

- Magnetic Resonance Imaging Outcome In Early-Stage From Nagasaki Early Arthritis Cohort. 2013 ACR/ARHP Annual Meeting 13. 2013/10/25-10/30.
2. Okada A, Kawakami A, Fukuda T, Hidaka T, Ishii T, Ueki Y, Kodera T, Nakashima M, Takahashi Y, Honda S, Horai Y, Koga T, Watanabe R, Okuno H, Eguchi K. Characteristic of the Japanese Patients with Rheumatoid Arthritis(RA) of Rapid Radiographic Progression(RRP) Treated with Synthetic Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs(DMARDs)in Daily Practice:A Large-Scale Prospective Longitudinal Cohort Study(the 1st report of Apple Survey). American College of Rheumatology(ACR/ARHP 2012) . 2012/11/10-11/14
  3. Tamai M, Nakasima Y, Suzuki T, Horai Y, Okada A, Kita J, Kawashiri S, Iwamoto N, Ichinose K, Arima K, Nakamura H, Origuchi T, Uetani M, Aoyagi K, Eguchi K, and Kawakami A. Magnetic Resonance Imaging-Proven Osteitis At Baseline Predicts the Early Rheumatoid Arthritis Patients Who Will Develop Rapid Radiographic Progression : MRI Is Beneficial to Find the Window of Opportunity in Early RA. American College of Rheumatology(ACR/ARHP 2012) . 2012/11/10-11/14

#### 小池隆夫

1. Koike T: "Antiphospholipid syndrome: 30 years", 6<sup>th</sup> Autoimmunity Congress Asia. 2013/11/19-23. Hong Kong.
2. Koike T: "My contribution, my dream: 1983-2013", 14<sup>th</sup> International Congress on Antiphospholipid Antibodies & 4<sup>th</sup> Latin American Congress on Autoimmunity. 2013/9/17-23. Rio de Janeiro. Brazil.
3. Koike T. "Catastrophic Antiphospholipid Syndrome;

- CAPS", Manila, Filipin, Asian Lupus Summit 2012, November 29, 2012
4. Koike T. "New Concepts in Antiphospholipid syndrome", Manila, Filipin, Asian Lupus Summit 2012, November 30, 2012

#### 上阪等

1. Hideyuki Iwai, Tadashi Hosoya, Yousuke Murakami, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka Identification of the TREM-1 ligand as a therapeutic target of arthritis. Keystone symposium 2012.1
2. Hideyuki Iwai, Tadashi Hosoya, Kenchi Takenaka, Yousuke Murakami, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka. Functional analysis of mouse TREM-1 ligand and identification of human TREM-1 ligand 第41回日本免疫学会 2012.12,
3. Tadashi Hosoya, Yousuke Murakami, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka Identification of the TREM-1 ligand as a therapeutic target of arthritis Hideyuki Iwai 第4回EAGOR 2011.10
4. 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 第40回日本免疫学会 2011.11

#### 住田孝之

1. Kondo Y, Sumida T, et al. Overexpression of ROR  $\gamma$  t in T cells suppresses collagen induced arthritis The 5<sup>th</sup> East Asian Group of Rheumatology, 2013
2. Kondo Y, Sumida T et al. CCR6<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells regulate the development of collagen induced arthritis in T cell specific ROR  $\gamma$  t transgenic mice. 2012 ANNUAL SCIENTIFIC MEETING on the American College of Rheumatology, 2012

#### 竹内勤

1. T. Takeuchi, T. Yano, T. Inui, T. Yoshinari, N. Miyasaka, T. Abe, T. Koike: ACHIEVEMENT OF LOW DISEASE ACTIVITY (LDA) AT 3 MONTHS PREDICTS CLINICAL REMISSION (REM) AT 1 YEAR OF INFLIXIMAB (IFX) THERAPY IN RA: POST-HOC ANALYSIS OF A RANDOMIZED DOUBLE-BLIND CLINICAL STUDY (RISING STUDY). Madrid, Spain. 2013.6.14
2. T Takeuchi . Japanese PMS: Safety and efficacy from large population. 8<sup>th</sup> International congress on Autoimmunity. Granada, Spain. 2012.5.11
3. T Takeuchi, Masayoshi Harigai, Yoshiya Tanaka, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Kazuhiko Yamamoto, Minoru Kanazawa, Yoshinori Murakami, Toru Yoshinari, Daniel Baker, Nobuyuki Miyasaka, Takao Koike. Golimumab, a human anti-TNF monoclonal antibody, administered subcutaneously every four weeks as monotherapy in patients with active rheumatoid arthritis despite DMARD therapy: 52-week results of clinical, radiographic and pharmacokinetic assessments. EULAR 2012: 2012.6.6-9, Berlin, Germany.
4. T Takeuchi, Tsukasa Matsubara, Shuji Ohta, Masaya Mukai, Koichi Amano, Shigeto Tohma, Yoshiya Tanaka, Hisashi Yamanaka and Nobuyuki Miyasaka. Abatacept Biologic-Free Remission Study in Established Rheumatoid Arthritis Patients. Orion Study. ACR2012: 2012.11.9-14, Washington D.C., USA.
5. T Takeuchi, Kazuhiko Yamamoto, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Yoshiya Tanaka, Katsumi Eguchi, Akira Watanabe, Hideki Origasa, Toshiharu Shoji, Nobuyuki Miyasaka and Takao Koike. Clinical Response At 12 Weeks Predicts Long-Term Remission and the Extent of

Radiographic Progression in Japanese Patients with Rheumatoid Arthritis Treated with Certolizumab Pegol with and without Methotrexate Coadministration. ACR2012: 2012.11.9-14, Washington D.C., USA.

6. T Takeuchi, Masayoshi Harigai, Yoshiya Tanaka, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Kazuhiko Yamamoto, Minoru Kanazawa, Yoshinori Murakami, Toru Yoshinari, Daniel Baker, Nobuyuki Miyasaka and Takao Koike. Golimumab, A Human Anti-TNF Monoclonal Antibody, Administered Subcutaneously Every Four Weeks As Monotherapy in Patients with Active Rheumatoid Arthritis Despite Disease Modifying Antirheumatic Drug Therapy: Week 104 Results of Clinical, Radiographic and Safety Assessments. ACR2012: 2012.11.9-14, Washington D.C., USA.

#### 三森経世

1. Terao C, Ohmura K, Mimori T, et al: ACPA-NEGATIVE RHEUMATOID ARTHRITIS CONSISTS OF TWO GENETICALLY DISTINCT SUBSETS BASED ON RF POSITIVITY. European League Against Rheumatism 2012, Berlin, June. 2012

#### 山中寿

1. Yoshida S, Ikari K, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. Lack of association between IL-15 genetic variants and progression of joint destruction in Japanese rheumatoid arthritis patients. The 14<sup>th</sup> Annual European Congress of Rheumatology, The European League Against Rheumatism 2013.
2. Yoshida S, Ikari K, Yano K, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. Genetic association on

disease severity in rheumatoid arthritis: a validation study in Japanese patients. The 77<sup>th</sup> American College of Rheumatology/Associations of Rheumatology Health Professionals Annual Meeting 2013.

3. Yoshida S, Ikari K, Shidara K, Ochi K, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. Analysis of factors associated with the Health Assessment Questionnaire score change in five years. American College of Rheumatology, Annual Meeting 2012

山本一彦

1. Seri Y, Yamamoto K, et al. Peptidyl arginine deiminase type 4 deficiency suppresses the development of rhGPI induced arthritis. 第42回日本免疫学会総会(平成25年12月12日、千葉幕張)

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

63

### 【Ⅲ】 研究分担報告

## 関節リウマチの関節破壊の進展に寄与する因子の解析研究

分担研究者 川上 純<sup>1</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座  
リウマチ免疫病態制御学分野(第一内科) 教授

研究協力者 玉井慎美<sup>1</sup>、中島好一<sup>1</sup>、岡田覚丈<sup>2</sup>、川 真也<sup>1,3</sup>、岩本直樹<sup>1</sup>、青柳 潔<sup>3</sup>、上谷雅孝<sup>4</sup>  
<sup>2</sup>長崎原爆病院、<sup>3</sup>長崎大学大学院公衆衛生学分野、  
<sup>4</sup>長崎大学大学院放射線診断治療学

### 研究要旨

関節リウマチ(RA)の関節破壊の進展に寄与する因子を患者コホートから解析した。1.合成 DMARDs 投与 1 年間の 392 症例を対象とした観察研究では、 $\Delta mTSS > 3.0$  を Rapid radiographic progression (RRP) と定義した。RRP は 42 症例 (10.7%) に認め、多変量解析により、1 年間の DAS 積分値、ベースラインの炎症反応高値、女性が、RRP 進展に寄与する因子と抽出された。2.両側手指関節 MRI を撮像する長崎早期関節炎コホートで、RRP を  $\Delta$  Genant-modified Sharp score  $> 3$  と定義した。エントリーから 1 年間の観察研究で 76 症例を解析したが、RRP は 12 症例 (15.8%) に認め、多変量解析において、エントリー時の MRI 骨炎の程度、および、観察期間内における生物学的製剤の導入の 2 項目が、RRP 進展に寄与する因子と抽出された。3.関節エコーを用いた MTX 治療経過の 33 症例の観察研究のコホートでは、6 ヶ月間の臨床的治療反応 (DAS28)、エコー所見、バイオマーカーの関連を評価した。DAS28 寛解群 13 症例と治療抵抗群 12 症例を比較検討し、その結果、DAS28 寛解群は治療抵抗群と比較して、明らかにグレースケールスコア (GS スコア) とパワードプラススコア (PD スコア) が改善した。バイオマーカーでは IL-6 が、臨床的治療反応およびエコー所見をよく反映した。今回の解析で、RRP への進展を予防するための T2T 治療戦略の重要性が確認され、かつ、疾患活動性の評価における MRI 骨炎とエコー滑膜炎の重要性が明らかとなった。バイオマーカーとしての IL-6 の有用性も示唆され、今後は MRI 骨炎、エコー滑膜炎、バイオマーカーを組み合わせた、より精度が高い RA の関節破壊予測のアルゴリズムの構築を目指したい。

### A.研究目的

関節リウマチ(RA)の治療目標は関節破壊の抑制であり、その達成には、適切な治療介入と関節破壊の予後予測が肝要である。前者に関しては T2T が、また、後者に関しては Rapid radiographic progression (RRP)もしくは Clinical relevance of rapid radiographic progression (CRRP)が関節予後不良の指標として注目され、MRI 骨炎やエコー関節滑膜炎と予後予測との関連も指摘されている。今回は RA 患者コホートを用いて、これらに関連する因子の抽出を試みた。

### B.研究方法

1. 合成 DMARDs 治療経過における観察研究  
これらで 1 年間治療された 392 症例(エントリー時に DAS28-ESR 中等度疾患活動性以上もしくは Xp 骨びらんあり)を対象に、(C) RRP ( $\Delta mTSS > 3.0$ )を来す因子を多変量解析で抽出した。
2. 長崎早期関節炎コホートにおける観察研究  
コホートにおいて DMARDs を導入された 76 症例を対象とした。DMARDs 導入下での 1 年間の観察研究で

ある。このコホートは両側手指関節 MRI を撮像しているので、関節破壊は両側手指関節 Xp を用い、 $\Delta$  Genant-modified Sharp score  $>3$  を RRP と定義した。RRP 進展に寄与する因子を、多変量解析で抽出した。

### 3. MTX 治療エコーコホートにおける観察研究

MTX が導入され、エコーとバイオマーカーを経時的に評価した、6 ヶ月間の観察研究である。33 症例がエントリーされ、両側手指 22 関節のグレースケールスコア (GS スコア) とパワードプラススコア (PD スコア)、血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、VEGF を評価した。臨床的治療反応は DAS28-ESR を用いた。

#### (倫理面への配慮)

上記の研究は長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認および文書での研究への同意を得ている。

### C. 研究結果

上記の研究は長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認および文書での研究への同意を得ている。

### D. 考察

実地臨床において関節破壊の進展を防止するには、目標達成に向けた積極的な治療 (T2T) を行うことの重要性が確認された。骨線では所見が乏しい早期 RA では、MRI 骨炎が予後不良因子になると考えられ、今回の解析で同時に抽出された生物学的製剤の導入は、合成 DMARDs への治療抵抗性を反映していると思われた。エコー所見も RA 疾患活動性を反映し、バイオマーカーとしての IL-6 の有用性も示唆された。

### E. 結論

リウマチ実地臨床下における観察研究から、RA の関節破壊の進展に寄与する因子の抽出を試みた。今回の解析で、RRP への進展を予防ための T2T 治療戦略の重要性が確認され、かつ、疾患活動性の評価における MRI 骨炎とエ

コー滑膜炎の重要性が明らかとなった。バイオマーカーとしての IL-6 の有用性も示唆され、今後は MRI 骨炎、エコー滑膜炎、バイオマーカーを組み合わせた、より精度が高い RA の関節破壊予測のアルゴリズムの構築を目指したい。

### F. 健康危険情報

なし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Kawashiri SY, Arima K, Suzuki T, Nakashima Y, Horai Y, Okada A, Tamai M, Nakamura H, Kawakami A. Presence of ultrasound subclinical synovitis and increment of serum vascular endothelial growth factor in a patient with rheumatoid arthritis achieved in sustained clinical remission by treatment with adalimumab and methotrexate. *Mod Rheumatol*. 2013 Jan 12.
- 2) Kawashiri SY, Fujikawa K, Nishino A, Suzuki T, Okada A, Nakamura H, Kawakami A. Usefulness of ultrasonography-proven tenosynovitis to monitor disease activity of a patient with very early rheumatoid arthritis treated by abatacept. *Mod Rheumatol*. 23 (3): 582-586, 2013.
- 3) Kita J, Tamai M, Arima K, Kawashiri SY, Horai Y, Iwamoto N, Okada A, Koga T, Nakashima Y, Suzuki T, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Ida H, Aoyagi K, Uetani M, Eguchi K, Kawakami A. Significant improvement in MRI-proven bone edema is associated with protection from structural damage in very early RA patients managed using the tight control approach. *Mod Rheumatol*. 23 (2): 254-259, 2013.
- 4) Kita J, Tamai M, Arima K, Nakashima Y, Suzuki T, Kawashiri SY, Iwamoto N, Okada A, Koga T, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Ida H, Aoyagi

K, Uetani M, Eguchi K, Kawakami A. Treatment discontinuation in patients with very early rheumatoid arthritis in sustained simplified disease activity index remission after synthetic disease-modifying anti-rheumatic drug administration. *Mod Rheumatol*. 22 (3): 346-352, 2012.

- 5) Tamai M, Kawakami A, Uetani M, Fukushima A, Arima K, Fujikawa K, Iwamoto N, Aramaki T, Kamachi M, Nakamura H, Ida H, Origuchi T, Aoyagi K, Eguchi K. Magnetic resonance imaging (MRI) detection of synovitis and bone lesions of the wrists and finger joints in early-stage rheumatoid arthritis: comparison of the accuracy of plain MRI-based findings and gadolinium-diethylenetriamine pentaacetic acid-enhanced MRI-based findings. *Mod Rheumatol*. 22 (5): 654-658, 2012.

## 2. 学会発表

- 1) 川上 純, 玉井慎美, 川尻真也, 中村英樹, 折口智樹, 上谷雅孝, 青柳 潔, 江口勝美. MRIからみた寛解基準の意義. 第 57 回日本リウマチ学会総会・学術総会. 第 22 回国際リウマチシンポジウム. 2013/4/18-4/20.
- 2) 岡田覚丈, 川上 純, 福田孝昭, 日高利彦, 石井智徳, 植木幸孝, 小寺隆雄, 中島宗敏, 高橋裕一, 本多靖洋, 寶來吉朗, 古賀智裕, 渡部 龍, 奥野洋史, 江口勝美. 前向き多施設コホート研究によるRA関節破壊の評価. 第 57 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 第 22 回国際リウマチシンポジウム. 2013/4/18-4/20.
- 3) Tamai M, Takatani A, Nakashima Y, Suzuki T, Kita J, Horai Y, Okada A, Kawashiri S, Iwamoto N, Ichinose K, Arima K, Nakamura H, Origuchi T, Uetani M, Aoyagi K, Eguchi K, Kawakami A. Stringent Therapies Improve Clinical, Radiographic and Magnetic Resonance Imaging Outcome In Early-Stage From Nagasaki Early Arthritis Cohort.

2013 ACR/ARHP Annual Meeting 13.

2013/10/25-10/30.

- 4) 鈴木貴久, 川尻真也, 西野文子, 高谷亜由子, 中島好一, 寶來吉朗, 岡田覚丈, 岩本直樹, 一瀬邦弘, 玉井慎美, 有馬和彦, 中村英樹, 折口智樹, 江口勝美, 川上 純. 関節リウマチ(RA)患者におけるメトトレキサート(MTX)投与による関節超音波画像の検討. 第 28 回日本臨床リウマチ学会. 2013/11/30-12/1.
- 5) Tamai M, Nakashima Y, Suzuki T, Okada A, Kita J, Horai Y, Kawasiri S.-Y, Iawmoto N, Ichinose K, Arima K, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Uetani M, Aoyagi K, Eguchi K, Kawakami A. The presence of Magnetic Resonance Imaging-proven osteitis at entry predicts the development of rapid radiographic progression in patients with early rheumatoid arthritis. Annual European Congress of Rheumatology. 2012/6/6-6/9.

## 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。

表1. RRF群とnon-RRF群の比較

Baseline variables	RRF(+) N = 42	RRF(-) N = 150	p value
Gender (female %)	92.9%	64.8%	0.0066
Age (y.o., median [Q1-Q3])	60 [49-68]	61 [54-69]	0.29
Disease duration (y.o., median [Q1-Q3])	3.4 [1.4-7.7]	4.1 [1.5-8.1]	0.24
DAS28-CRP at baseline	3.88 [2.75-4.72]	3.089 [2.19-3.69]	0.0042
Time-integrated DAS28-CRP	56.639 [18.83-87.62]	28.218 [23.13-37.66]	0.0009
DAS28-ESR at baseline	4.49 [3.59-4.88]	3.689 [2.87-4.28]	0.0091
Time-integrated DAS28-ESR	41.829 [24.48-83.29]	26.57 [29.66-49.17]	0.0099
CRP at baseline (mg/dL)	0.72 [0.28-1.48]	0.259 [0.16-0.70]	0.0001
ESR at baseline (mm/hr)	39 [18-56]	29 [12-56]	0.0011
Autoantibody (RF or ACPA positive %)	88.1%	69.4%	0.16
Methotrexate use (positive %)	66.1%	64.2%	0.26
Proteinase use (positive %)	45.2%	33.4%	0.48
HAQ	0.779 [0.125-0.875]	0.122 [0.0-0.625]	0.001
mTSS	36.9 [19.2-61.2]	41.59 [4.69-33.66]	0.0004

Fisher's exact probability test and Wilcoxon signed-rank test were used to assess statistical difference. Variables except age and proteinase use were tested toward logistic regression analysis.

表2. RRF進展を予測する多変量解析: 392症例の解析

Baseline variables	Unit	Odds ratio	95% C.I.	p value
Gender	Male	0.24	0.07-0.82	0.022
CRP (mg/dL)	1.65 mg/dL increase	1.22	1.09-1.75	0.049
Time-integrated DAS28-ESR	11.85 increase	1.54	1.11-2.15	0.0094

AIC=251.3

Baseline variables	Unit	Odds ratio	95% C.I.	p value
Gender	Male	0.24	0.07-0.82	0.022
ESR (mm/hr)	22 mm/hr increase	1.44	1.07-1.94	0.017
Time-integrated DAS28-CRP	69.51 increase	1.53	1.11-2.12	0.0099

AIC=247.5

Starting with a full model including all variables, the most appropriate model was selected on the basis of Akaike's information criteria (AIC). We have found that the early disease, high time-integrated DAS28-ESR/CRP and high CRP/ESR at baseline are the independent predictors toward development of RRF. High DAS28-ESR/CRP at baseline was not selected during the process. Male tended to inhibit the development of RRF.

図1. 寛解群と治療抵抗群の比較: DASとエコー

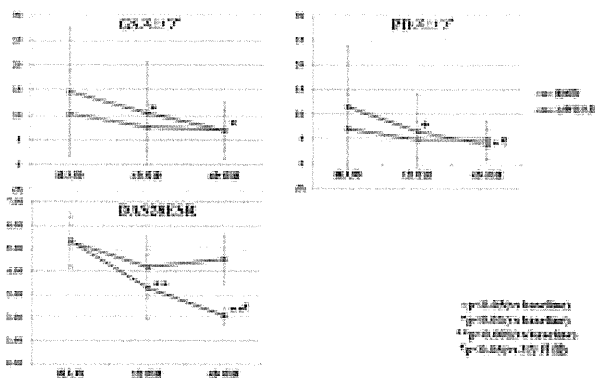


図2. 寛解群と治療抵抗群の比較: バイオマーカー

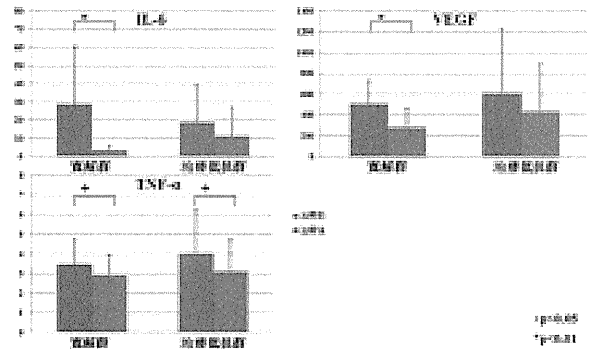


表3. RRF進展を予測する多変量解析: 早期関節炎コホート

	Odds ratio	95% C.I.	p value
エントリー時の REAMIRIS骨表スコア	1.10	1.04-1.16	0.0009
生物学的製剤の導入	5.46	1.05-28.57	0.044



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)

総合研究報告書

## インドシアニングリーン蛍光血管描出法による手指関節滑膜血流の評価

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

インドシアニンググリーン (ICG)は肝機能検査に用いられてきた緑色色素である。同薬は人体投与後、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。これを利用して眼科領域では蛍光眼底造影検査が施行されている。800-845nm 近赤外線は人体深部約 2cm を貫通するが組織障害はない。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 (ICG 蛍光血管描出法)を利用して描出可能かを検討した。初年の報告で、活動性 RA 患者の、臨床的に腫脹を認めた右手に対して、ICG 蛍光血管描出法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、ICG 蛍光血管描出法にて異常蛍光スポットを描出した。更に我々は両手用撮像機器を開発した。今回、同機器を使用して両手の同時撮影を行い、炎症部位の定量法を検討した。

ICG 蛍光血管描出法は低コスト、低侵襲であり、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。ICG 蛍光血管描出法は 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)の関節画像評価法を確立し、診断、治療評価基準を確立する。RA は、早期診断方法、関節炎の正確な評価法が必要となっている。病理学、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関連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、評価可能な検査は関節炎評価に有用と考えられる。インドシアニンググリーン (ICG) は静脈内投与後に蛍光発光する。デジタルビデオカメラによって簡便に微小血管を画像化できる。関節滑膜異常血流は関節部位に集積する蛍光として捉えることができる。異常集積の定量法について検討した。

1. 近赤外線カメラ(浜松ホトニクス)を用いて、両手撮像用機器を作成した。活動性 RA 患者の両手に対して、撮像を施行した。カメラ本体は手より 20cm に固定し、対側の肘静脈より ICG (0.25mg/body) を静脈内投与した。
2. 各濃度のインドシアニンググリーンをエタノールと混合し7穴ウエルにそれぞれ封入した。これを蛍光ファントムとして用いた。
3. 撮影動画より、方形の ROI を設定することで、time intensity curve を得ることが出来るソフトウェアを開発した。
4. Intensity curve を MCP2-3, PIP2-3 関節から得た。このグラフより Fluorescent intensity max (Imax) を算出した。

### B.研究方法

(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。

患者には、検査、治療内容、研究成果の発表についてインフォームドコンセントを得ている。

### C. 研究結果

1. 活動性RA患者四名の両手に対して撮像を施行した。左右のII MCP関節の撮像画像を比較したところ、肉眼で蛍光差異が認められた。同部位にROIを設定し、左右でそれぞれ得られたtime intensity curveには最大蛍光強度に差が認められた。

2. 作成した蛍光ファントムの各穴の蛍光はそれぞれの蛍光強度で発光が認められたが、線形比例の関係にはなかった。

3. MCP, PIP関節に対して、Imaxは、異常滑膜血流陽性関節では、陰性関節と比較して有意に高値であった。更にMCP関節において、定量異常滑膜血流値と、Imaxは有意に相関した。PIP関節においては、有意差は認めなかった。

### D. 考察

ICGはアルブミン蛋白と結合し、800nm波長の励起光により845nm波長の近赤外線蛍光を発する。同蛍光は深部2cmの軟部組織を貫通しデジタルビデオカメラで画質化することが可能である。励起光、蛍光ともに暴露に際しての組織障害はない。ICGは、従来、肝臓機能評価や、眼底網膜造影に投与される。投与量においては、肝機能評価(0.5mg/kg, 25mg/50kg body)に比較して、本検討は0.25mg/bodyと低用量で画像が得られた。近赤外線カメラの構成ハードウェアとして、デジタルビデオカメラ、励起光LED、画像解析用パソコンであるが、既存技術の集合であり、開発は比較的lowコストである。

得られた動画から、関節部位にregion of interest (ROI)を置くことで同部位の蛍光intensity curveが得られた。観察者が異常部位を判断し評価することに加えて、intensity

curveから、正常・異常の判別、また異常を定量する方法を確立することで、RA診断、治療評価へ有用な可能性がある。今回の結果から、Imaxは、炎症指標として有用な可能性が示された。PIP関節において、異常滑膜血流陽性関節vs陰性関節の間には有意差が認められた。両者には有意な相関は認めなかったが、傾向が示された。これについては更に多数の症例検討が必要である。Intensity curveより、Imax以外のパラメータも算出可能であり、今後検討が必要である。

欧州から同様原理のRA専用機器が最近実用化された。同機器を使った報告では、画像評価には半定量4段階評価が使用され、MRI、超音波検査に遜色ない関節炎の診断能が示されている。

### E. 結論

近赤外線カメラを使ったICG蛍光血管描出法は、低浸襲、低コストであり、両手の手指関節滑膜異常血流を一機能的に評価することが可能であり、有用性が期待される。ICG蛍光による滑膜血流は定量評価可能である。今後、同検査にて正常部位、異常部位の判定方法についても考えていく。実臨床での多施設検討も必要と考えられる。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

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. Hapatitis 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. Fukae J, Isobe M, Kitano A, Henmi M, Sakamoto F, Narita A, Ito T, Mitsuzaki A, Shimizu M, Tanimura K, Matsushashi M, Kamishima T, Atsumi T, Koike T. Radiographic prognosis of finger joint damage predicted by early alteration in synovial vascularity in patients with rheumatoid arthritis: Potential utility of power doppler sonography in clinical practice. *Arthritis Care Res.*63(9):1247-53,2011.
  4. Koike T. IFN $\gamma$  independent suppression of Th-17 differentiation by T-bet expression in autoimmune arthritis mice. *Arthritis Rheum.* 64(1):40-41,2012.
  5. Takeuchi T, Miyasaka N, Tatsuki Y, Yano T, Yoshinari T, Abe T, Koike T. Inhibition of plasma IL-6 in addition to maintenance of an efficacious trough level of infliximab associated with clinical remission in patients with rheumatoid arthritis: analysis of the RISING Study. *Ann Rheum Dis.* 71(9):1583-5.2012.
  6. Sakai R, Tanaka M, Nanki T, Watanabe K, Yamazaki H, Koike R, Nagasawa H, Amano K, Saito K, Tanaka Y, Ito S, Sumida T, Ihata A, Ishigatsubo Y, Atsumi T, Koike T, Nakajima A, Tamura N, Fujii T, Dobashi H, Tohma S, Sugihara T, Ueki Y, Hashiramoto A, Kawakami A, Hagino N, Miyasaka N, Harigai M; REAL Study Group. Drug retention rates and relevant risk factors for drug discontinuation due to adverse events in rheumatoid arthritis patients receiving anticytokine therapy with different target molecules. *Ann Rheum Dis;* 71(11):1820-6, 2012.
  7. Sakai R, Komano Y, Tanaka M, Nanki T, Koike R, Nagasawa H, Amano K, Nakajima A, Atsumi T, Koike T, Ihata A, Ishigatsubo Y, Saito K, Tanaka Y, Ito S, Sumida T, Tohma S, Tamura N, Fujii T, Sugihara T, Kawakami A, Hagino N, Ueki Y, Hashiramoto A, Nagasawa K, Miyasaka N, Harigai M; REAL Study Group. Time-dependent increased risk for serious infection from continuous use of tumor necrosis factor antagonists over three years in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res;*64(8): 1125-34, 2012.
  8. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Tanaka Y, Yamanaka H, Fujii K, Yoshinaga T, Freundlich B, Suzukawa M. Safety and effectiveness of switching from infliximab to etanercept in patients with rheumatoid arthritis: results from a large Japanese postmarketing surveillance study. *Rheumatol Int.* 32(6):1617-24, 2012.
  9. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Tanaka Y, Yamanaka H, Fujii K, Yoshinaga T, Freundlich B, Suzukawa M. Safety and effectiveness responses to etanercept for rheumatoid arthritis in Japan: a sub-analysis of a post-marketing surveillance study focusing on the duration of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 32(6):1511-9,2012.
  10. Tanaka Y, Harigai M, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, Miyasaka N, Koike T, Kanazawa M, Oba T, Yoshinari T, Baker D; the GO-FORTH Study Group. Golimumab in combination with methotrexate in Japanese patients with active rheumatoid arthritis: results of the GO-FORTH study. *Ann Rheum Dis.* 71(6):817-24, 2012.
  11. Koike T, Harigai M, Ishiguro N, Inokuma S, Takei S, Takeuchi T, Yamanaka H, Tanaka Y. Safety and effectiveness of adalimumab in Japanese rheumatoid arthritis patients: postmarketing surveillance report of the first 3,000 patients. *Mod Rheumatol.*22(4) :498-508,2012.

12. Otomo K, Atsumi T, Amengual O, Fujieda Y, Kato M, Oku K, Horita T, Yasuda S, Koike T. The efficacy of antiphospholipid score for the diagnosis of antiphospholipid syndrome and its predictive value for thrombotic events. *Arthritis Rheum*. 64(2):504-12, 2012.
  13. Kamishima T, Kato M, Atsumi T, Koike T, Onodera Y, Terae S. Contrast-enhanced whole body joint MR Imaging in rheumatoid patients on tumour necrosis factor-alpha agents: a pilot study to evaluate novel scoring system for MR synovitis. *Clin Exp Rheumatol*. 31(1):154,2013.
  14. Fukae J, Isobe M, Kitano A, Henmi M, Sakamoto F, Narita A, Ito T, Mitsuzaki A, Shimizu M, Tanimura K, Matsushita I, Kamishima T, Atsumi T, Koike T. Positive synovial vascularity in patients with low disease activity indicates smouldering inflammation leading to joint damage in rheumatoid arthritis: time-integrated joint inflammation estimated by synovial vascularity in each finger joint. *Rheumatology*. 52(3):523-8, 2013.
  15. Takamura A, Hirata S, Nagasawa H, Kameda H, Seto Y, Atsumi T, Dohi M, Koike T, Miyasaka N, Harigai M. A retrospective study of serum KL-6 levels during treatment with biological disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis patients: a report from the Ad Hoc Committee for Safety of Biological DMARDs of the Japan College of Rheumatology. *Mod Rheumatol*. 23(2): 297-303, 2013.
  16. Harigai M, Takamura A, Atsumi T, Dohi M, Hirata S, Kameda H, Nagasawa H, Seto Y, Koike T, Miyasaka N. Elevation of KL-6 serum levels in clinical trials of tumor necrosis factor inhibitors in patients with rheumatoid arthritis: a report from the Japan College of Rheumatology Ad Hoc Committee for Safety of Biological DMARDs. *Mod Rheumatol*. 23(2): 284-96, 2013.
  17. Ikeda K, Seto Y, Narita A, Kawakami A, Kawahito Y, Ito H, Matsushita I, Ohno S, Nishida K, Suzuki T, Kaneko A, Ogasawara M, Fukae J, Henmi M, Sumida T, Kamishima T, Koike T. Ultrasound assessment of synovial pathologic features in rheumatoid arthritis using comprehensive multi-plane images of the 2<sup>nd</sup> metacarpophalangeal joint - Identification of the components which are reliable and influential on the global assessment of the whole joint. *Arthritis Rheum*, Nov 18, 2013, in press.
  18. Koike T. IgG4-related disease: why high IgG4 and fibrosis. *Arthritis Res Ther*. 15(1):103, 2013.
  19. Fukae J, Tanimura K, Atsumi T, Koike T. Sonographic synovial vascularity of synovitis in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* Sep 13, 2013 (epub ahead of print)
2. 学会発表
1. Koike T. "Antiphospholipid syndrome: pathogenesis", *Anti-Phospholipid Antibodies in Medicine*, Pilsen (Czech Republic), 2011/6/24.
  2. Koike T. "Antiphospholipid Syndrome, 2011", 5<sup>th</sup> Breton Workshop on Autoimmunity, Brest (France), 2011/10/14.
  3. Koike T. "Catastrophic Antiphospholipid Syndrome; CAPS", *Asian Lupus Summit 2012*, Manila, Filipin, 2012/11/29.
  4. Koike T. "New concepts in antiphospholipid syndrome", *Asian Lupus Summit 2012*, Manila, Filipin, 2012/11/30.
  5. Koike T. "My contribution, my dream: 1983-2013", 14<sup>th</sup> International Congress on Antiphospholipid Antibodies & 4<sup>th</sup> Latin American Congress on Autoimmunity, Rio de Janeiro, Brazil, 2013/9/17-23.

6. Koike T: "Antiphospholipid syndrome: 30 years", 6<sup>th</sup> Autoimmunity Congress Asia, Hong Kong  
2013/11/19-23.
7. 深江 淳、成田明宏、邊見美穂子、坂本文彦、北野明美、青木悠子、磯部将人、清水昌人、松橋めぐみ、伊藤武哉、光崎明生、神島 保、谷村一秀: 生物学的製剤による手指関節腔内異常血流の反応近赤外線カメラによる関節腔内異常血流の描出、第55回日本リウマチ学会総会 2011/7/17-20、神戸
8. 深江 淳、成田明宏、邊見美穂子、坂本文彦、北野明美、青木悠子、高松尚徳、磯部将人、清水昌人、松橋めぐみ、伊藤武哉、光崎明生、谷村一秀: 関節滑膜血流累積値と関節破壊の関係近赤外線カメラによる関節滑膜血流測定、第56回日本リウマチ学会総会 2012/4/26-29、東京
9. 深江 淳、成田明宏、邊見美穂子、坂本文彦、北野明美、青木悠子、高松尚徳、磯部将人、清水昌人、松橋めぐみ、伊藤武哉、光崎明生、谷村一秀: 関節リウマチにおける滑膜肥厚の定量測定インドシアニンググリーン蛍光血流画像は手指異常滑膜血流をとらえ評価することが可能である低疾患活動性を得た関節リウマチ患者の手指関節炎の変化、第57回日本リウマチ学会総会 2013/4/18-20、京都

#### 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

**[1] 新規関節炎治療法開発を目指した TREM-1 及び TREM-1 リガンド相互作用解析**

**[2] 関節リウマチ治療における細胞周期制御・抗炎症併用療法の有効性の検討**

研究分担者 上阪 等 東京医科歯科大学 膠原病・リウマチ内科 教授

研究協力者 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

細矢 匡 東京医科歯科大学 膠原病・リウマチ内科 大学院生

**研究要旨**

[1] TREM-1 阻害療法は既存の生物学的製剤とは異なり、結核や重症感染症といった副作用の少ない関節炎治療法となることが期待されている。我々はこれまでに、マウス関節炎モデルに TREM-1-Ig を投与し関節炎の改善を認めた。また、マウス TREM-1 リガンドの同定に成功し、同リガンドに対する抗体投与でも関節炎改善及び骨破壊、関節破壊抑制を確認した。本研究では、抗 TREM-1 リガンド抗体の作用機序解析を行うとともに、B 細胞上のヒト TREM-1 リガンドを同定した。TREM-1 阻害療法を感染のリスクが少なく関節破壊ゼロを目指した新規関節炎治療法として開発していく

[2] CDK4/6 阻害による滑膜細胞の細胞周期制御療法が関節炎の動物モデルに著効することを示してきた。臨床的に安全性が証明された CDK4/6 阻害薬 palbociclib でも関節炎治療効果があることを証明するとともに、RA を特徴づける 2 つの病態に対しての治療である、抗サイトカイン療法と細胞周期制御療法を併用することで、関節炎の治療効果を高め、副作用を軽減できるかを検討した。高用量の CDKI は血球減少をきたしたが、減量により副作用なく、関節炎抑制効果を得ることができると考えられた。また、低用量の細胞周期制御療法と抗炎症療法との併用は協調的に関節炎の抑制効果を得ることができ、かつ獲得免疫能のさらなる抑制はきたさない安全な治療法になると考えられた。

**A.研究目的**

[1] Triggering receptor expressed on myeloid cells (TREM)-1 は、マクロファージや好中球に発現し、その刺激は Toll 様受容体刺激による炎症性サイトカインの分泌を増幅させる。一方、マウス敗血症モデルの TREM-1 細胞外ドメイン Ig 融合蛋白(mTREM-1-Ig)による TREM-1 阻害療法は生存率を改善させた。これは TREM-1 阻害では感染防御に必要な炎症性サイトカインを温存しつつ炎症を抑制することを示唆する。我々はこれまでに、TREM-1 の関節リウマチ患者滑膜細胞での発現、及び TREM-1 阻害のコラーゲン誘導関節炎(CIA)マウスでの治療効果を報告した。さらに、B 細胞に発現するマウス TREM-1 リガンド(mTREM-1-L-B)を同定し、抗 mTREM-1-L-B 抗体投与による、CIA での関節炎治療効果及び骨、関節破壊抑制

効果を検討してきた。しかし、同抗体が刺激性あるいは拮抗性か作用機序は不明であった。また、B 細胞に発現するヒト TREM-1-L は未知であり、TREM-1 阻害療法を臨床応用するために、その同定が必要とされていた。本研究では抗マウス TREM-1-L 抗体の CIA での作用機序解明及び、B 細胞上のヒト TREM-1-L の同定を目的とした。

[2] 関節リウマチ(RA)における滑膜炎には、免疫細胞の浸潤とサイトカイン産生を主体とする炎症相と、滑膜細胞の増殖によるパンヌス形成に代表される増殖相の 2 つの病態がある。近年出現した炎症性サイトカインやリンパ球を標的とした分子標的療法は、炎症相に注目した治療戦略であり、実臨床でも高い有効性を示した。その一方で、それぞれ異なる治療標的をもつにもかかわらず、その有効

性には大きな差がなく、MTX 効果不十分患者に対しての ACR70 response rate はいずれも 5 割に満たない。またこれらの分子標的療法を併用した報告では、有効性を増強することなく重症感染症を増加させる結果となったため、炎症相の過度の抑制は有効性と安全性のバランスを欠く可能性がある。われわれは非免疫抑制的な治療戦略を目指して滑膜細胞に注目した。RA 患者の滑膜細胞はパンヌス形成を通じて骨破壊に直接関与し、炎症性サイトカインやケモカインの分泌を介して罹患関節局所の炎症を増強させる。この過度の増殖をきたした滑膜細胞では p16<sup>INK4a</sup> といった内因性の細胞周期制御分子の発現が抑制されていることを見出した。さらに、CDK4/6 阻害による滑膜細胞の細胞周期制御療法が関節炎の動物モデルに著効することを示してきた。CDK 阻害薬は抗癌剤として開発されてきた歴史があるが、きわめて特異的が高い CDK4/6 阻害薬 palbociclib (CDKI) とアロマターゼ阻害薬である letrozole の併用療法が、進行性の乳癌に対して高い有効性を示したことから臨床応用が進んでいる。臨床試験において治療継続性が高く、重篤な副作用も少なかったことから、CDK4/6 阻害による細胞周期制御療法はヒトの臨床においても副作用の少ない治療であることが示された。臨床的に安全性が証明された CDKI でも関節炎治療効果があることを証明するとともに、RA を特徴づける 2 つの病態に対しての治療である、抗サイトカイン療法と細胞周期制御療法を併用することで、関節炎の治療効果を高め、副作用を軽減できるかを検討することを目的とした。

## B. 研究方法

[1] 抗 TREM-1-L-B 抗体の CIA 治療における作用機序を解明するために、TREM-1-Ig を TREM-1-L-B 強制発現細胞に架橋した。TREM-1-L は細胞質内に ITIM モチーフを含むが、TREM-1-L-Ig 架橋による Tyrosine のリン酸化の有無を免疫沈降により確認した。また、マクロファージと B 細胞の共培養系では TNF- $\alpha$  が産生されるが、抗 TREM-1-L 抗体添加による TNF- $\alpha$  産生への影響を確認した。B 細胞上のヒト TREM-1-L を同定するために、ヒト

TREM-1 細胞外ドメイン 6 x Histidine 融合蛋白 (TREM-1-His) を用いて、ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) の cDNA ライブラリーを用いた発現クローニングを行った。同分子の発現様式を明らかにした。

[2] DBA1/J マウスをウシ II 型コラーゲン (C II) と complete Freund's adjuvant で 2 回免疫し、コラーゲン誘導関節炎 (CIA) を発症させ、関節炎スコアと骨破壊像で評価した。CDKI の関節炎への作用を評価し、末梢血球数への影響を計測した。また、抗サイトカイン療法として etanercept (ETN) と抗マウス IL-6 受容体抗体 (抗 IL-6R Ab) を用い、それぞれの単独療法と CDKI との併用療法の関節炎への作用を評価した。獲得免疫系への影響を評価するために血清中の抗 C II 抗体価とリンパ節由来細胞の C II 特異的 T 細胞応答を測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は東京医科歯科大学動物実験ガイドラインに従い、必要最低限の数で動物福祉に十分配慮する。本動物実験計画書を東京医科歯科大学動物実験委員会に提出し認可を得ている。ヒト検体を扱う研究はインフォームドコンセントを得て検体を採取し、個人情報の取り扱いに注意して行う。倫理審査実施計画書を東京医科歯科大学倫理審査委員会に提出し認可済みである。

## C. 研究結果

[1] TREM-1-L-Ig 架橋により TREM-1-L 強制発現細胞での tyrosine のリン酸化はほとんど認められなかった。一方、マクロファージと TREM-1-L-B を発現している B 細胞の共培養系での抗 TREM-1-L 抗体の添加では、抗 IgM 抗体存在下で、TNF- $\alpha$  産生は減少した。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。これらより抗 TREM-1-L 抗体による CIA 治療効果は TREM-1 に対する拮抗作用によるものと考えられた。

ヒト PBMC cDNA ライブラリー及びヒト TREM-1-His を用い

た発現クローニングにより、B 細胞に発現するヒト TREM-1-L を同定した。

[2] CDKI は用量依存性の関節炎抑制効果を示したが、100mg/kg の連日投与では末梢血の赤血球数の減少を認めた。20mg/kg の CDKI は血球減少や消化管障害などの副作用なく、関節炎抑制効果を示した。

ETN 単独療法の関節炎抑制効果は 20mg/kg の CDKI 単独療法と同程度の効果を示したが、10mg/kg と 3mg/kg で用量反応性は認めなかった。しかし、3mg/kg の ETN と 20mg/kg の CDKI の併用療法は、速やかかつ強力な関節炎抑制効果を示した。骨破壊の抑制は ETN 単独療法でも観察されたが、併用療法ではより強力な骨破壊抑制傾向を示した。それぞれの単独療法、併用療法ともに抗 C II 抗体価と C II 特異的 T 細胞応答の抑制はきたさなかった。抗 IL-6 R Ab 単独療法の関節炎抑制効果も 20mg/kg の CDKI 単独療法と同程度だったが、抗 IL-6R=Ab と CDKI の併用療法も、それぞれの単独療法より高い有効性を示した。骨破壊抑制効果は各々の単独療法では観察されず、併用療法でのみ観察された。抗 IL-6R Ab 単独療法と併用療法は抗 C II 抗体価の低下をきたしたが、CDKI の併用による更なる抗体価の低下は見られなかった。また各群とも C II 特異的 T 細胞応答の抑制はきたさなかった。

#### D. 考察

[1] マウス CIA における抗 TREM-1-L 抗体の作用機序が明らかとなった。また、B 細胞上のヒト TREM-1-L も明らかとなり、マウス抗 TREM-1-L 抗体により確認された関節炎改善効果を関節リウマチ治療に応用できる可能性がでてきた。この治療法は骨破壊抑制も確認されており、関節破壊ゼロを目指した臨床応用に向けてヒト TREM-1-L の機能解析を行っていく。

[2] 臨床的に安全性が証明された CDKI でも関節炎治療効果を示すことができた。高用量の CDKI は血球減少をきたしたが、減量により副作用なく、関節炎抑制効果を得るこ

とができると考えられた。また、低用量の細胞周期制御療法と抗炎症療法との併用は協調的に関節炎の抑制効果を得ることができ、かつ獲得免疫能のさらなる抑制はきたさない安全な治療法になると考えられた。

#### E. 結論

[1] B 細胞上のヒト TREM-1 リガンドが同定され、抗 TREM-1-L 抗体による TREM-1 阻害が、マウス TREM-1 阻害同様、感染リスクが少なく、かつ関節破壊を抑制する新規関節炎治療法として開発されることが期待される。

[2] 二つの異なる分子標的治療の協調的効果を初めて示すものであり、細胞周期制御・抗炎症併用療法は副作用を抑えた、高い治療効果を協調的に示す新たな RA 治療法としての開発が期待される。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 学会発表

1. Hideyuki Iwai, Tadashi Hosoya, Yousuke Murakami, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka. Identification of the TREM-1 ligand as a therapeutic target of arthritis. Keystone symposium 2012.1
2. Hideyuki Iwai, Tadashi Hosoya, Kenchi Takenaka, Yousuke Murakami, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka. Functional analysis of mouse TREM-1 ligand and identification of human TREM-1 ligand 第 41 回日本免疫学会 2012.12,
3. Tadashi Hosoya, Yousuke Murakami, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka. Identification of the TREM-1 ligand as a therapeutic target of arthritis Hideyuki Iwai 第 4 回 EAGOR 2011.10
4. 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 第40回日本免疫学会  
2011.11

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

特になし

## 早期 RA に対する MTX の関節破壊抑制効果に関する解析

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

### 研究要旨

日常診療下の早期 RA に対するメトトレキサートの関節破壊抑制効果に着目し、それと関連する臨床的要因、サイトカイン変動を、慶應義塾大学リウマチ内科の早期 RA コホートで解析した。関節リウマチ治療薬のアンカードラッグであるメトトレキサートを日常臨床で経験する中疾患活動性の症例に投与した場合、76%が最低限の治療目標である低疾患活動性を1年後に満足するが、その時の構造的寛解は65%に留まり、一方、32%が臨床的に問題となる関節破壊進行(CRRP)を示し、18%が急速に関節破壊進行を来す事が SAKURA コホートの解析から明らかとなった。関節破壊進行と関連する血漿サイトカインとして IL-6 が有用なバイオマーカーである事が示された。

### A.研究目的

日常診療下の早期 RA に対するメトトレキサートの関節破壊抑制効果に着目し、それと関連する臨床的要因、サイトカイン変動を、慶應義塾大学リウマチ内科の早期 RA コホートから解析する。

### B.研究方法

1. 対象患者:慶應義塾大学リウマチ内科で、2008年8月から前向きに登録された新規診断 RA コホート SAKURA の中から、第一 DMARD として MTX が投与された 62 例を対象とした。

2. 臨床データ:62例の MTX 投与前、MTX 投与1年後の DAS28-ESR, SDAI, CDAI, CRP, MMP-3 などの

臨床パラメーターを収集した。1年以内に MTX 単独治療が終了した症例では、その最終単独等予備の臨床データを LOCFして解析した。

3. 血漿サイトカイン:MSD 社のルテニウム標識抗体による ultra-sensitive ELISA 9-plex キット(ECL 法)を用いて、MTX 投与前と投与1年後の患者血漿サイトカイン(IL-1 $\beta$ ,

IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , GM-CSF, を測定した。

4. 手足 X-P のスコアリング:van der heijde modified sharp 法によって、62例の MTX 投与前後の写真を2名の読影者(K.Y., N.N.)がスコア化(mTSS)した。5. 統計解析: JMP9.0 ソフトウエアを用いて統計解析した。

(倫理面への配慮)

2011年12月26日付で、慶應義塾大学医学部倫理委員会にて同研究内容は、多施設共同研究として承認されている(No.2011-231)。

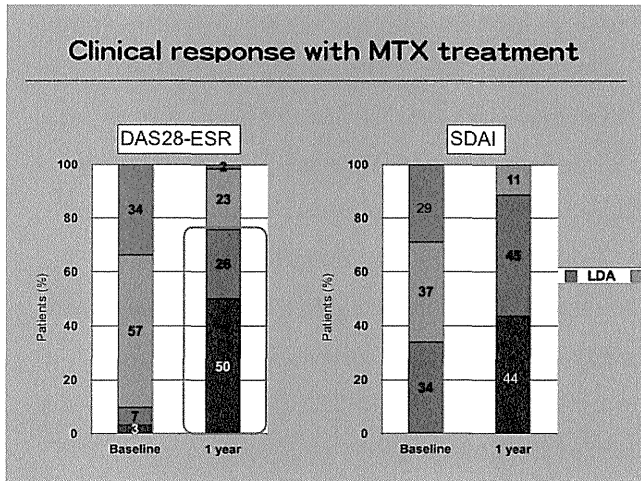
### C.研究結果

1) 患者背景:女性 79%、年齢 56+/-14.5 才、罹病期間 6.3+/-8.0 ヶ月、RF+ 74.2%、抗 CCP 74.2%、MTX 用量 8.7+/-2.3mg/週。

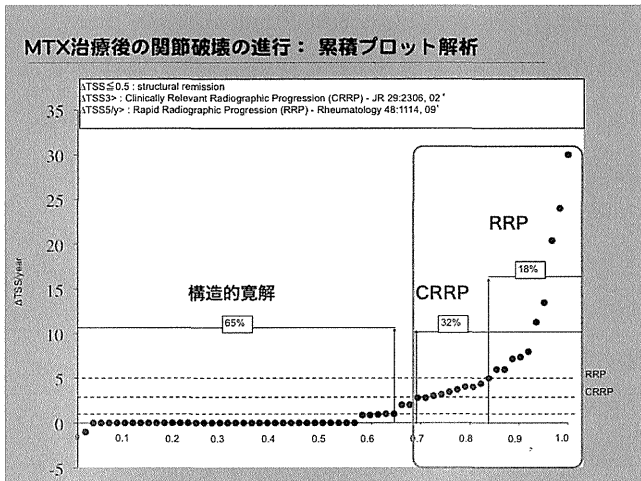
2) 臨床効果(図1):MTX 投与前の DAS28-ESR 高疾患活動性 33.9%、中疾患活動性 56.5%、低疾患活動性 6.5%、寛解 3.2%、MTX 投与1年後の DAS28-ESR 高疾患活動性 1.6%、中疾患活動性 22.6%、

低疾患活動性 25.8%、寛解 50.0%、と、半数が臨床的寛解を達成、3/4が低疾患活動性以上を達成した。3) 関

節破壊の進行:MTX 投与前の mTSS 8.7+/-20.3、MTX 投与1年後の mTSS 11.1+/-21.1。



4) 構造的寛解とCRRP/RRP(図2):構造的寛解は65%、Clinically relevant radiographic progression (CRRP) 32%、Rapid radiographic progression (RRP) 18%。

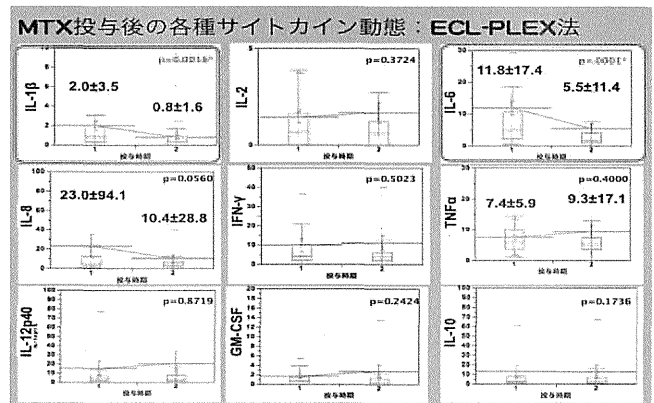


5) 血漿IL-6濃度はMTX投与前4.72pg/mlから1.04pg/mlへと78%低下したのに対し、TNFαは0.87pg/mlから-0.83pg/mlと有意な低下を認めなかった。

6) IL-6とTNF αの従来型ELISA法と超高感度ECL法の比較:MTX投与前後のIL-6と、TNF αに関して、両アッセイ系によって比較した。IL-6の両アッセイの相関は、 $r=0.864$ 、 $p<0.0001$ と良好で、TNF αは、 $r=0.659$ 、 $p<0.001$ とIL-6と比較し相関が低かった。IL-6は、従来型ELISA法で $20.9 \pm 47.3$ pg/mlで検出限界に近い1pg/ml以下を9例(14.5%)に、

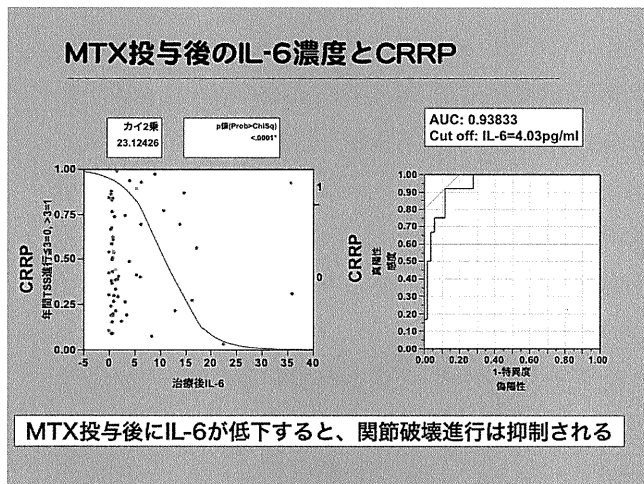
検出不能例を2例に認めた。一方、超高感度ECL法によるIL-6は $11.8 \pm 17.4$  pg/mlで、1pg/ml以下は4例(6.5%)であったが、検出不能例は認めなかった。TNF αは、従来型ELISA法で $1.0 \pm 1.3$ pg/mlで検出限界に近い1pg/ml以下を33例(53.2%)に、検出不能例を26例(41.9%)に認めた。一方、超高感度ECL法によるTNF αは $7.0 \pm 4.6$  pg/mlで、1pg/ml以下は0例、検出不能例を認めなかった。いずれのサイトカインにおいてもultra-sensitive ECLアッセイ系の優越性が明らかとなった。特に、TNF α測定においては、超高感度ECLアッセイ法は、検出不能例がなく、優れた検出系と考えられた。

7) 3) 治療後サイトカインの変動(図3):治療前後で有意に変化したサイトカインは、IL-1 βとIL-6であった。IL-1 βは治療前 $2.0 \pm 3.5$  pg/mlから、治療後 $0.8 \pm 1.6$  pg/mlへと低下した( $p=0.0016$ )。IL-6は、治療前 $11.8 \pm 17.4$  pg/mlから治療後 $5.5 \pm 11.4$  pg/mlへと68%低下した( $p<0.0001$ )。一方、TNF αは、超高感度ECL法によっても、治療前 $7.0 \pm 4.6$  pg/mlから治療後 $9.3 \pm 17.1$  pg/ml( $p=0.400$ )と変化無く、IL-2、IL-8、IL-10、IFN γ、GM-CSFも有意な変化を示さなかった。



8) 年間関節破壊進行度と関連するMTX 投与1年後の要因:クラスター解析によって estimated yearly progression との相関を解析した所、これとクラスターを形成する要因として、MTX 投与1年後のIL-6 値、MMP-3 の二つが明らかとなった。最も相関が強かったMTX 投与後IL-6 値と臨床的に問題となる関節破壊進行 CRRP の関連をロジスティック回帰分析した所、この両者は  $p<0.0001$  で有意に関連し、

CRRP を来す IL-6 値を ROC 解析によって求めた所、4pg/ml のカットオフが AUC=0.938、感度 91%、特異度 89% の優れた数値を示す事が明らかとなった。(図4)



#### D. 考察/E. 結論

関節リウマチ治療薬のアンカードラッグであるメトトレキサートを日常臨床で経験する中疾患活動性の症例に投与した場合、76%が最低限の治療目標である低疾患活動性を1年後に満足するが、その時の構造的寛解は65%に留まり、一方、32%が臨床的に問題となる関節破壊進行(CRRP)を示し、18%が急速に関節破壊進行を来す事がSAKURA コホートの解析から明らかとなった。関節破壊進行と関連する血漿サイトカインとして IL-6 が有用なバイオマーカーである事が示された。

#### 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. Takeuchi T, Kawai S, Yamamoto K, Harigai M, Ishida K, and Miyasaka M. Post-marketing surveillance of the safety and effectiveness of tacrolimus in 3267 Japanese patients with rheumatoid arthritis. Mod Rheum 24:8-16, 2014.

2. Nishimoto N, Koichi Amano, Yasuhiko Hirabayashi, Takahiko Horiuchi, Tomonori Ishii, Mitsuhiro Iwahashi, Masahiro Iwamoto, Hitoshi Kohsaka, Masakazu Kondo, Tsukasa Matsubara, Toshihide Mimura, Hisaaki Miyahara, Shuji Ohta, Yukihiko Saeki, Kazuyoshi Saito, Hajime Sano, Kiyoshi Takasugi, Tsutomu Takeuchi, Shigeto Tohma, Tomomi Tsuru, Yukitaka Ueki, Jiro Yamana, Jun Hashimoto, Takaji Matsutani, Miho Murakami, Nobuhiro Takagi. Retreatment efficacy and safety of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis in recurrence (RESTORE) study. Mod Rheum 24:26-32, 2014.
3. Sugano K, Kinoshita Y, Miwa H, Takeuchi T, and the esomeprazole NSAID preventive study group. Randomised clinical trial: esomeprazole for the prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drug-related peptic ulcers in Japanese patients. Alimentary Pharmacology and Therapeutics in press.
4. Nakajima A, Saitoh K, Kojima T, Amano K, Yoshio T, Fukuda W, Inoue E, Taniguchi A, Momohara S, Minota S, Takeuchi T, Ishiguro N, Tanaka Y, and Yamanaka H. No increased mortality in patients with rheumatoid arthritis treated with biologics: results from the biologics register of six rheumatology institutes in Japan. Mod Rheum in press.
5. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Tanaka Y, Yamanaka H, Hirose T, Yoshinaga T, and Suzukawa M. Safety and effectiveness of 6 months etanercept monotherapy and combination therapy in Japanese patients with Rheumatoid Arthritis: Effect of concomitant disease-modifying anti-rheumatic drugs. J Rheumatology in press.
6. Kaneko Y, Kuwana M, and Takeuchi T. Osteolytic change in distal interphalangeal joint and sacroiliac joints in subluxing arthropathy in anti-jo-1 antibody. Joint Bone & Spine, in press.