

図：A：③で抽出されたタンパク。5番目に MASCOT score 195 点の RibophorinII (RPN2) が抽出された。

B：5つのペプチドが RPN2 のペプチドとして同定された。

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

B 細胞を標的とした全身性エリテマトーデスの治療の開発に関する研究

研究分担者	田中良哉	産業医科大学医学部第一内科学講座	教授
研究協力者	山岡邦宏	産業医科大学医学部第一内科学講座	講師
研究協力者	岩田 慈	産業医科大学医学部第一内科学講座	助教

研究要旨

全身性エリテマトーデス(SLE)の発症過程では、T細胞やB細胞の活性化、自己抗体産生、免疫複合体の組織沈着を介した多臓器障害が生ずる。これまでB細胞受容体の細胞内アダプター蛋白のITAMに結合してシグナルを伝達するチロシンキナーゼ Syk を介する B 細胞活性化機構を解明した。本年度は、SLE 患者B細胞におけるリン酸化 Syk の発現を解析した。その結果、SLE 患者B細胞では、Syk の発現は健常人 B 細胞と著変ないが、リン酸化 Syk の発現は亢進し、特に、疾患活動性に応じて発現が増強していた。さらに、SLE 患者B細胞ではその下流の TRAF6 発現が無刺激下で亢進していた。本年度はさらに、Syk の下流に存在し、シグナルを集約するハブキナーゼである Btk に着目し、その役割を解析した。その結果、B細胞の活性化はBCR-Btkを介するシグナル経路、及び、それによるIL-21-Jak1/3-Stat1 経路の増幅回路が介在し、Btk 阻害により B 細胞活性化が完全に制御できた。以上より、SLE の病態形成において B 細胞の Syk が中心的に関与すると共に、Syk や Btk 阻害薬による B 細胞活性化阻害を介した治療への臨床応用が期待された。

A. 研究目的

全身性エリテマトーデス(SLE)の発症過程では、T細胞やB細胞の活性化、自己抗体産生、免疫複合体の組織沈着を介した多臓器障害が生ずる。その過程には Th2 細胞や IL-10 等の関与が報告されるが、多くは不詳である。平成 23 年度には、B細胞受容体の細胞内アダプター蛋白のITAMに結合してシグナルを伝達するチロシンキナーゼ Syk を介する B 細胞活性化機構を解明してきた。平成 24 年度は、SLE 患者B細胞におけるリン酸化 Syk の発現を解析してB細胞の活性化における役割を解明し、SLE 病態への関与を明らかにすることを目的とした。一方、B細胞のクラススイッチには、多様な細胞外からの刺激を細胞内に伝達するシグナルに異常があると考えられる。平成 24 年度は、Syk の下流に存在し、BCR や共刺激分子、サイトカインを介するシグナルを集約するハブキナーゼである Btk (Bruton's tyrosine kinase) に着目し、B細胞活性化における役割を解析し、SLE の病態形成過程への関与を解明することを目的とした。

B. 研究方法

健常人とSLE患者から末梢血単核球を分離し、ナイーブ B 細胞 (CD19+CD27-)とメモリー B 細胞 (CD19+CD27+) における増殖、共刺激分子や Syk の発現、サイトカインや抗体産生能に対する影響を確認すると共に、特異性の高い Syk 阻害剤 (BAY61-3606) により、その効果および作用機序を検討した。また、CD19<sup>+</sup>B 細胞を BCR 架橋、sCD40L/ sBAFF、sIL-21 で活性化し、B細胞のクラススイッチ、分化、抗体産生能に対する影響を検討した。また、Btk 特異的阻害剤 (ONO-A) を用いて、B細胞活性化に於ける Btk の関与を検討した

(倫理面への配慮)

臨床検体を使用する場合には、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。患者の個人情報や所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、人権擁護に努めると共に、患者は、経済的負担を始め如何なる不利益や危険性も被らない事を明確にする。

## C. 研究結果

①SLE 患者 58 例を検査し、末梢血 CD19+細胞における Syk のリン酸化は、健常人に比し有意に亢進し、SLE の疾患活動性指標 SLEDAI と有意な相関を示した。②SLE 患者 CD19+細胞における TRAF6 発現は、リン酸化 Syk の発現、及び、疾患活動性と有意に相関した。③SLE 患者 B 細胞を *in vitro* において Syk 阻害剤で処理すると、リン酸化 Syk と TRAF6 の発現が有意に抑制された。④末梢血 B 細胞の体細胞突然変異、クラススイッチに重要な *AICDA* の発現は、BCR 架橋刺激および sCD40L/sBAFF 刺激、または、IL-21 の各単独刺激では、わずかに誘導されるのみであった。⑤しかし、BCR、sCD40L/sBAFF、sIL-21 の 3 者の刺激の共存により、強力に誘導された。⑥*BCL-6*、*XBP-1* の発現、IgG 抗体産生も BCR、sCD40L/sBAFF、sIL-21 の 3 者の刺激共存により、強力に誘導された。⑦誘導された *AICDA*、*BCL-6*、*XBP-1*、IgG 抗体産生は、Btk 特異的阻害剤により、濃度依存性に IL-21 単独刺激と同程度まで抑制された。⑧B 細胞株 BJAB では sIL-21 刺激後、細胞質、核内ともに Stat1 と Stat3 のリン酸化を認めるが、Btk を knock down すると、細胞質では Stat1、Stat3 のリン酸化を認めたが、核内では Stat1 のリン酸化が認められなかった。

## D. 考察

ヒトメモリー B 細胞では、BCR を介するシグナルは Syk を介して TLR9 および TRAF-6 を強力に発現誘導し、BCR と共刺激分子に加えて TLR を介するシグナルの共存により、活性化が最大限に誘導されることが示された。また、SLE 患者 B 細胞では、BCR の Syk を介するシグナルが TRAF-6 の発現を誘導し、効率的な CD40、TLR9 のシグナルを促すことで、B 細胞の分化、活性化を齎し、SLE の病態形成において重要な役割を担うことが示唆された。SLE などの自己免疫疾患の発症、及び、増悪の際には、ss-DNA、ds-DNA、ウイルス蛋白、細菌の膜蛋白などによる刺激がトリガーとなるが、これらの結果は BCR-Syk の刺激が TLR を

誘導して、これらのトリガーの受容機構を明らかにした。さらに、Syk 阻害により 3 者のシグナルを遮断することから、Syk を標的とした低分子量化合物を用いた B 細胞活性化の制御を介して SLE への治療応用が示唆された。

一方、ヒト B 細胞は、BCR を介する抗原シグナルと CD40 などの共刺激シグナルの共存により活性化される。我々は、B 細胞受容体の細胞内アダプター蛋白の ITAM に結合してシグナルを伝達するチロシンキナーゼ Syk を介する B 細胞活性化機構を解明してきた。Btk は Syk の下流に存在し、多様なシグナルを集約するハブキナーゼであるが、今回 BCR/CD40/BAFF の Btk リン酸化を介したシグナルは、IL-21 の効率的なシグナル伝達を誘導し、B 細胞に最大限の活性化を誘導する事が明らかになった。即ち、B 細胞の分化、活性化誘導には、BCR/CD40/BAFF-Btk を介するシグナル伝達経路、それによる IL-21-Jak1/3-Stat1 経路の増幅回路が介在することが明らかとなった。また、Btk 阻害薬などによりこれらのシグナル伝達経路を阻害し、B 細胞活性化が完全に制御できた。以上より、Btk を標的とした低分子量化合物を用いた B 細胞活性化の制御を介した自己免疫疾患への治療応用が示唆された。

## E. 結論

SLE 患者 B 細胞では、疾患活動性に応じて Syk リン酸化と TRAF6 発現が無刺激下で亢進して病態形成に関与していた。また、B 細胞の活性化は、BCR-Btk を介するシグナル経路、及び、それによる IL-21-Jak1/3-Stat1 経路の増幅回路が介在し、Btk 阻害により B 細胞活性化が完全に制御できた。今後、SLE に対する Btk や Syk 阻害薬による B 細胞活性化阻害を介した治療応用が期待された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Iwata S, Saito K, Hirata S, Tanaka Y. Phenotypic changes of lymphocyte in a patients with IgG4-related disease after corticosteroid therapy. *Ann Rheum Dis* (2012) 71, 2058-2059

2. Iwata S, Yamaoka K, Niiro H, Nakano K, Wang S-P, Akashi K, Tanaka Y. Amplification of toll-like receptor-mediated signaling through Syk in human B cell activation. *J Allergy Clin Immunol* (2012) 129, 1594-1601
3. Tak PP, Mease PJ, Genovese MC, Kremer J, Haraoui B, Tanaka Y, Bingham III CO, Ashrafzadeh A, Travers H, Safa-Leathers S, Kumar S, Dummer W. 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* (2012) 64, 360-370
4. Iwata S, Saito K, Tokunaga M, Tanaka Y. B-cell or T-cell-dominant recurrence after rituximab therapy in patients with SLE. *Ann Rheum Dis* (2012) 71, 1749-1750
5. Sonomoto K, Yamaoka K, Oshita K, Fukuyo S, Zhang X, Nakano K, Okada Y, Tanaka Y. IL-1 $\beta$  induces differentiation of human mesenchymal stem cells into osteoblasts via the Wnt5a/Ror2 pathway. *Arthritis Rheum* (2012) 64, 3355-3363
6. Maeshima K, Yamaoka K, Kubo S, Nakano K, Iwata S, Saito K, Ohishi M, Miyahara H, Tanaka S, Ishi K, Yoshimatsu H, Tanaka Y. A JAK inhibitor tofacitinib regulates synovitis through inhibition of IFN- $\gamma$  and IL-17 production by human CD4 $^{+}$  T cells. *Arthritis Rheum* (2012) 64, 1790-1798
7. Tanaka Y. Next stage of RA treatment: TNF-inhibitor-free remission will be a possible treatment goal? *Ann Rheum Dis* (in press)
8. 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, Takeuchi T. A merged presentation of clinical and radiographic data using probability plots in a clinical trial, the JESMR study. *Ann Rheum Dis* (in press)
9. Takeuchi T, Harigai M, Tanaka Y, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, Miyasaka N, Koike T, Kanazawa M, Oba T, Yoshinari T, Baker D, and the GO-MONO study group. Golimumab monotherapy in Japanese patients with active rheumatoid arthritis despite prior treatment with disease-modifying anti-rheumatic drugs: results of the Phase 2/3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled GO-MONO study through 24 weeks. *Ann Rheum Dis* (in press)
10. van der Heijde D, Tanaka Y, Fleischmann R, Keystone E, Kremer J, Zerbini C, Cardiel MH, Cohen S, Nash P, Song YW, Tegzová D, Wyman BT, Gruben D, Benda B, Wallenstein G, Krishnaswami S, Zwillich SH, Bradley JD, Connell CA and the ORAL Scan investigators. Tofacitinib (CP-690,550) in patients with rheumatoid arthritis on methotrexate: 12 month data from a 24 month Phase 3 randomized radiographic study. *Arthritis Rheum* (in press)
11. Tanaka Y, Maeshima Y, Yamaoka K. In vitro and in vivo analysis of a Jak inhibitor in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* (2012) 71, i70-i74
12. Tanaka Y, Harigai M, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, Mitasaka N, Koike T, Kanazawa M, Oba T, Baker D & the GO-FORTH study group. Golimumab, a human anti-TNF- $\alpha$  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* (2012) 71, 817-824
13. Sawamukai N, Satake A, Schmidt AM, Lamborn IT, Tanaka Y, Kambayashi T. Cell autonomous role of TGF $\beta$  and IL-2 receptor in CD4 $^{+}$  and CD8 $^{+}$  inducible regulatory T cell generation during graft-versus-host disease. *Blood* (2012) 119: 5575-83
14. Harigai M, Tanaka Y, Maisawa S; on behalf of the JA21963 study group. Safety and efficacy of various dosages of ocrelizumab in Japanese rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate therapy: a placebo-controlled, double-blind,

parallel-group study. *J Rheumatol* (2012) 39, 486-495

## 2. 学会発表

1. Tanaka Y. Next stage of RA treatment: Biologics-free remission will be a possible treatment goal? Advances in Targeted Therapies 2012, Baveno, Italy, 2012
2. Tanaka Y. The Maximization of Efficacy of Tocilizumab for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. The 8th International Congress on Autoimmunity, Granada, Spain, 2012

## 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

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

多発性筋炎・皮膚筋炎の記述疫学—臨床調査個人票の解析—

研究分担者 太田 晶子 埼玉医科大学医学部公衆衛生学 講師  
研究協力者 石原 正一郎 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学分野 助教  
上阪 等 東京医科歯科大学大学院膠原病・リウマチ内科 准教授

## 研究要旨

臨床調査個人票（個人票）を利用し、多発性筋炎・皮膚筋炎の疫学特性を明らかにし、さらに個人票データベースの充実や課題について考察した。

（1）個人票の入力率を確認し、多発性筋炎・皮膚筋炎の有病率、罹患率を推計した。2003年度～2011年度の個人票入力率は約50～80%であり、2009年度が80%と最も高かった。わが国の2010年度の多発性筋炎・皮膚筋炎の受給者数は約17,000人、有病率人口10万対13、2010年の罹患率は100万人年当り14と推計された。

（2）入力率が80%と最も高い2009年度データを用いて、性、年齢、発病後期間別の有所見割合、治療状況を観察した。2009年度の多発性筋炎・皮膚筋炎の個人票入力件数は13,710（男3,656、女10,054）、対象者の発病後期間平均値は全体9.2年（男8.2年、女9.6年）であった。新規受給者における臨床所見において、筋症状の有所見割合は年齢による大きな違いは認められなかったが、皮膚症状、抗Jo-1抗体、間質性肺炎の合併、悪性腫瘍の合併などの有所見割合に年齢による違いが認められた。皮膚症状は18歳未満で有所見割合が高かった。抗Jo-1抗体陽性は18歳未満には認められず、成人における陽性割合は年齢による違いは認められなかった。間質性肺炎の合併率は、40歳以上で約50%と高く、18歳未満では約20%であった。悪性腫瘍の合併は、18歳未満では認められず、ほとんどが40歳以上で男に多く、特に60歳以上の男の合併率は約20%と女の2倍であった。悪性腫瘍の合併を除き、多くの臨床所見において有所見割合に大きな性差は認められなかった。40歳以上の抗Jo-1抗体陽性者の間質性肺炎合併率は約90%であり、抗体陰性者の2倍以上と高かった。悪性腫瘍合併率は、60歳以上の皮膚所見ありの者で約20%と特に高く、皮膚所見なしの者に比べて約2倍であった。多くの臨床症状の有所見割合は、発病後1年、1年以降と経過とともに低下し、発病後2年以降は変化が少なかった。治療の主体である副腎皮質ステロイド剤の使用状況は性・年齢による大きな違いはなかったが、発病後5年以上経過するとステロイド使用の割合が90%から80%程度にやや低下していた。

これらの知見は、現在受給している者についての情報であり、既に死亡した者、あるいは改善により受給中止した者は含まれていない点に考慮を要する。

## A. 研究目的

多発性筋炎・皮膚筋炎（polymyositis/ Dermatomyositis: PM/DM）は、厚生労働省により特定疾患治療研究事業として医療受給対象疾患に指定されている。特定疾患治療研究事業は、患者の医療費の自己負担分を公費で補助し、受療を促進することで多くの患者情報を得て病因解明

や治療法開発などの調査研究を推進しようとするものである。

特定疾患治療研究事業において、臨床調査個人票（以下、個人票）が全ての医療受給申請で提出され、これにより患者（医療受給者）の基本的臨床情報を得ることができる。厚生労働省の難病患者認定適正化事業において、

個人票の内容は、都道府県(あるいは保健所)によって、WISH(厚生労働省行政情報総合システム)に導入されている特定疾患調査解析システムに電子入力され、オンラインで厚生労働省へデータが届く仕組みになっている。2003年度以来、本格的に電子入力されるようになり、その利用が可能となっている。

本研究では、臨床調査個人票(個人票)を利用し、多発性筋炎・皮膚筋炎の疫学特性を明らかにすることを目的とする。さらに個人票データベースの充実や課題について考察する。

昨年度、「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の個人票を利用し、多発性筋炎・皮膚筋炎の個人票の電子入力の現状(入力率)を確認し、多発性筋炎・皮膚筋炎単独の受給者数(有病数)の推計、患者の性、年齢、発病年齢分布、臨床所見(症状、診断、治療、合併症等)の有所見割合などの基本的集計を行った。個人票の入力率は継続的に確認していく必要がある。本年度も引き続き入力率を確認し、有病率に加えてさらに罹患率の推計を行い、臨床所見の有所見割合を性・年齢別、発病後期間別に詳細に明らかにするため、個人票の解析を行った。

## B. 研究方法

2012年7月現在電子入力済みの、2003年度から2011年度までの「皮膚筋炎及び多発性筋炎」と「強皮症」の個人票を利用した。個人票は厚生労働省に文書で利用申請し、使用許可を得た。

同じ年度に新規、更新両方が入力されていた例については、新規のみ採用した。その他、同一個人が重複して入力されていた場合は1件のみを採用して解析した。

個人票は必ずしもすべてが電子入力されているのではなく、その割合、入力率を確認することが必要である。そのための分母、受給者の全数を厚生統計である衛生行政報告例<sup>1)~3)</sup>から得た。入力率は電子入力された個人票数/公表された受給者数として求めた。ただし、ここで得られる受給者数は、多発性筋炎・皮膚筋炎だけのものではなく、多発性筋炎・皮膚筋炎と強皮症の2疾患を合せた、「強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎」の数となっている。多発性筋炎・皮膚筋炎単独での受給者数は残念ながらわからない。行政統計上2疾患合計の受給者数として公表されているためである。そのため入力率は、

「強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎」の2疾患合せた形で算出した。多発性筋炎・皮膚筋炎の入力率は、多発性筋炎・皮膚筋炎と強皮症の2疾患合計の入力率と変わらないものと仮定した。

有病率の推計：多発性筋炎・皮膚筋炎単独の受給者数が公表されていないが、臨床調査個人票では当然、強皮症と多発性筋炎・皮膚筋炎は区別できる。そこで電子入力された個人票の資料を用いて、多発性筋炎・皮膚筋炎単独の受給者数(全数)を推計した。すなわち「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の個人票入力件数を、「強皮症」と「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の、両者合計「強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎」の入力率で割ってこれを「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の受給者数全数とした。

罹患率の推計：個人票の発病年の情報を用い、2003~2011年度の各登録年について発病(罹患)年別新規受給者数を求め、これを登録年の入力率で割り戻した値を(その登録年に登録された)発病年別罹患数とした。発病(罹患)年別新規受給者数を2003~2011年度の全ての登録年度について合計したものをその年の罹患患者数とした。式にすると次の通りである。

$$A_i = \sum_{j=1}^{2011} \frac{N_{ij}}{P_j}$$

$A_i$  :  $i$ 年の「皮膚筋炎及び多発性筋炎」罹患数

$N_{ij}$  :  $j$ 年に登録された $i$ 年が発病年の「皮膚筋炎及び多発性筋炎」患者数 ( $i \leq j$ )

$P_j$  :  $j$ 年の「強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎」の入力率  
 $i$  : 2003, 2004, ..., 2011

なお、有病率、罹患率の分母として、2005年と2010年は国勢調査人口の、その他の年は推計人口の総人口(10月1日現在)を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、特定疾患治療研究事業における臨床調査個人票の研究目的利用に関する要綱に基づき実施した。利用したデータには、個人名、住所など個人を同定できるものは含まれていない。

## C. 研究結果

### 1) 個人票入力率(2012年7月現在)

「皮膚筋炎及び多発性筋炎」と「強皮症」の2疾患合

せた個人票入力件数、入力率を表1に示した。2003年度から2011年度の各年の「強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎」の全受給者数は約32,000～42,000であり、2003年度から2011年度の個人票電子入力件数(2012年7月現在)は、約19,000～33,000となっている。2003年度から2011年度の各年の入力率は約50%～80%である。入力率は概ね60%前後であるが、2009年度は80%と高い入力率であった。都道府県別入力率の格差は大きく、ほぼ100%の入力率をしている県もあれば全く入力していない県もある。また同じ都道府県でも年によって、入力したりしなかったりする。全体の入力率が80%と最も高かった2009年度データでは、入力率が95%以上の県数は32、10%未満の県数は4であった。

「強皮症」と「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の各入力件数の内訳は表2のとおりである。2003年度から2011年度における「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の各年の入力件数は約8,000～13,000であった。

## 2) 多発性筋炎・皮膚筋炎の有病率、罹患率の推計

「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の臨床調査個人票入力件数と推計受給者数を表3に示した。「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の各年入力件数を各年の入力率で割り戻すと、2003年度から2011年度の各年の多発性筋炎・皮膚筋炎の推計受給者数(全受給者数)は、約13,000～17,000となる。新規受給者の各年の入力件数を同じ入力率で割り戻すと、約800～2,300となる。多発性筋炎・皮膚筋炎の2010年度の推計受給者数(全受給者数)は約17,000人、新規受給者数は約2,300人と推計された。2003年度から2011年度にかけて、多発性筋炎・皮膚筋炎の受給者数は約13,000人から約17,000人に増加していた。表3で求めた推計受給者数を日本の人口で割った値、いわゆる有病率を表4に示した。わが国の多発性筋炎・皮膚筋炎の2010年度の有病率は、人口10万対13(2003年度～2011年度の各年の有病率は人口10万対10～13)と推計された。

表5に、各登録年度について、発病(罹患)年別新規受給者数を示した。発病(罹患)年別新規受給者数を、2003年度～2011年度の全ての登録年について合計し各年の罹患患者数を得た。ただし、ここで、各登録年度の発病(罹患)年別新規受給者数は、各登録年度の入力率で割り戻したものとしている。得られた各年の罹患患者数を

わが国の各年の人口で割った値、罹患率を表6に示した。わが国の多発性筋炎・皮膚筋炎の2010年の罹患率は100万人年当り14(2004年～2011年度の罹患率は100万人年当り10～14)と推計された。

## 3) 多発性筋炎・皮膚筋炎の臨床所見の有所見割合、治療状況：性・年齢別、発病後期間別の解析結果

データ入力率が80%と最も高かった2009年度データを用いて、性、年齢、発病後期間別の有所見割合、治療状況を観察した。

2009年度の多発性筋炎・皮膚筋炎の個人票入力件数は13,710(男3,656、女10,054)、うち新規受給者数は1,459であり、これら13,710人を解析対象とした。解析対象の性、年齢分布を表7に示した。全体の性比(女/男)は2.8、年齢分布は18歳未満1.9%、18-39歳9.2%、40-59歳32.9%、60歳以上56.1%であった。対象者の発病後期間の分布を表8に示した。発病後期間平均値は全体で9.2年、男8.2年、女9.6年であり、女の方が長かった。

### ① 性、年齢別の有所見割合

性・年齢別の有所見割合を新規・更新別に図1の1)～15)示した。

皮膚所見について図1の1)～3)に示した。新規受給者における皮膚所見の有所見割合は、ヘリオトロープ疹、ゴットロン徴候、四肢伸側の紅斑とともに、小児(18歳未満)で有所見割合が高く、年齢が高くなるとともに、有所見割合は低下した。特にヘリオトロープ疹は、小児で約70%と高く、小児と成人の差が大きかった。

筋所見について、図1の4)～8)に示した。新規における筋所見(筋力低下、筋痛、血清中筋原性酵素の上昇)の有所見割合は、約80%に認められた。筋力低下、血清中筋原性酵素上昇の有所見割合は、性、年齢で大きな違いはなかったが、40歳代でやや低かった。更新では、筋力低下の有所見割合は、高齢者において高くなるのに対して、血清中筋原性酵素上昇の有所見割合は、年齢による違いは認められず、年齢による有所見割合の特性に違いが認められた。新規における筋電図の筋原性変化、筋生検で筋炎の病理所見の有所見割合も、年齢による違いはあまり認められなかった。

関節炎や炎症所見について、図1の9)～12)に示した。新規において、関節炎又は関節痛、発熱は約40～



50%に認められ、18-39歳でやや高かった。CRP 上昇は約60%で認められ、18歳未満では約20%と低かった。

抗Jo-1抗体について図1の13)に示した。新規において、抗Jo-1抗体は、18歳未満で陽性者はいなかった。成人における陽性割合は年齢による違いは認められなかった。

間質性肺炎、悪性腫瘍の合併について図1の14)、15)に示した。新規において、間質性肺炎の合併は、40歳以上で約50%と高く、18歳未満では約20%であった。新規において、悪性腫瘍の合併は、18歳未満では認められず、ほとんどが40歳以上で男に多く、特に60歳以上の男の合併率は約20%と女の2倍であった。

#### ② 間質性肺炎の合併と抗Jo-1抗体、皮膚所見との関係

抗Jo-1抗体陽性/陰性別の間質性肺炎の合併率を図2に示した。40歳以上の抗Jo-1抗体陽性者における間質性肺炎の合併率は約90%、陰性者における合併率は約40%であった。各年齢とも抗Jo-1抗体陽性者の合併率は陰性者の2倍以上高かった。

皮膚所見の有無別の間質性肺炎の合併率を図3に示した。皮膚所見有りの者の間質性肺炎の合併率は皮膚所見なしの者に比べて、各年齢とも1.2倍ほど高かった。

#### ③ 悪性腫瘍の合併と抗Jo-1抗体、皮膚所見の関係

抗Jo-1抗体陽性/陰性別の悪性腫瘍の合併率を図4に示した。成人における悪性腫瘍の合併率は、抗Jo-1抗体陰性者の方が高かった。

皮膚所見の有無別の悪性腫瘍の合併率を図5に示した。新規において、悪性腫瘍の合併率は、皮膚所見ありの者で高く、60歳以上で合併率約20%と特に高く、皮膚所見なしの者に比べて約2倍であった。

#### ④ 発病後期間別の有所見割合

発病後期間別の有所見割合を性別に図6の1)～15)に示した。

皮膚所見、筋所見ともに有所見割合は発病後1年、1年以降に下がって、2年以降はあまり変化は認められなかった(図6の1)～7))。ただし、筋力低下所見は、発病後15年以上のものでやや有所見割合高くなった。その他多くの臨床所見の有所見割合は、発病後1年、1年以降と経過にともない低下し、発病後2年以降は変化が少なかった。間質性肺炎の合併率は、発病後4-5年くらいまで少しずつ低下していく様子が認められた(図6

の14))。悪性腫瘍は、発病後1-2年で合併率は低くなった(図6の15))。

#### ⑤ 性、年齢、発病後期間別の治療状況

現在の治療状況の性、年齢別の解析結果を図7の1)、2)に、発病後期間別の解析結果を図8の1)、2)に示した。

副腎皮質ステロイドの使用について、図7の1)、図8の1)に示した。新規では約90%が副腎皮質ステロイドを使用しており、性・年齢による違いは認められなかった。発病後5年以上経過するとステロイド使用割合が約90%から80%程度にやや低下していた。免疫抑制剤の使用について、図7の2)、図8の2)に示した。免疫抑制剤は、新規では約30%、更新では約40%が使用しているが、60歳以上では使用割合がやや低かった。免疫抑制剤の使用割合は、発病後1年、2年目にかけて高くなりその後経過とともに低下していた。

副腎皮質ステロイド投与量(mg/日)を発病後期間別に図9に示した。発病後2年を経過すると、5-10mg/日の維持量が半分を占めるようになり、その後経過とともにその割合は上昇した。

## D. 考察

多発性筋炎・皮膚筋炎は、受給者数の把握に関して、統計上一つの問題を抱えている。既存統計資料において「多発性筋炎・皮膚筋炎」単独の受給者数がわからないという点である。原則的に受給対象疾患の受給者数は厚生労働省の統計「衛生行政報告例」において公表されており、受給者数はこの資料から把握できるものであるが、多発性筋炎・皮膚筋炎については行政上「強皮症」と一緒になって、1疾患単位として扱われているため、強皮症と合わせた受給者数しか得られず、「多発性筋炎・皮膚筋炎」単独の受給者数として公表されたものはないのが現状である。そこで我々は昨年度に引き続き、本年度、個人票の入力件数と入力率をもとに、多発性筋炎・皮膚筋炎の受給者数(有病数)、有病率を推計した。2010年度の全受給者数は約17,000人、有病率は人口10万対13と推計された。受給者数(有病数)をこの様な形で推計する必要があったのは、先に述べたとおり、厚生労働省の統計のデータ収集・集計の仕組みの問題と考えられ、行政上の課題として

改善を求めたい。

有病率に加えて、個人票を用いて、罹患率の推計を試みた。本研究で得られた各年の罹患数は、もちろん受給申請しない患者は数えられていないが、少なくとも、各年に新規発症して登録された患者数の推計にはなっているものと考えている。

多発性筋炎・皮膚筋炎の有所見割合、治療状況を、性、年齢別、発病後期間別に明らかにした。解析対象である2009年度受給者の発病後期間は、全体で平均9.2年、男8.2年、女9.6年と女の方が長かった。男に比べて、女のほうが予後が良いのかもしれない。新規受給者における臨床所見において、筋症状の有所見割合は年齢による大きな違いは認められなかったが、皮膚症状、抗Jo-1抗体、間質性肺炎の合併、悪性腫瘍の合併などの有所見割合に年齢による違いが認められた。皮膚症状は18歳未満で有所見割合が高かった。抗Jo-1抗体陽性は18歳未満には認められず、成人における陽性割合は年齢による違いは認められなかった。間質性肺炎の合併率は、40歳以上で約50%と高く、18歳未満では約20%であった。悪性腫瘍の合併は、18歳未満では認められず、ほとんどが40歳以上で男に多く、特に60歳以上の男の合併率は約20%と女の2倍であった。悪性腫瘍の合併を除き、多くの臨床所見において有所見割合に大きな性差は認められなかった。

間質性肺炎の合併に関して、40歳以上の抗Jo-1抗体陽性者の間質性肺炎合併率は約90%であり、抗体陰性者の2倍以上と高かった。皮膚所見ありの者の間質性肺炎の合併率は皮膚所見なしの者に比べて、各年齢とも1.2倍ほど高かった。悪性腫瘍の合併率は、60歳以上の皮膚所見ありの者で約20%と特に高く、皮膚所見なしの者に比べて約2倍であった。多くの臨床症状の有所見割合は、発病後1年、1年以降と経過にともない低下し、発病後2年以降は変化が少なかった。治療の主体である副腎皮質ステロイド剤の使用状況は性・年齢による大きな違いはなかったが、発病後5年以上経過するとステロイド使用の割合が90%から80%程度にやや低下していた。ステロイド投与量(mg/日)は、発病後2年を経過すると、5-10mg/日の維持量が半分を占めるようになり、その後経過とともにその割合は上昇した。

これらの知見は、現在受給している者についての情報

であり、既に死亡した者、あるいは改善により受給中止した者は含まれていない点に考慮を要する。特に発病後期間別の有所見割合(間質性肺炎や悪性腫瘍の合併率など含め)は、症状の悪化や合併症等が原因で死亡し受給中止に至った者がどの程度いるのかが不明であり、解釈に注意を要する。

今後の課題として、間質性肺炎や悪性腫瘍合併の関連因子の検討、筋炎の活動性・治療効果を反映する臨床所見の変化とその関連因子の検討などが考えられる。

最後に、個人票データベースの有効活用と課題について考察する。個人票データベースにはいくつかの問題点がある。一つは、診断の正確性の問題である。例えば、患者の利益のために、診断が多少曖昧でも受給させてあげようという臨床家の判断が紛れ込む余地がある。県は専門医による認定審査を行っているが、これがどこまで厳格であるかという問題もあるかもしれない。また、記載内容が正確でなければ、認定審査も確実にはできず、そこから得られる臨床情報も正確性が下がる。また、患者であっても受給しなければその者は受給者データからは漏れている。例えば、収入が充分で医療費補助のメリットがない者、他の保健福祉制度を利用するため受給しない患者はある程度いると考えられる。例えば、小児は市町村が医療費助成をしているので受給者データからは漏れやすく、また生活保護の医療扶助を受けている者も漏れるだろうと考えられる。また、臨床調査個人票の内容が、適切な診断、認定、臨床情報(治療効果、予後を反映する指標などを含めた)の把握に有用な内容となっているかなどは継続的に検討していく課題と思われる。データベースの入力率の問題については、一部の県が入力しない理由として、入力にかかる事務的負担(入力を委託する費用あるいは人件費)が主な理由と考えられる。入力率は、データの代表性に関わることである。考え方として患者の特性が都道府県によって異なっているということでないなら、入力された患者についての所見が全体に当てはまる、患者全体と大きな違いはないだろうと期待できると考えられるが、批判はあり得るだろう。今後も入力状況については継続的に観察していく必要があると考える。最後に、現在のデータベースの大きな課題として、受給非継続者の受給中止理由が未把握である問題が挙げられる。今回の解析では利用してい

ないが、個人票データベースでは、データ抽出時に割り当てられた受給者の番号で各年のデータが連結できるので、連結した患者の所見の変化を知ることができる。受給を中止するとデータはそこで途切れ、中止が、治癒軽快したからなのか、死んだから受給しなくなったのかはわからない。受給を継続しない者について、その理由の確認ができる制度になれば患者のコホート研究(フォローアップ研究)になるのであるが、残念な点である。今後、患者をフォローアップしていく形の情報収集になるとより有用なデータベースになると考える。

個人票データベースは、上記のような課題を含んでいるが、難病の疫学特性を全国規模で経年的に把握できる貴重な情報源であり、現状ではこのようなデータベースの特性を考慮した上で有効活用してみせるとともに、問題点については、具体的に改善を進めていく必要がある。現在、国において進められている難病対策の改革の議論において、難病患者データの精度向上と有効活用についての検討がなされているが、難病患者のデータベースの仕組みの改善が期待される。

## E. 結論

多発性筋炎・皮膚筋炎の有病率、罹患率を推計した。多発性筋炎・皮膚筋炎の有所見割合、治療状況を、性、年齢別、発病後期間別に明らかにした。

これらは、現在受給している者についての情報であり、既に死亡した者、あるいは改善により受給中止した者は含まれていない点に考慮を要する。

個人票は多発性筋炎・皮膚筋炎の疫学特性を全国規模で経年的に把握できる貴重な情報源であり、今後も有効活用が望まれる。

## ※追補：昨年度の分担研究報告書における表の訂正について

自己免疫疾患に関する調査研究平成 23 年度総括・分担研究報告書 p45 において報告した「表 10 診断基準を満たす/満たさない受給者数、新規・更新別、性、年齢別、2009 年度受給者」の一部の数値に間違いがあったので、ここに訂正した表を、表 9 として示した。

## 文献

- 1) 厚生労働省大臣官房統計情報部編
- 2) : 地域保健・老人保健事業報告 (地域保健編) (平成 15 年度)
- 2) 厚生労働省大臣官房統計情報部編 : 保健・衛生行政業務報告(衛生行政報告例) (平成 16、17、18、19、20 年度)
- 3) 厚生労働省大臣官房統計情報部編 : 衛生行政報告例 (平成 21、22 年度)

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Ohta A, Nagai M, Nishina M, Tomimitsu H, Kohsaka H. Age at onset and gender distribution of systemic lupus erythematosus, polymyositis/dermatomyositis, and systemic sclerosis in Japan. *Mod Rheumatol.* (in press)

### 2. 学会発表

太田晶子, 仁科基子, 永井正規: 臨床調査個人票による多発性筋炎・皮膚筋炎の疫学特性. 第 71 回日本公衆衛生学会総会, 山口, 2012

## 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. 「強皮症」と「皮膚筋炎及び多発性筋炎」合計の臨床調査個人票入力件数、入力率(2012年7月現在)

年度	入力件数 ①	全受給者数* ②	入力率† ①/②	登録者証 所持者数*
2003	20,162	31,829	0.633	
2004	21,709	32,944	0.659	446
2005	22,057	34,592	0.638	772
2006	20,031	36,110	0.555	1,104
2007	19,180	37,975	0.505	1,402
2008	25,681	39,970	0.643	1,275
2009	33,310	41,648	0.800	1,396
2010	26,197	42,233	0.620	1,457
2011	24,269		0.575	

\*各年度の衛生行政報告例による

(ただし、2010年度は東日本大震災の影響により、宮城県及び福島県が含まれていない。)

†入力率=①各年度の強皮症と皮膚筋炎及び多発性筋炎の臨床調査個人票入力件数の合計/各年度の衛生行政報告例による強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎の特定疾患医療受給者数証所持者数

表2. 「強皮症」と「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の臨床調査個人票入力件数(2012年7月現在)

年度	強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎の合計	強皮症(再掲)	皮膚筋炎及び多発性筋炎(再掲)
2003	20,162	11,830	8,332
2004	21,709	12,666	9,043
2005	22,057	12,730	9,327
2006	20,031	11,892	8,139
2007	19,180	11,652	7,528
2008	25,681	15,178	10,503
2009	33,310	19,600	13,710
2010	26,197	15,821	10,376
2011	24,269	14,821	9,448

表3. 「皮膚筋炎及び多発性筋炎」の臨床調査個人票入力件数・受給者数の推計、新規・更新別

年度	入力件数			推計受給者数*			入力率†
	合計①	新規②	更新③	合計①/④	新規②/④	更新③/④	
2003	8,332	499	7,833	13,153	788	12,366	0.633
2004	9,043	879	8,164	13,723	1,334	12,389	0.659
2005	9,327	1,114	8,213	14,628	1,747	12,880	0.638
2006	8,139	823	7,316	14,672	1,484	13,189	0.555
2007	7,528	842	6,686	14,905	1,667	13,238	0.505
2008	10,503	1,164	9,339	16,347	1,812	14,535	0.643
2009	13,710	1,459	12,251	17,142	1,824	15,318	0.800
2010	10,376	1,461	8,915	16,727	2,355	14,372	0.620
2011	9,448	1,240	8,208	16,441	2,158	14,284	0.575

\*推計受給者数=入力件数/入力率

†「強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎」の臨床調査個人票入力率(2012年7月現在)

表4. 多発性筋炎・皮膚筋炎の有病率

受給年度	推計受給者数*	推計有病率†(人口10万対)
2003	13,153	10.3
2004	13,723	10.7
2005	14,628	11.4
2006	14,672	11.5
2007	14,905	11.7
2008	16,347	12.8
2009	17,142	13.4
2010	16,727	13.1
2011	16,441	12.9

\*臨床調査個人票2012年7月現在データに基づく推計値

†分母は2005年,2010年は国勢調査人口の、間の年は推計人口の総人口(10月1日現在)

表5. 多発性筋炎・皮膚筋炎、2003年度～2011年度の新規登録(受給)年度における発病年別新規受給者数

発病年	新規登録(受給)年度										合計
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011		
2003	466	209	69	40	22	28	23	7	12	875	
2004	68	750	260	63	52	23	21	21	17	1,275	
2005		55	1,016	204	54	51	25	37	21	1,462	
2006			99	887	263	86	46	39	24	1,443	
2007				38	998	306	78	55	31	1,506	
2008					54	1,081	290	98	54	1,577	
2009						51	1,026	386	106	1,569	
2010							41	1,419	350	1,810	
2011								44	1,230	1,273	

各登録年度の発病年別新規受給者数は、各登録年度の入力率で割り戻した値である。

表6. 多発性筋炎・皮膚筋炎の罹患率

年次	年間推計罹患数*	推計罹患率†(/100万人年)
2003	875	6.9
2004	1,275	10.0
2005	1,462	11.4
2006	1,443	11.3
2007	1,506	11.8
2008	1,577	12.3
2009	1,569	12.3
2010	1,810	14.1
2011	1,273	10.0

\*臨床調査個人票2012年7月現在データに基づく推計値  
†分母は2005年,2010年は国勢調査人口の、間の年は推計人口の総人口(10月1日現在)

表7. 多発性筋炎・皮膚筋炎の2009年度受給者(入力患者数)、性・年齢別、新規・更新別

性	年齢	合計	新規	更新
全体		13,710	1,459	12,251
男	総数	3,656	461	3,195
	0-17歳	88	15	73
	18-39	335	47	288
	40-59	1,167	144	1,023
	60-	2,066	255	1,811
女	総数	10,054	998	9,056
	0-17歳	150	27	123
	18-39	943	134	809
	40-59	3,341	357	2,984
	60-	5,620	480	5,140
性比(女/男)		2.75	2.16	2.83

表8. 多発性筋炎・皮膚筋炎2009年度受給者、発病後期間、性別

発病後期間(年)	合計	男	女
計	13,710	3,656	10,054
0	886	292	594
1	910	267	643
2	867	245	622
3	801	235	566
4	738	199	539
5-9	2,970	840	2,130
10-14	1,984	495	1,489
15-19	1,231	293	938
20-	1,365	267	1,098
不明	1,958	523	1,435
平均値	9.2	8.2	9.6
標準偏差	8.25	7.53	8.46