

201407020A

厚生労働科学研究費補助金  
創薬基盤推進研究事業

課題番号 (H24-バイオ-一般-002)

**次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての  
LRG 定量キットの開発と臨床応用**

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 仲 哲治

独立行政法人医薬基盤研究所

平成 27(2015)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金  
創薬基盤推進研究事業

課題番号 (H24-バイオ-一般-002)

**次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての  
LRG 定量キットの開発と臨床応用**

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 仲 哲治

独立行政法人医薬基盤研究所

平成 27(2015)年 3 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての LRG 定量キットの開発と臨床応用 仲 哲 治 .....	1
---	---

### II. 分担研究報告

1. 次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての LRG 定量キットの開発と臨床応用（臨床検体および臨床情報の収集） 竹 内 勤 .....	7
2. 次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての LRG 定量キットの開発と臨床応用 南 木 敏 宏 .....	11
3. 次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての LRG 定量キットの開発と臨床応用 緒 方 篤 .....	17
4. 次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての LRG 定量キットの開発 —抗体作製法に関する検討— 角 田 慎 一 .....	20
5. 抗 leucine rich alpha-2 glycoprotein (LRG) 抗体の開発と ELISA システムの構築 服 部 有 宏 .....	24

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	29
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷 .....	41
-----------------------	----

## 次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての LRG 定量キットの開発と臨床応用

研究代表者 仲哲治 独立行政法人医薬基盤研究所 創薬基盤研究部 創薬基盤研究部長

### 研究要旨

関節リウマチ(RA)の治療には TNF を阻害する生物製剤以外に本邦で開発された抗 IL-6 受容体抗体 (tocilizumab) が劇的な治療効果を上げている。しかし、tocilizumab に無効な症例も存在するため、無効例を早期に判別し薬剤変更することが疾患の進行を阻止するために重要である。現在、疾患活動性マーカーとして CRP が使用されているが、抗 IL-6 受容体抗体投与時には IL-6 依存性の CRP が治療効果に無関係に常に陰性化し、感染症を合併しても上昇することがないため、無効例への継続投与やその発見の遅れから感染症重症化の懸念がある。現在、スーパー特区(岸本班)において共同研究者の中外製薬は次世代型抗 IL-6 受容体抗体を開発中である。次世代型抗 IL-6 受容体抗体は、最新の抗体工学技術(Igawa T et al, Nat Biotechnol 2010)を用いて現行の抗 IL-6 受容体抗体(tocilizumab)に比べて半減期を2倍以上に延長したものであり、投与回数の減少により医療費の削減に貢献するものと期待されるが、IL-6 を阻害する以上は上記問題点を現行型の tocilizumab と共有する。以上より、IL-6 に依存せず疾患活動性を正確に反映する新たなマーカーの開発が急務である。これまで申請者らは最新のプロテオミクス手法を駆使して leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG) が CRP に代わる RA の新たな活動性マーカーとなり得る可能性を報告した。また、LRG は TNF、IL-6、IL-22 など複数のサイトカインで誘導され、LRG が IL-6 阻害時にも上昇することや、結核や重症感染症においても上昇することを明らかにした。

本年度においては、研究代表者は研究分担者の服部等が開発した LRG の天然の立体構造を認識するモノクローナル抗体によって構築された血液中の LRG を定量出来る ELISA システムを用いて、抗 IL-6 受容体抗体投与時の血中 LRG 濃度を定量した結果、CRP 低値(CRP<0.2)の患者において、疾患活動性のある患者(CDAI>2.8)を検出できることを明らかにした(論文投稿中)。このことは次世代型抗 IL-6 受容体抗体による治療を受ける関節リウマチ患者において、CRP よりも血中 LRG 濃度を定量する事の方が疾患活動性を正確に把握する上で有用性が高いことを示唆している。

### 研究分担者

竹内勤	慶應義塾大学 医学部 リウマチ内科学	教授
南木敏宏	帝京大学 医学部 臨床研究医学講座	特任准教授
緒方篤	大阪大学大学院医学系研究科 呼吸器免疫アレルギー内科学	准教授
角田慎一	医薬基盤研究所 創薬基盤研究部 バイオ創薬プロジェクト	プロジェクトリーダー
服部有宏	中外製薬株式会社 富士御殿場研究所 研究本部 探索研究部	探索研究部長

### A. 研究目的

本研究の目的は、治験が予定されている次世代型抗 IL-6 受容体抗体(スーパー特区で開

発中)投与前後の関節リウマチ(RA)患者血清の leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG) を測定し、LRG が抗 IL-6 受容体抗体投与時に

も信頼性の高い新たな炎症マーカーであることと、生物学的製剤使用時に併発する感染症を早期に検出できるマーカーとなる事を証明し、最終的には臨床検査として血清 LRG 測定を実用化することである。

RA の治療には TNF を阻害する生物製剤 (infliximab, adalimumab, etanercept) 以外に本邦で開発された抗 IL-6 受容体抗体 (tocilizumab) が劇的な治療効果を上げている。しかし、tocilizumab に無効な症例も存在するため、無効例を早期に判別し薬剤変更することが疾患の進行を阻止するために重要である。現在、疾患活動性マーカーとして CRP が使用されている。しかし、抗 IL-6 受容体抗体投与時には、IL-6 依存性の CRP は治療効果に無関係に常に陰性化し、感染症を合併しても上昇することがないため、感染症重症化の懸念がある。現在、スーパー特区において共同研究者の中外製薬は次世代型抗 IL-6 受容体抗体を開発中である。次世代型抗 IL-6 受容体抗体とは、最新の抗体工学技術 (Igawa T *et al*, Nat Biotechnol. 2010) を用いて現行の抗 IL-6 受容体抗体に比べて半減期を 2 倍以上に延長したものであり、投与回数を減らすことにより医療費の削減に貢献するものと期待されるが、IL-6 を阻害する以上は上記問題点を現行型と共有する。以上より、IL-6 に依存せず疾患活動性を正確に反映する新たなマーカーの開発が急務である。これまで申請者らは最新のプロテオミクス手法を駆使して LRG が CRP に代わる RA の新たな活動性マーカーとなり得る可能性を報告した (Serada S, Naka T *et al*, Ann Rheum Dis 2010)。また、LRG は TNF、IL-6、IL-22 など複数のサイトカインで誘導され、IL-6 阻害時にも上昇することを明らかにした (Serada S, Naka T. *et al*, Inflamm Bowel Dis. 2012)。さらに、結核や重症感染症においても血中 LRG 濃度が上昇するというデータも持ち合わせている。したがって、LRG は次世代型抗 IL-6 受容体抗体投与時にも薬

剤に影響されずに正確に疾患活動性を反映するマーカーであることが大いに期待される。なお、感染症併発時にも LRG は上昇すると期待されるが、原疾患の悪化か感染症併発かは臨床症状から十分鑑別可能と考えられる。

本研究では、治験が予定されている次世代型抗 IL-6 受容体抗体投与前後の RA 患者血清の LRG が抗 IL-6 受容体抗体投与時にも信頼性の高い新たな炎症マーカーであることを証明し、臨床検査として血清 LRG 測定を実用化することを目的とした。分担研究者の服部有宏のグループで構築された LRG の天然の立体構造を認識する抗体を用いた LRG の ELISA システムを用いて、抗 IL-6 受容体抗体治療時の関節リウマチ患者血清中の LRG の定量を行い、血中 LRG 濃度と疾患活動性との関係について解析した。

## B. 研究方法

### (1) LRG の天然の立体構造を認識する抗体を用いた関節リウマチ患者血清中 LRG の定量

分担研究者の服部有宏のグループで構築された LRG の天然の立体構造を認識するモノクローナル抗体 (固相化用抗体 LRB00091、検出用抗体 LRB00048) を用いた LRG の ELISA システムを用いて、抗 IL-6 受容体抗体治療時の関節リウマチ患者血清中の LRG の定量を行った。血中 LRG 濃度と CRP 濃度、疾患活動性スコア (CDAI) を用いた。血清サンプルと臨床情報は研究分担者の竹内勤教授、南木敏宏特任准教授、緒方篤准教授より提供していただいた。

### (2) 次世代型抗 IL-6 受容体抗体による治療を受ける RA 血清と臨床情報の収集

本研究を進めるにあたり臨床検体 (患者血清) が必要となるが、すでに慶應義塾大学、帝京大学、大阪大学医学部、医薬基盤研究所にて倫理委員会の承認済みである。将来、次世代型抗 IL-6 受容体抗体の治療により治療を受ける RA 患者より臨床検体を提供していた

だく必要があるが、次世代型抗 IL-6 受容体抗体を使用する RA 検体の収集には時間がかかることが考えられる。そこで、まず従来型の抗 IL-6 受容体抗体 (tocilizumab) により治療を受ける RA 患者より血清サンプルを平成 27 年 1 月まで 106 例を収集し、それに対応する詳細な臨床情報についても収集した。

#### (倫理面への配慮)

##### インフォームドコンセント

本研究は大阪大学医学部医学倫理委員会、帝京大学医学部倫理審査委員会、慶應義塾大学医学部倫理委員会、及び、医薬基盤研究所研究倫理審査委員会にて承認された研究計画書、「個人情報保護法」、「臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号)」に準じて実施した。対象患者に対し、大阪大学医学部附属病院、帝京大学医学部附属病院、慶應義塾大学附属病院の共同研究者である医師が説明資料に従い研究について説明し、十分の理解を得た上で、文書に同意を得た。

##### 個人情報保護

大阪大学医学部附属病院においては呼吸器・免疫アレルギー内科、緒方篤准教授、帝京大学医学部附属病院においては臨床研究医学講座、南木敏宏特任准教授、慶應義塾大学附属病院においては西川あゆみ助教を個人情報管理者とし連結可能匿名化することで個人情報の管理を行った。医薬基盤研究所には大阪大学医学部附属病院、帝京大学医学部附属病院、慶應義塾大学附属病院において連結可能匿名化された情報が試料とともに提供され、提供される情報は年齢、性別、病名、生化学データとした。

#### C. 研究結果

結果は D 項にまとめて記載した。

#### D. 結果・考察

##### (1) LRG の天然の立体構造を認識する抗体を用いた関節リウマチ患者血清中 LRG の定量

関節リウマチ患者において抗 IL-6 受容体抗体による治療を受けると、疾患活動性がまだ残っているのに対して、IL-6 依存性の血清マーカーである CRP は陰性化してしまうため、CRP は疾患活動性マーカーとして機能しない。そこで、我々が発見した新規炎症マーカータンパク質である LRG が抗 IL-6 受容体抗体により治療を受ける関節リウマチ患者において、疾患活動性マーカーとなり得るかどうかを検討した。

研究分担者の服部等が開発した LRG の ELISA システムを用いて抗 IL-6 受容体抗体により治療を受ける関節リウマチ患者血清 (治療開始後 24 週後以降) の LRG 濃度を定量した。その結果、抗 IL-6 受容体抗体による治療開始後 24 週以降の患者において、CDAI<sub>2.8</sub> 以下の寛解期の患者血中 LRG 濃度と比較し、CDAI<sub>>2.8</sub> の非寛解期の関節リウマチ患者において血清 LRG 濃度の有意な上昇が認められた (図 1)。LRG の発現誘導には IL-6 以外にも IL-22、TNF- $\alpha$  など様々なサイトカインが関与していることから、CRP よりも LRG の方が疾患活動性を検出するマーカーとして適している可能性が示唆された。

#### E. 結論

本研究にて、ヒト血液中の LRG を定量するキットの開発に成功した。抗 IL-6 受容体抗体による治療を受ける関節リウマチ患者において、CRP では検出出来ない疾患活動性を有する関節リウマチ患者について、血中 LRG 濃度を定量する事により疾患活動性を正確に把握する事が出来たため、抗 IL-6 受容体抗体治療時の疾患活動性マーカーとして血清 LRG 濃度を測定する事の有用性が高いことが示唆された。

## F. 健康危険情報

該当無し。

## G. 研究発表

### G-1. 論文発表

1. Furukawa K, Kawamoto K, Eguchi H, Tanemura M, Tomimaru Y, Akita H, Hama N, Wada H, Kobayashi S, Nonaka Y, Takamatsu S, Shinzaki S, Kumada T, Satomura S, Ito T, Serada S, **Naka T**, Mori M, Doki Y, Miyoshi E, Nagano H.

Clinico-Pathological Significance of Leucine-Rich Alpha-2-Glycoprotein-1 in Sera of Patients with Pancreatic Cancer. *Pancreas*. 2015 Jan;44(1):93-98.

2. Yang L, Fujimoto M, Murota H, Serada S, Fujimoto M, Honda H, Yamada K, Suzuki K, Nishikawa A, Hosono Y, Yoneda Y, Takehara K, Imura Y, Mimori T, Takeuchi T, Katayama I, **Naka T**.

Proteomic identification of heterogeneous nuclear RNP-K as a novel cold-associated autoantigen in patients with secondary Raynaud's phenomenon. *Rheumatology*. 2014 In Press

3. Kawabata A, Serada S, **Naka T**, Mori Y. Human herpesvirus 6 gM/gN complex interacts with v-SNARE in infected cells. *Journal of General Virology* 2014 Dec;95(Pt 12):2769-77.

4. Azuma K, Serada S, Takamatsu S, Terao N, Takeishi S, Kamada Y, **Naka T**, Miyoshi E. Identification of sialylated glycoproteins in doxorubicin-treated hepatoma cells with glycoproteomic analyses. *Journal of Proteome Research* 2014 Nov 7;13(11):4869-77.

5. Morimoto A, Serada S, Enomoto T, Kim A, Matsuzaki S, Yokoyama T, Takahashi T, Ueda Y, Yoshino K, Fujita M, Fujimoto M, Kimura T, **Naka T**. Annexin A4 induces platinum resistance in a chloride- and calcium-dependent manner. *Oncotarget*. 2014 Sep 15;5(17):7776-87.

6. Kotobuki Y, Yang L, Serada S, Tanemura A, Yang F, Nomura S, Kudo A, Izuhara K, Murota H, Fujimoto M, Katayama I, **Naka T**. Periostin Accelerates Human Malignant Melanoma Progression by Modifying the Melanoma Microenvironment. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2014 Jul;27(4):630-9.

7. Oji Y, Tatsumi N, Fukuda M, Nakatsuka S, Aoyagi S, Hirata E, Nanchi I, Fujiki F, Nakajima H, Yamamoto Y, Shibata S, Nakamura M, Hasegawa K, Takagi S, Fukuda I, Hoshikawa T, Murakami Y, Mori M, Inoue M, **Naka T**, Tomonaga T, Shimizu Y, Nakagawa M, Hasegawa J, Nezu R, Inohara H, Izumoto S, Nonomura N, Yoshimine T, Okumura M, Morii E, Maeda H, Nishida S, Hosen N, Tsuboi A, Oka Y, Sugiyama H. The translation elongation factor eEF2 is a novel tumor-associated antigen overexpressed in various types of cancers. *Int J Oncol*. 2014 May;44(5):1461-9.

8. Yang L, Murota H, Serada S, Fujimoto M, Kudo A, **Naka T**, Katayama I. Histamine Contributes to Tissue Remodeling via Periostin Expression. *J Invest Dermatol*. 2014 Aug;134(8):2105-13.

9. Matsuzaki S, Enomoto T, Serada S,

Yoshino K, Nagamori S, Morimoto A, Yokoyama T, Kim A, Kimura T, Ueda Y, Fujita M, Fujimoto M, Kanai Y, Kimura T, **Naka T**. Annexin A4-conferred platinum resistance is mediated by the copper transporter ATP7A. Int J Cancer. 2014 Apr 15;134(8):1796-809.

10. Sadaoka T, Serada S, Kato J, Hayashi M, Gomi Y, **Naka T**, Yamanishi K, Mori Y. Varicella-zoster virus ORF49 functions in the efficient production of progeny virus through its interaction with essential tegument protein ORF44. Journal of Virology. 2014 Jan;88(1):188-201.

11. Ota M, Serada S, **Naka T**, Mori Y. MHC class I molecules are incorporated into human herpesvirus-6 viral particles and released into the extracellular environment Microbiol Immunol. 2014 Feb;58(2):119-25.

## G-2. 学会発表

1. 2014 ACR/ARHP Annual Meeting: November 14 - 19 Boston, Massachusetts. Boston Convention & Exhibition Center. Leucine-Rich Alpha-2 Glycoprotein Is a Potential Disease Activity Marker Under IL-6 Suppression in Autoimmune Arthritis. Yusuke Takahashi, Minoru Fujimoto, Satoshi Serada and **Tetsuji Naka**

2. 2014 ICIS: 26th - 29th October 2014 Melbourne Convention and Exhibition Centre, Melbourne. Leucine-rich  $\alpha$ 2 glycoprotein promotes TGF $\beta$ 1-induced apoptosis in the lewis lung carcinoma cell lines. Norihiko Takemoto, Tomoshige Matsumoto,

Satoshi Serada, Minoru Fujimoto, **Tetsuji Naka**

3. EULAR2014 Paris: June 14 2014 Measurement of serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein a novel disease activity biomarker in rheumatoid arthritis for the detection of biologic-associated tuberculosis. Tomoharu Ohkawara, Minoru Fujimoto, Satoshi Serada, **Tetsuji Naka**.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当無し。

## I. 研究協力者

藤本 穰	医薬基盤研究所 免疫シグナルプロジェクト
世良田 聡	医薬基盤研究所 免疫シグナルプロジェクト
武本 憲彦	医薬基盤研究所 免疫シグナルプロジェクト
本田 宏美	医薬基盤研究所 免疫シグナルプロジェクト
岩橋 千春	医薬基盤研究所 免疫シグナルプロジェクト



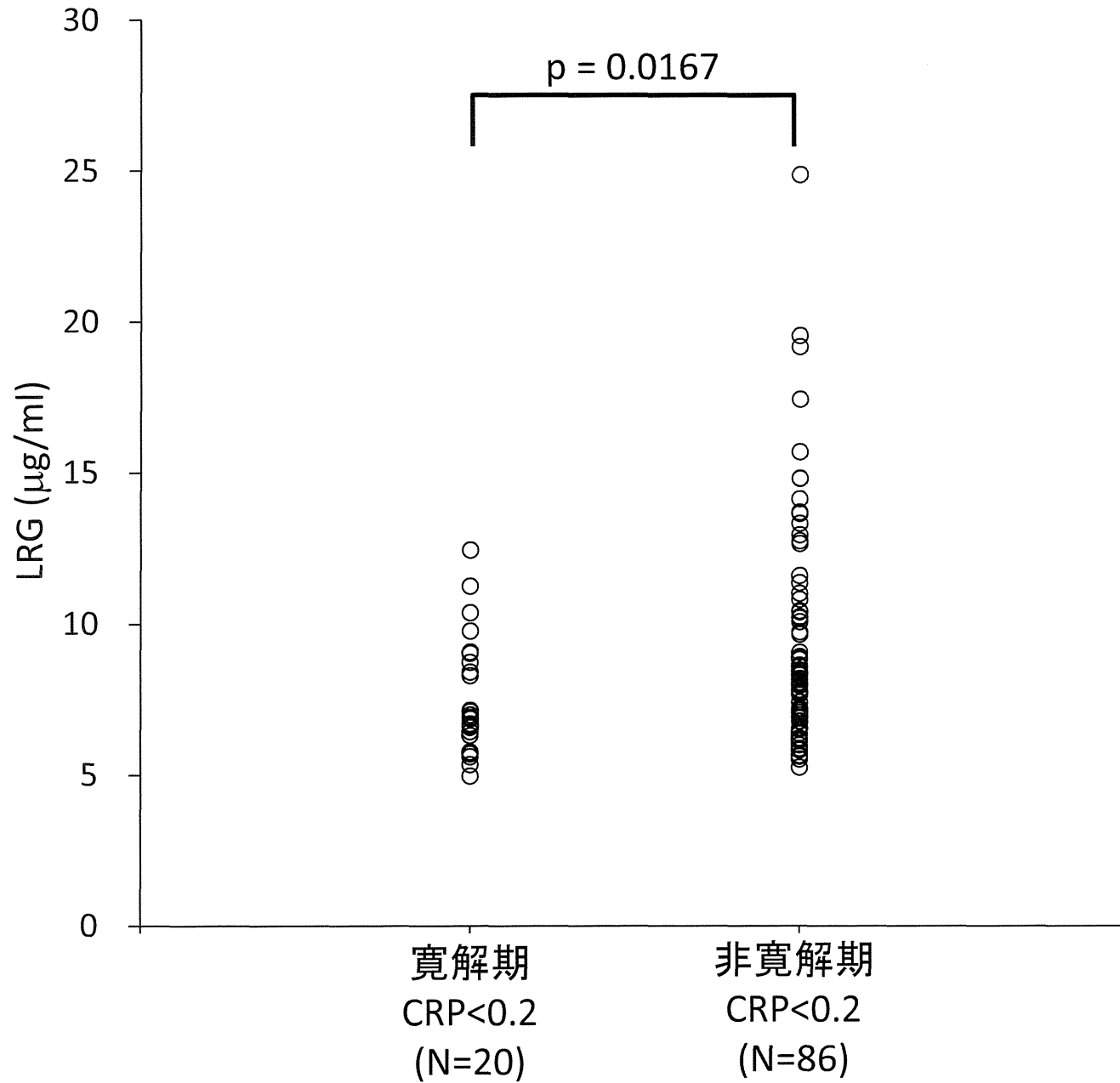


図1.アクテムラ投与時のRA患者において、疾患活動性のある患者にて、LRGが疾患活動性を検出出来る検体がある

次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての  
LRG 定量キットの開発と臨床応用  
(臨床検体および臨床情報の収集)

研究分担者 竹内 勤 慶應義塾大学医学部リウマチ内科学 教授

## 研究要旨

本分担研究では、次世代型 IL-6 受容体抗体による治療を受ける RA 患者血清とその臨床情報の収集、次世代型 IL-6 受容体抗体投与前後の RA 患者の血清を 50 例を目標に収集するシステムの構築と、血清の収集を行うことを目標とする。H 24 年度に研究計画の倫理委員会承認手続きを終了し、昨年度および本年度は 1) 臨床検体情報データベースの構築、2) 臨床検体の収集にむけた準備を引き続き行った。研究班として早期の治験開始を目指した予備検討が完了した。研究班の創薬基盤の構築の推進に役立てていきたい。

### A.研究目的

本研究班の目的は、今後治験が予定されている次世代型 IL-6 受容体抗体(スーパー特区、免疫先端医薬品開発プロジェクト-先端的抗体医薬品・アジュバントの革新的技術の開発、代表岸本忠三)による治療を受ける関節リウマチ(RA)患者において、血清 leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG)レベルが RA の治療効果を正確に反映するバイオマーカーであることを本研究期間内に証明し、臨床検査として血清 LRG 測定を実用化することである。

本研究班では H24 年度に血中 LRG を定量できるシステムを構築し、H25 年度に次世代型 IL-6 受容体抗体投与時のサルコラーゲン関節炎血清 LRG の定量と疾患活動性マーカーとしての有用性の評価、H26 年度以降には多数例(総数 50 例)の RA 血清を用いて IL-6 阻害治療時の炎症マーカーとして LRG の有用性を証明し、臨床検査としての実用化を最終目標とする。現在、国内外を含めて血清 LRG 測定を臨床応用している例はなく、これが臨床検査として使用可能に IL-6 受容体抗体投与例において正確な効果判定と感染症合併の早期診断における有用性が高く、

効率的な医療に貢献すると考えられる。

本分担研究では、次世代型 IL-6 受容体抗体による治療を受ける RA 患者血清とその臨床情報の収集、次世代型 IL-6 受容体抗体投与前後の RA 患者血清を 50 例を目標に収集するシステムの構築と、血清の収集を行うことを目標とする。

### B.研究方法

本年度は、1) 臨床検体情報データベースの構築、2) 臨床検体の収集にむけた準備を行った。(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する。検体提供者のプライバシーについて最大限配慮を行う。

### C.研究結果

#### 1) 臨床検体情報データベースの構築

臨床検体および臨床情報(疾患活動性スコア、CRP、WBC、MMP-3 など)を管理するための情報データベースの作成を行った。

#### 2) 臨床試験検体の収集にむけた準備

臨床検体は薬剤開始前と投与ごとに採取を予定している。血清等の処理を含めた各種の関連する予備実験を行った。また、臨床試験開始に向けて、当施設における体制の整備に向けた準備を行った。

#### D. 考察

臨床試験の実施、検体および情報の収集に向けた予備的検討を行いシステム構築、人的整備をした。また今後、検討すべき課題を抽出した。

#### E. 結論

研究班として早期の治験開始を目指すとともに、本分担研究でも引き続き予備検討をすすめ、研究班の創薬基盤の構築の推進に役立てていきたい。

#### F. 健康危険情報

該当無し。

#### G. 研究発表

##### G-1 論文発表

1. Shirai Y, Okazaki Y, Inoue Y, Tamura Y, Yasuoka H, **Takeuchi T**, and Kuwana M. Elevated pentraxin 3 in systemic sclerosis: Associations with vascular manifestations and defective vasculogenesis. *Arthritis & Rheumatology*, February;67(2)498-507, 2015

2. **Takeuchi T**, Matsubara T, Ohta S, Mukai M, Amano K, Tohma S, Tanaka Y, Namanaka H, and Miyasaka N. Biologic-free remission of established rheumatoid arthritis after discontinuation of abatacept: a prospective multi-center, observational study in Japan. *Rheumatology*, online September 24 2014.

3. Kaneko Y, Koike T, Oda H, Yamamoto K, Miyasaka N, Harigai M, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, and **Takeuchi T**. Obstacles to the implementation of the

treat-to-target strategy for rheumatoid arthritis and safety of certolizumab pegol in Japanese rheumatoid arthritis in clinical practice in Japan. *Mod Rheum*, online June 20, 2014.

4. Akiyama M, Kaneko Y, Hanaoka H, Kuwana M, and **Takeuchi T**. Polychondritis presenting with oculomotor and abducens nerve palsies as initial manifestation. *Mod Rheum*, online June 2, 2014.

5. Inaba T, Hisatsune C, Sasaki Y, Sasaki Y, Ogawa Y, Ebisu E, Ogawa N, Matsui M, **Takeuchi T**, Mikoshiba K, and Tsubota T. Mice lacking inositol 1,4,5-triphosphate receptors exhibit dry eye. *Plos One* 9:e99205, 2014.

6. Mok CC, Yap DY, Navarra SV, Liu Z-H, Zao M-H, Lu L, **Takeuchi T**, Avihingsanon Y, Yu X-Q, Lapid EA, Lague-Lizardo LR, Smethkul V, Shen N, Chen S-L, and Chan TM, for the Asian Lupus Nephritis Network. Overview of lupus nephritis management guidelines and perspective from Asia. *Nephrology* 19:11-20, 2014.

7. Izumi K, Kaneko Y, Yasuoka H, Seta N, Kameda H, Kuwana M, and **Takeuchi T**. Tocilizumab is clinically, functionally and radiographically effective and safe either with or without low-dose methotrexate in active rheumatoid arthritis patients with inadequate responses to DMARDs and/or TNF inhibitors: A single center retrospective cohort study (KEIO-TCZ study) at 52 week. *Mod Rheum*, online April 1, 2014.

8. Kaneko Y, Kuwana M, Kondo H, and

**Takeuchi T.** Discordance in global assessments between patient and estimator in patients with newly diagnosed rheumatoid arthritis: associations with progressive joint destruction and functional impairment. *J Rheumatology*, 40:1061-66, 2014.

9. **Takeuchi T**, Matubara T, Urata Y, Suematsu E, Ohta S, Honjyo S, Abe T, Yamamoto A, Miyasaka N, and the Japan Abatacept Study Group. Phase III, multicenter, open-label, long-term study of the safety of abatacept in Japanese patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to methotrexate conventional or biologic disease-modifying anti-rheumatic drugs. *Mod Rheum* 24:744-753, 2014.

10. **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.

11. **Takeuchi T**, Yamanaka H, Ishiguro N, Miyasaka N, Mukai M, Matsubara T, Uchida S, Akama H, Hartmut K, Vipin A, and Tanaka Y. Adalimumab, a Human anti-TNF monoclonal antibody, outcome study for the prevention of joint damage in Japanese patients with early RA; the HOPEFUL 1 study. *Ann Rheum Dis*, 73:536-543, 2014.

12. Nishina N, Kikuchi J, Hashizume M, Yoshimoto K, Kameda H, and **Takeuchi T**. Baseline levels of soluble interleukin-6 receptor predict clinical remission in patients with rheumatoid arthritis treated with tocilizumab: implications for molecular

targeted therapy. *Ann Rheum Dis*, 73:945-7, 2014.

13. Kaneko Y, Hanaoka H, Hirakata M, **Takeuchi T**, and Kuwana M. Distinct arthropathies of the hands in patients with anti-aminoacyl tRNA synthetase antibodies: usefulness of autoantibody profiles in classifying patients. *Rheumatology*, 53:1120-24, 2014.

14. 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. Drug free REmission/low disease activity after cessation of tocilizumab (Actemra) Monotherapy (DREAM) study. *Mod Rheum*, 24:17-25, 2014.

15. 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* ,2:426-32, 2014

## G-2 学会発表

該当無し。

## H.知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

### 1.特許取得

該当無し。

### 2.実用新案登録

該当無し。

### 3.その他

該当無し。

## I.研究協力者

鈴木 勝也	慶應義塾大学 医学部 リウマチ内科学 専任講師
西川 あゆみ	慶應義塾大学 医学部 リウマチ内科学 大学院生

## 次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての LRG 定量キットの開発と臨床応用

研究分担者 南木敏宏 帝京大学 医学部 臨床研究医学講座 特任准教授

### 研究要旨

関節リウマチ(RA)に対して TNF 阻害薬とともに IL-6 受容体抗体(tocilizumab)も世界的に広く用いられており、劇的な治療効果を上げている。治療効果の評価の一つとして血清 C-reactive protein (CRP)が用いられているが、tocilizumab は IL-6 からのシグナルを阻害するため、tocilizumab 投与中の患者は治療効果の有無にかかわらず血清 CRP は陰性化する。また、tocilizumab が投与されている患者では感染症発症時にも CRP の上昇がみられないことがある。そこで、特に tocilizumab 投与患者では CRP に代わる新たな疾患活動性マーカーが必要とされている。現在、研究分担者の中外製薬は次世代型 IL-6 受容体抗体を開発しているが、上記問題点は現行型の tocilizumab と同様である。これまで研究代表者らは血中 leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG)が CRP に代わる RA の新たな活動性マーカーとなり得る事を報告している。本年度も引き続き、生物学的製剤を新規に初めて使用する RA 患者血清を収集し、その疾患活動性や治療内容を検討し、血清中の LRG レベルを測定し、疾患活動性との関連を詳細に検討した。特に tocilizumab 投与中の患者における LRG の疾患活動性評価における有用性を検討した。

### A. 研究目的

生物学的製剤は、関節リウマチ（以降 RA）に対して広く用いられており、著明な炎症抑制効果、骨破壊抑制効果を認めている。現在本邦では RA に対する生物学的製剤として、5 種類の TNF 阻害薬（infliximab, etanercept, adalimumab, golimumab, certolizumab pegol）、及び IL-6 受容体抗体 (tocilizumab)、T 細胞の副刺激阻害薬 (CTLA-4-Ig: abatacept) が用いられている。Tocilizumab は IL-6 受容体  $\alpha$  に結合することにより IL-6 からのシグナルを阻害する。IL-6 は肝細胞からの C-reactive protein (CRP) 産生を制御しているため、tocilizumab を使用している患者では血中の CRP は上昇しにくくなる。CRP は RA の活動性を反映するマーカーとして広く用いられているが、tocilizumab 投与患者では RA の活動性が改善していない患者でも CRP が陰性となりうる。また、tocilizumab の重篤な副作用に感

染症があげられる。一般に重症感染症時には CRP が上昇するが、tocilizumab 投与患者では CRP 上昇を認めないことがある。そのため感染症の発見が遅れる危険もある。

現在、研究分担者の中外製薬は、現行の IL-6 受容体抗体に比べて半減期を 2 倍以上に延長した次世代型 IL-6 受容体抗体を開発している。半減期の延長により、投与回数や投与量を減らすことが期待されるが、IL-6 シグナルを阻害することによる上記の懸念される事項は現行型の抗 IL-6 受容体抗体と同様である。そのため、抗 IL-6 受容体抗体を投与する患者では、IL-6 に依存せず RA 疾患活動性や感染症の発症を反映する新たな血清マーカーの開発が必要とされている。

これまで本研究代表者らは、血中 leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG) が CRP に代わる RA の新たな活動性マーカーとなることを報告した (Serada S, Naka T *et al*, Ann

Rheum Dis. 2010)。LRG は複数のサイトカイン刺激で誘導され、IL-6 阻害時にも上昇した (Serada S, Naka T. *et al*, Inflamm Bowel Dis. 2012)。また、血中 LRG 濃度が感染症時にも上昇することが示唆されている。これらのことより、血中 LRG 濃度は IL-6 シグナル阻害に影響されず、RA の疾患活動性や、感染症併発時のマーカーとして有用であることが期待される。

そこで、本研究は IL-6 受容体抗体を投与する RA 患者血清の LRG 濃度を測定し、LRG レベルが IL-6 受容体抗体投与時にも関節炎の活動性の指標となること、また感染症の発症を早期に検出できるマーカーとなることを証明し、臨床検査として血清 LRG 測定を実用化することを目的とする。本年度も、RA 患者の血清を収集し、疾患活動性、治療内容を検討した。

## B. 研究方法

### 患者血清の収集

帝京大学倫理委員会にて本研究計画の承認を受けた後に研究を開始した。外来通院中の 1987 年 ACR 分類基準を満たす RA 患者で、新規に初めて生物学的製剤を投与する 7 人より、同意を取得後、血清約 5ml を採取した。また、患者情報として以下の項目を調査した (性別、年齢、治療内容、腫脹関節痛、圧痛関節数、赤沈、CRP、MMP-3、患者による全般評価 visual analogue scale (VAS)、医師による VAS)。

### (倫理面への配慮)

#### インフォームドコンセント

本研究は帝京大学倫理委員会にて承認された研究計画書に準じて実施した。本研究はヘルシンキ宣言 (2008 年改訂) および、「疫学研究 (平成 19 年改正・平成 20 年一部改正) に関する倫理指針」を遵守して実施した。全ての研究参加患者に倫理審査委員会承認の得られた同意説明文書による十分な説明を行い、自由意思による文書同

意を得た。

### 個人情報保護

帝京大学医学部臨床研究医学講座、南木敏宏を個人情報管理者とし、個人情報の管理を行った。基盤研には帝京大学において連結可能匿名化された情報が試料とともに提供し、提供される情報は、性別、年齢、治療内容、腫脹関節痛、圧痛関節数、赤沈、CRP、MMP-3、患者 VAS、医師 VAS とした。

## C. 研究結果

生物学的製剤が初めて投与される RA 患者 7 人より、生物学的製剤投与開始時、及び、投与 6 か月後の血清を採取した。男女比 3:4、年齢 66.3  $\pm$  15.9 歳 (平均  $\pm$  SD)。投与開始された生物学的製剤の内訳は tocilizumab 2 人、abatacept 2 人、golimumab 1 人、etanercept 1 人、infliximab 1 人であった。また、副腎皮質ステロイド薬は 4 人に投与されていた。

生物学的製剤投与開始時の RA の活動性は、圧痛関節数 (28 関節中) 2.3  $\pm$  3.9、腫脹関節数 (28 関節中) 6.7  $\pm$  3.6、赤沈 24.7  $\pm$  15.0 mm/hr、CRP 1.3  $\pm$  1.6 mg/dl、MMP-3 214.4  $\pm$  194.6 ng/ml、患者 VAS 4.6  $\pm$  3.0 cm/10 cm、医師 VAS 4.2  $\pm$  2.4 cm/10 cm であった。また、Disease activity score (DAS) 28-ESR 4.1  $\pm$  1.2、DAS28-CRP 3.6  $\pm$  1.3、simple disease activity index (SDAI) 17.8  $\pm$  10.2、clinical disease activity index (CDAI) 19.1  $\pm$  10.9 であった。

投与開始 6 か月後は、圧痛関節数 (28 関節中) 2.6  $\pm$  4.5、腫脹関節数 (28 関節中) 3.0  $\pm$  2.9、赤沈 8.4  $\pm$  9.0 mm/hr、CRP 0.2  $\pm$  0.4 mg/dl、MMP-3 122.0  $\pm$  122.0 ng/ml、患者 VAS 1.8  $\pm$  1.8 cm/10 cm、医師 VAS 1.9  $\pm$  1.3 cm/10 cm、DAS28-ESR 2.4  $\pm$  1.0、DAS28-CRP 2.3  $\pm$  1.3、SDAI 9.3  $\pm$  9.9、CDAI 9.4  $\pm$  9.9 であった。症例数は 7 例と少数であるが、赤沈、CRP、

DAS28-ESR は、6 か月後に統計学的有意に低下していた ( $p < 0.05$ )。

患者血清を、研究代表者に送付し、他施設からの血清とともに LRG 濃度を測定し、疾患活動性との関連の解析に用いた。

#### D. 考察

Tocilizumab 含めた生物学的製剤を新規に初めての生物学的製剤として投与開始した RA 患者より血清を収集し、他の協力施設からの検体含めて研究代表者により LRG 濃度を測定した。生物学的製剤投与開始時、及び、投与開始 6 か月後の RA の疾患活動性と、血清 LRG レベル、活動性評価に用いる各々のコンポーネントや、MMP-3 などとの関連を解析した。少数例ではあるが、収集した症例において、赤沈、CRP、DAS28-ESR は、6 か月後に統計学的有意に低下していた。これまで、RA の疾患活動性マーカーとして、赤沈、CRP、MMP-3 が用いられてきた。本研究結果では、LRG と既存のマーカーとの関連性、各マーカーの特徴などが評価できるものである。Tocilizumab が用いられている患者で、疾患活動性はあるものの CRP 陰性の場合、LRG 含めた各マーカーの有用性が解明され、血清 LRG 濃度が一般の臨床で測定可能になることが期待される。

#### E. 結論

抗 IL-6 受容体抗体投与中の RA 患者において、血中 LRG レベルが疾患活動性の評価に有用である。

#### F. 健康危険情報

該当無し。

#### G. 研究発表

##### G-1. 論文発表

1.Tanaka M, Koike R, Sakai R, Saito K, Hirata S, Nagasawa H, Kameda H, Hara M,

Kawaguchi Y, Tohma S, Takasaki Y, Dohi M, Nishioka Y, Yasuda S, Miyazaki Y, Kaneko Y, **Nanki T**, Watanabe K, Yamazaki H, Miyasaka N, Harigai M. Pulmonary infections following immunosuppressive treatments during hospitalization worsen the short-term vital prognosis for patients with connective tissue disease-associated interstitial pneumonia. *Mod Rheumatol.* (in press)

2.Yamazaki H, Sakai R, Koike R, Miyazaki Y, Tanaka M, **Nanki T**, Watanabe K, Yasuda S, Kurita T, Kaneko Y, Tanaka Y, Nishioka Y, Takasaki Y, Nagasaka K, Nagasawa H, Tohma S, Dohi M, Sugihara T, Sugiyama H, Kawaguchi Y, Inase N, Ochi S, Hagiyaama H, Kohsaka H, Miyasaka N, Harigai M. Assessment of risks for pulmonary infection during 12 months after commencing or intensifying immunosuppressive treatment for active connective tissue diseases: A report from a large-scale prospective cohort study. *J Rheumatol.* (in press)

3.Miyabe Y, Miyabe C, **Nanki T**. Could retinoids be a potential treatment for rheumatic diseases? *Rheumatol Int.* 35, 35-41 (2015).

4.Sakai R, Cho S, **Nanki T**, Koike R, Watanabe K, Yamazaki H, Nagasawa H, Amano K, Tanaka Y, Sumida T, Ihata A, Atsumi T, Nakajima A, Sugihara T, Tamura N, Fujii T, Dobashi H, Miura Y, Miyasaka N, Harigai M, and for the REAL study group. The risk for serious infection in rheumatoid arthritis patients treated with tumor necrosis factor inhibitors has decreased over time: a report



from the registry of Japanese rheumatoid arthritis patients for long-term safety (REAL) database. *Rheumatol Int.* 34, 1729-1736 (2014).

5.Miyabe Y, Miyabe C, Iwai Y, Yokoyama W, Harigai M, Miyasaka M, Miyasaka N, **Nanki T**. Activation of fibroblast-like synoviocytes derived from rheumatoid arthritis by lysophosphatidic acid - lysophosphatidic acid receptor 1 cascade. *Arthritis Res Ther.* 16, 461 (2014).

6.Sekine C, **Nanki T**, Yagita H. Macrophage-derived delta-like protein 1 enhances interleukin-6 and matrix metalloproteinase-3 production by fibroblast-like synoviocytes in mice with collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 66, 2751-2761 (2014).

7.Yokoyama W, Kohsaka H, Kaneko K, Walters M, Takayasu A, Fukuda S, Miyabe C, Miyabe Y, Love PE, Nakamoto N, Kanai T, Watanabe K, Charvat TT, Penfold MET, Jaen J, Schall TJ, Harigai M, Miyasaka N, **Nanki T**. Abrogation of CC chemokine receptor 9 ameliorates collagen-induced arthritis of mice. *Arthritis Res Ther.* 16, 445 (2014).

8.Fukuda S, Kohsaka H, Takayasu A, Yokoyama W, Miyabe C, Miyabe Y, Harigai M, Miyasaka N, **Nanki T**. Cannabinoid receptor 2 as a potential therapeutic target in rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 15, 275 (2014).

9.Umezawa N, Kohsaka H, **Nanki T**,

Watanabe K, Tanaka M, Shane PY, Miyasaka N. Successful treatment of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA; formerly Churg-Strauss syndrome) with rituximab in a case refractory to glucocorticoids, cyclophosphamide, and IVIG. *Mod Rheumatol.* 24, 685-687 (2014).

10.Cho S, Sakai R, **Nanki T**, Koike R, Watanabe K, Yamazaki H, Nagasawa H, Tanaka Y, Nakajima A, Yasuda S, Ihata A, Ezawa K, Won S, Choi C, Sung Y, Kim T, Jun J, Yoo D, Miyasaka N, Bae S, Harigai M, for the RESEARCH investigators and the REAL Study Group. A comparison of incidence and risk factors for serious adverse events in rheumatoid arthritis patients with etanercept or adalimumab in Korea and Japan. *Mod Rheumatol.* 24, 572-579 (2014).

11.Fukuda S, **Nanki T**, Morio T, Hasegawa H, Koike R, Miyasaka N. Recurrent mitral valve regurgitation with neutrophil infiltration in a patient with multiple aseptic abscesses. *Mod Rheumatol.* 24, 537-539 (2014).

12.Komazaki Y, Miyazaki Y, Fujie T, Sakashita H, Tsuchiya K, Tamaoka M, Sumi T, Maruyama Y, **Nanki T**, Inase N. Serodiagnosis of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease in rheumatoid arthritis. *Respiration.* 87, 129-135 (2014).

## G-2. 学会発表

1.第 25 回日本リウマチ学会関東支部学術集會  
リツキシマブ併用にてステロイド急速減量が可  
能であった顕微鏡的多発血管炎の 1 例。浅子来  
美、大久保麻衣、津久井大輔、岡本明子、菊地弘

敏、本田善一郎、南木敏宏、河野肇

2.第 78 回アメリカリウマチ学会

The Reduction of Serum Uric Acid Level Might Prevent Atherosclerosis in Mice. Kimura Y, Yanagida T, Onda A, Kono H, Takayama M, Asako K, Okamoto A, Kikuchi H, Nanki T

3.第 78 回アメリカリウマチ学会

Atrophy of Hippocampal Region in Chronic Progressive Neuro-Behçet's Disease. Kikuchi H, Asako K, Takayama M, Kimura Y, Okamoto A, Nanki T, Kono H, Hirohata S

4.第 16 回国際ベーチェット病学会

Can Behçet's disease be cured? The clinical course of 100 patients. Okubo M, Kikuchi H, Tsukui D, Asako K, Takayama M, Okamoto A, Nanki T, Yanagida T, Kono H

5.第 16 回国際ベーチェット病学会

Infliximab for chronic progressive neuro-Behçet's disease: An 8-year follow-up study. Asako K, Kikuchi H, Takayama M, Tsukui D, Okubo M, Okamoto A, Nanki T, Yanagida T, Kono H, Hirohata

6.第 16 回国際ベーチェット病学会

An autopsy case of Behçet's disease with vascular involvement complicated with pulmonary thromboembolism. Tsukui D, Kikuchi H, Okubo M, Asako K, Takayama M, Okamoto A, Nanki T, Yanagida T, Kono H, Hirohata

7.第 16 回国際ベーチェット病学会

Correlation of the integrated cerebrospinal fluid interleukin-6 level with brainstem

atrophy in chronic progressive neuro-Behçet's disease. Kikuchi H, Takayama M, Asako K, Tsukui D, Okubo M, Okamoto A, Nanki T, Yanagida T, Kono H, Hirohata

8.ヨーロッパリウマチ学会

Correlation of the integrated cerebrospinal fluid interleukin-6 level with brainstem atrophy in chronic progressive neuro-Behçet's disease. Kikuchi H, Nogawa-Takayama M, Asako K, Okamoto A, Nanki T, Kono K, Hirohata S

9.第 58 回日本リウマチ学会総会

関節リウマチ患者における肺気腫合併肺線維症 (CPF) の検討。浅子来美、大久保麻衣、津久井大輔、岡本明子、菊地弘敏、本田善一郎、南木敏宏、河野肇

10.第 58 回日本リウマチ学会総会

抗神経細胞抗体と抗 NR2 抗体の上昇を認めたループス脊髄炎の 2 例。津久井大輔、岡本明子、大久保麻衣、浅子来美、菊地弘敏、南木敏宏、本田善一郎、河野肇

11.第 58 回日本リウマチ学会総会

マウス動脈硬化における尿酸の関与の検討。河野肇、柳田たみ子、遠田明子、高山真希、浅子来美、岡本明子、菊地弘敏、南木敏宏

12.第 58 回日本リウマチ学会総会

皮膚筋炎治療中に破傷した好中球上 CD64 高値を伴う粟粒結核の一例。大久保麻衣、津久井大輔、浅子来美、岡本明子、菊地弘敏、本田善一郎、南木敏宏、河野肇

13.第 58 回日本リウマチ学会総会

関節リウマチにおけるキャピリア®MAC 抗体

ELISA の有用性と肺 *Mycobacterium avium* complex (MAC) 症の危険因子の検討。廣瀬恒、内山隆司、伊藤健司、石塚俊晶、松本光世、根本明日香、南木敏宏

14. 第 58 回日本リウマチ学会総会

生物学的製剤使用関節リウマチ患者における罹病期間 2 年以下の患者と 2 年超の患者の安全性の比較：REAL データベースより。酒井良子、山崎隼人、横山和佳、平野史生、田中みち、小池竜司、南木敏宏、上阪等、宮坂信之、針谷正祥、REAL 研究グループ

15. 第 58 回日本リウマチ学会総会

免疫抑制療法下のリウマチ性疾患患者における ST 合剤によるニューモシスチス肺炎予防の有効性の検討。山崎隼人、酒井良子、小池竜司、田中みち、南木敏宏、今井香織、宮坂信之、上阪等、針谷正祥

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し。

## 次世代型 IL-6 受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての LRG 定量キットの開発と臨床応用

研究分担者 緒方 篤 大阪大学大学院医学系研究科呼吸器免疫アレルギー内科学 准教授

### 研究要旨

関節リウマチ(RA)の治療には TNF を阻害する生物製剤以外に本邦で開発された IL-6 受容体抗体(tocilizumab)が劇的な治療効果を上げている。しかし、IL-6 に強く影響を受ける疾患活動性マーカーは IL-6 阻害療法を行なう時に疾患活動性を正確に反映しない事があり、IL-6 の影響の少ないマーカーが期待されている。これまで研究主任の仲らは最新のプロテオミクス手法を駆使して leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG)が IL-6 の影響を受けにくい CRP に代わる RA の新たな活動性マーカーとなり得る可能性を報告し、血液中の LRG を定量出来る ELISA システムを構築してきた。我々は、この ELISA キットを用いて、関節リウマチ患者の血清を測定できるように、大阪大学医学部附属病院において免疫関連疾患の病態解析のための検体バンクの構築を行なった。この検体バンクのシステムを用いて、次世代型 IL-6 受容体抗体による治療を受ける関節リウマチ患者だけでなく、従来の治療を受ける関節リウマチ患者、それ以外にも炎症性疾患、自己免疫疾患など多彩な疾患の貴重な血液サンプルを収集するシステムを整備した。

### A. 研究目的

本研究の目的は現在開発中の次世代型 IL-6 受容体抗体を含めて IL-6 受容体抗体治療における実用的な血清炎症マーカーがないための不利益を克服するための新規 IL-6 非依存性の炎症性マーカーとして開発され、実用化を目指している leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG) の ELISA キットの実臨床における有用性を検証するための患者検体収集システムの構築を目的としている。

分担研究者が所属する大阪大学においては免疫学フロンティアセンターを始めとする基礎免疫の研究が盛んであり、基礎免疫学の成果を臨床に応用するための臨床データを完備した患者検体に対するニーズがもともとあった。これまで、研究分担者は個別の臨床検体のニーズに対して個別に必要な検体を準備することとして対応していたが、個別の研究計画書を倫理委員会に提出して承認を得てから患者検体の収集をしていたため、非常に煩雑であり、検体の収集に時間が

かかるという問題点があった。そのため、臨床研究に利用する目的で検体を収集する包括同意のもと検体を常時収集する検体バンクを作成し、すみやかに基礎研究への臨床検体提供を行なうシステムの構築を行ない、このシステムを利用して本研究に必要な検体の供給を行なった。

### B. 研究方法

研究分担者が中心となり、大阪大学附属病院において臨床検体の収集し検体バンクに集積するために「免疫関連疾患の病態解析のための検体バンクの構築」という課題名で、大阪大学医学部附属病院の臨床研究倫理審査委員会において承認を得た（承認番号 11122）。この検体バンクシステムは、研究分担者が所属する大阪大学呼吸器免疫アレルギー内科が中心に大阪大学附属病院にて検体の収集を行ない、大阪大学呼吸器免疫アレルギー内科と免疫学フロンティアセンターに検体を保存する。臨床データの収集と管理は大阪大学呼吸器免疫アレルギー内科に