

**厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業  
（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 免疫アレルギー研究分野））**

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

**平成25年度 総括・研究分担報告書**

**平成26(2014)年3月**

**研究代表者 田中 良哉**

# 【 目 次 】

.構成員名簿

.総括研究報告書

関節リウマチの関節破壊機序の解明と関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立に関する研究  
田中 良哉(産業医科大学医学部 第1内科学講座 教授)

.分担研究報告書

1. 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  
川上 純(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座 教授)
2. 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  
小池 隆夫(NTT 東日本札幌病院 院長、北海道大学 名誉教授)
3. 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  
上阪 等(東京医科歯科大学 膠原病・リウマチ内科 教授)
4. SAKURA 早期関節炎コホートにおける高感度サイトカインアッセイ系による検討  
竹内 勤(慶應義塾大学医学部 リウマチ内科 教授)
5. ROR $\gamma$ t 過剰発現による自己免疫性関節炎の制御機構に関する研究  
住田 孝之(筑波大学医学医療系内科(膠原病・リウマチ・アレルギー))
6. 抗シトルリン化ペプチド抗体陰性関節リウマチ患者における新規自己抗体に関する研究  
三森 経世(京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学 教授)
7. 関節リウマチの骨関節破壊進行関連因子の同定に関する研究  
山中 寿(東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 教授)
8. 関節リウマチの PADI4 を標的とする治療法の開発  
山本 一彦(東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 教授)

.研究成果の刊行に関する一覧表

.班会議プログラム

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業  
 (免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 免疫アレルギー研究分野))

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

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	田中 良哉	産業医科大学 医学部 第一内科学講座	教 授
研究分担者	川上 純	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座 (第一内科学)	教 授
	小池 隆夫	N T T 東日本札幌病院	院 長
	上阪 等	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 膠原病・リウマチ内科	教 授
	住田 孝之	筑波大学医学医療系内科（膠原病・リウマチ・アレルギー）	教 授
	竹内 勤	慶應義塾大学医学部 リウマチ内科	教 授
	三森 経世	京都大学大学院医学研究科 内科学講座 臨床免疫学	教 授
	山中 寿	東京女子医科大学附属 膠原病リウマチ痛風センター	教 授
	山本 一彦	東京大学大学院医学系研究科 アレルギー・リウマチ学	教 授

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究協力者	玉井 慎美	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）	助教
	中島 好一	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）	
	川尻 真也	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）	助教
	岩本 直樹	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）	助教
	青柳 潔	長崎大学大学院公衆衛生学分野	主任教授
	上谷 雅孝	長崎大学大学院放射線診断治療学	教授
	深江 淳	北海道内科リウマチ科病院	医長
	細矢 匡	東京医科歯科大学 膠原病・リウマチ内科	大学院生
	近藤 裕也	筑波大学医学医療系内科 (膠原病・リウマチ・アレルギー)	講師
	田原 昌浩	筑波大学医学医療系内科 (膠原病・リウマチ・アレルギー)	大学院生
	大村 浩一郎	京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学	講師
	猪狩 勝則	東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター	准教授
	吉田 進二	東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター	助教
	庄田 宏文	東京大学大学院医学系研究科アレルギー・リウマチ学	助教
	瀬理 裕	東京大学大学院医学系研究科アレルギー・リウマチ学	大学院生
	藤尾 圭志	東京大学大学院医学系研究科アレルギー・リウマチ学	特任講師
鈴木 亜香里	理化学研究所 ゲノム医科学研究センター 自己免疫疾患研究チーム	上級研究員	

	齋藤 和義	産業医科大学 医学部 第一内科学講座	准教授
	山岡 邦宏	産業医科大学 医学部 第一内科学講座	講師
	平田 信太郎	産業医科大学病院病理・臨床検査・輸血部	副部長
	中山田 真吾	産業医科大学 医学部 第一内科学講座	学内講師
	岩田 慈	産業医科大学 医学部 第一内科学講座	助教
	園本 格士朗	産業医科大学 医学部 分子生物学講座	助教

厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)

研究代表報告書

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

研究代表者	田中良哉 (産業医科大学医学部第一内科学講座 教授)
研究分担者	川上 純 (長崎大学大学院医歯学研究科リウマチ免疫制御学)
	小池隆夫 (北海道大学大学院医学研究科 内科学講座・第二内科 教授)
	上阪 等 (東京医科歯科大学膠原病・リウマチ内科 教授)
	住田孝之 (筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学 教授)
	竹内 勤 (慶應義塾大学医学部リウマチ内科 教授)
	三森経世 (京都大学大学院医学研究科 臨床免疫学 教授)
	山中 寿 (東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 教授)
	山本一彦 (東京大学大学院医学系研究科内科学専攻アレルギーリウマチ学 教授)

**研究要旨**

関節リウマチ(RA)は、進行性関節破壊を必発し、機能予後、生命予後不良に伴う社会的損失や経済的問題等を生じてきた。一方、TNFを標的とした生物学的製剤は関節破壊制御を可能としてきたが、現状ではTNF阻害薬投与前にすでに関節破壊が進行し、それによる不可逆性の機能障害を有する症例が大部分であり、治療指針の設定による医療の標準化が最重要課題である。また、破壊された関節は機能的寛解でも身体機能の改善は得られず、「修復」を目指した治療の開発が必須である。そこで、(1)関節リウマチの根治療法、関節破壊修復療法の開発、(2)関節破壊ゼロを目指す関節リウマチの治療指針の確立、および、を主目的として研究を行った。まず、RAの関節破壊関連因子としてPADI4、CDK4/6、ROR $\gamma$ tなどを同定し、モデル動物を用いて関節破壊におけるPADI4、TTP、CDK4/6の役割を解明した。例えば、PADI4ノックアウトマウスにおけるコラーゲン誘導性関節炎が軽減され、IL-6-Th17系が減弱し、関節破壊が軽減傾向であった。また、ROR $\gamma$ t過剰発現T細胞により関節炎の発症と関節破壊が抑制され、Foxp3<sup>+</sup>制御性T細胞にCCR6の発現亢進が認められた。さらに、in vitro、及び、CIAラットモデルでの解析により、ナノファイバー(PLGA)に播種したヒト骨髄由来間葉系幹細胞(MSC)は、骨芽細胞や軟骨細胞への分化誘導、破骨細胞の分化制御、全身性免疫応答の抑制作用を併せ持ち、RAの疾患制御、関節機能の再生・修復を目指す上で有効なツールである事が明らかになった。(2)については保険診療内で実施できる関節破壊「ゼロ」を目標とした治療ガイドラインを作成し、早期RA患者を対象にした試験("ZERO-J"試験としてUMIN登録済)により、1年後の関節X線を評価した。平成25年8月までに162例が登録された。MTX治療開始時点での疾患活動性はDAS28: 4.7、SDAI: 18.8であった。MTX開始3か月後にTNF(T)群35例、MTX(M)群29例、high responder(HR)群に振り分けられた。MTX開始3か月後のDAS28(T群、M群、HR群は各5.7、4.1、2.7)、SDAI(27.9、12.6、4.8)、3ヶ月間のmTSS 0は各44%、43%、78%であり、MTX開始12か月後には(中間報告69例)、DAS28(T群、M群、HR群は各2.5、3.0、2.4)、SDAI(3.6、6.1、3.2)、3-15カ月目までの1年間のmTSSは各1.2、0.3、0.2であった。予備的成績として、HR群では15ヶ月間疾患活動性と関節破壊が抑制されたが、T群、M群では最初の3ヶ月の間に関節破壊が既に進行したが、その後の1年では制御され、「関節破壊をゼロに」できる可能性が示唆された。

## A. 研究目的

関節リウマチ (RA) 患者は約 70 万人を数え、特に日本人は関節破壊進行が急速・高度とされ、変形すると不可逆的で、身体機能の低下は必至である。機能不良に伴う社会的損失や関節置換術などによる多大なる医療費負担を生じている。生物学的製剤による治療が進歩した現在、関節破壊を生じない治療の標準化が急務である。また、一旦破壊された関節の再生、修復を目指した治療の開発も最重要課題である。そこで、本研究では RA の関節破壊「ゼロ」を目指して、2つのメインテーマに対して、基礎的・臨床的の重層的研究をオールジャパンで実施することを主目的としている。

**1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究:** 平成 23 年度まで、関節破壊機序に関する遺伝子多型の解析などにより、新規標的分子を同定してきた。平成 24,25 年度は、本研究者らが同定してきた RA 疾患・関節破壊関連分子である PADI4、CDK4/6、ROR  $\gamma$  t 等に注目し、関節破壊の分子機序の解明と抗体や阻害薬などの治療開発を目指した。また、申請者らが確立したヒト間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化誘導、ナノファイバーを用いた 3 次元骨再生系を確立し、実験動物レベルでの評価系を確立し、関節破壊の機序解明、修復の基盤的研究を施行する。

**2) RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究:** TNF 阻害薬を用いた強化療法により、関節破壊の阻止が可能となったが、現状では強化治療前に既に関節破壊が進行し、不可逆性の機能障害が生じた症例が大部分であり、医療の標準化が最重要課題である。平成 23 年度は、発症早期から保険診療内の強化療法により関節破壊を「ゼロ」にすることを旨とした治療ガイドラインを策定した。平成 24,25 年度はエビデンスの蓄積と治療指針の検証を目的として症例登録を実施した [“ZERO-J”試験 (UMIN00001281)]。さらに、複数のコホートにより関節破壊の危険因子を同定した。

## B. 研究方法

### 1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究

**1. PADI4 を標的とする関節破壊の治療戦略:** PADI4 KO マウスを作成し、DBA/1J にバッククロスした上で、rhGPI を免疫して関節炎を誘導し、関節炎スコア、病理、T 細胞を評価した。

**2. ROR  $\gamma$  t 過剰発現による関節炎の制御:** ROR  $\gamma$  t を T 細胞においてのみ過剰発現させた ROR  $\gamma$  t トランスジェニックマウスに CIA を誘導し、野生型と臨床像、転写因子発現、関節炎発症・破壊、病理所見に関して比較検討した。

**3. CDK4/6 阻害を介する関節破壊治療:** CDK4/6 阻害薬の CIA 治療における作用機序を検討した。

**4. 重症型 RA の網羅的自己抗体検出研究:** 抗 CCP 抗体陰性で X 線上典型的な骨破壊像を認める RA 患者血清を用いて 2181 蛋白に対する自己抗体のスクリーニングを AlphaScreen 法で行った。

**5. 間葉系幹細胞を用いた関節破壊の機序の解明、再生・修復に関する研究:** ヒト骨髄由来間葉系幹細胞 (MSC) を播種したナノファイバーシートを CIA 発症前の関節近傍に移植し、関節炎スコア、病理組織標本、軟部 X 線、micro CT を評価した。MSC をナノファイバーに播種し、サイトカイン産生、骨芽細胞、軟骨細胞分化能を評価した。

### 2) RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究

**1. 関節破壊を「ゼロ」にする治療ガイドラインの検証:** 研究分担者施設を中心とした多施設共同研究で、各施設の倫理委員会承認後、ACR/EULAR2010 年 RA 分類基準に基づき診断され、抗 CCP 抗体陽性、罹病歴 2 年以内、関節 X 線で骨びらんが 3 個以内、MTX 未使用症例を登録する。MTX6-16 mg/週を 3 ヶ月投与後、「RA に対する TNF 阻害療法施行ガイドライン」の基準を満たし、同意が得られれば TNF 阻害薬を 1 年間投与 (T 群)、非同意症例は MTX で 1 年間治療を継続 (M 群)、基準を満たさない症例は high responder (HR) 群として 1 年間経過観察する。主要評価項目は、初診時 (MTX 開始時)、TNF 阻害薬開始時 (または TNF 阻害薬に非同意時)、開始 1 年後に於ける総 Sharp スコアを評価した。

**2. RA における機能障害進行危険因子に関する研究:**

IORRA コホート研究に登録され、ベースラインと登録 5 年後の mTSS 値が得られた 865 名の RA 患者を対象とし、関節破壊進行危険因子に関して重回帰分析を用いて解析した。

**3. 早期 RA に対する MTX の関節破壊抑制効果に関する検討:** 慶應大学リウマチ内科で前向きに登録された RA コホート SAKURA の中から MTX で治療開始した 62 例につき関節破壊、臨床データを収集して統計解析した。

**4. RA の関節破壊の進展に寄与する因子に関する検討:** 長崎大学早期関節炎コホート、長崎超音波コホートで、関節破壊進展に寄与する因子を抽出し、有効な治療法を検討した。

**5. 高精度画像検査による関節破壊の評価:** 近赤外線カメラ両手用撮像装置を開発し、活動性 RA 患者の患手に対してインドシアニングリーンを静脈内投与し、関節超音波検査と近赤外線カメラを同時期に施行した

(倫理面への配慮)

臨床検体を使用する場合には、ヘルシンキ宣言を遵守し、研究分担者の所属機関の倫理委員会、或は、IRB で承認を得た研究に限定し、患者及び家族からインフォームドコンセントを得た上で、倫理委員会の規約を遵守し、所属機関の現有設備を用いて行う。患者の個人情報が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、患者は、経済的負担を始め如何なる不利益も被らない事を明確にする。患者情報に関しては、個人情報守秘義務を徹底し、研究代表者の施設コンピューターを用いた中央管理とする。なお、関節リウマチの関節破壊ゼロを目指す治療指針の確立に関する研究は、申請者の施設の倫理委員会承認し、また、“ZERO-J 試験”として UMIN に登録した (UMIN000001281)。

## C. 研究結果

### 1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究

**1. PADI4 を標的とする関節破壊の治療戦略:** *Padi4* KO マウスにおいて hrGPI 関節炎は有意に軽減され、骨破壊は

軽度であった。また、*Padi4* KO では day 7, 14 において脾臓、リンパ節 CD4 陽性 Th17 細胞に有意な減少を認めた。定量的 PCR で検討したところ、PADI4 KO マウスにおいて Bcl-2, Bim, Bax, Bid などのアポトーシス関連遺伝子の発現が亢進していた。また骨髄好中球の in vitro におけるアポトーシスの検討では、いずれの条件においても PADI4 KO 好中球のアポトーシスが WT と比較して有意に亢進していた。

**2. ROR $\gamma$ t 過剰発現による関節炎の制御:** ROR $\gamma$ t Tg マウスにおいては、CD4<sup>+</sup> T 細胞の ROR $\gamma$ t Tg 発現が有意に亢進し、CII 反応性 Th17 細胞からの IL-17 産生が亢進しているのに係らず、CIA の発症、及び、関節破壊が有意に抑制されていた。その原因として、ROR $\gamma$ t 過剰発現 CD4<sup>+</sup> 抑制性 T 細胞の存在が示唆された。

**3. CDK4/6 阻害を介する関節破壊治療:** CDKI は用量依存性の関節炎抑制効果を示し、ETN との併用療法で強力な関節破壊抑制効果を示した。また、抗 IL-6R 抗体と CDKI の併用療法も、関節破壊抑制効果を示した。なお、獲得免疫系には影響がなかった。

**4. 重症型 RA の網羅的自己抗体検出研究:** 抗 CCP 抗体陰性で骨破壊を認める RA 患者血清を用いて 2181 蛋白に対する自己抗体のスクリーニングを行い、新たに 4 蛋白が候補として同定された。

**5. 間葉系幹細胞を用いた関節破壊の機序の解明、再生・修復に関する研究:** ナノファイバーシートに播種したヒト MSC をラット関節近傍に移植すると、関節炎、骨破壊が臨床的、構造的、病理学的に抑制された。一方、MSC 単独で関節内や腹腔内に投与しても殆ど抑制効果を示さなかった。ナノファイバー播種 MSC 治療群では関節局所の IL-1、IL-6 発現や所属リンパ節腫大、加えて脾腫および血清抗 II 型コラーゲン抗体産生が抑制され、また、リンパ節の T 細胞の増殖、IL-2, IL-17, IFN- $\gamma$  の産生が阻害され、局所の治療効果のみならず全身性免疫応答の抑制作用を持つことが示唆された。さらに、GFP で標識した所、MSC はナノファイバー移植部に留まり、その局所で産生される TGF- $\beta$  や IL-10 等の抑制性サイトカインにより免疫応

答が抑制されたと示唆された。

## 2) RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究:

### 1. 関節破壊を「ゼロ」にする治療ガイドラインの検証と公

**布:** 13 施設で倫理申請が承認され、平成 25 年 8 月までに 162 例が登録された。女性 121 名、男性 41 名、罹病期間  $7.5 \pm 4.7$  月 (1-24 月)、MTX 治療開始時点での疾患活動性は DAS28:  $4.7 \pm 1.0$ 、SDAI:  $18.8 \pm 9.0$ 、HAQ:  $0.7 \pm 0.6$  であった。MTX 開始 3 か月後のガイドライン基準判定時点へ到達した症例は 151 例で、87 例は TNF 阻害療法施行ガイドライン基準を満たさず HR 群、その他は T 群 35 例、M 群 29 例に振り分けられた。各群の登録時背景は、DAS28、SDAI、HAQ とともに T 群は HR 群より有意に高く、MTX は  $12.5 \pm 2.5$  mg/週まで増量されていた。MTX 開始 3 か月後の T 群 24 例、M 群 65 例、HR 群 19 例の評価としては、DAS28 (T 群、M 群、HR 群は各  $5.7 \pm 1.2$ 、 $4.1 \pm 0.6$ 、 $2.7 \pm 0.8$ )、SDAI ( $27.9 \pm 14.2$ 、 $12.6 \pm 4.5$ 、 $4.8 \pm 4.7$ ) であった。即ち、登録後 3 か月での各群への振り分け時には、DAS28、SDAI とともに T>M>HR 群の順で有意に高く、HR 群では 3 ヶ月で疾患活動性が制御されていたが、T 群では、MTX 治療にも関わらず、疾患活動性がさらに増悪されていた。また、3 ヶ月間に関節破壊が進行しなかった率は (mTSS 0)、T 群、M 群、HR 群は各 44%、43%、78% であり、HR 群では関節破壊が抑制された一方、T 群、M 群では 3 ヶ月の間に関節破壊が既に進行していた。MTX 開始 12 か月後の最終判定時点へ到達した症例 69 例 (T 群 14 名、M 群 16、HR 群 39 名) では、DAS28 (T 群、M 群、HR 群は各  $2.5 \pm 1.0$ 、 $3.0 \pm 1.0$ 、 $2.4 \pm 0.9$ )、SDAI ( $3.6 \pm 4.7$ 、 $6.1 \pm 3.9$ 、 $3.2 \pm 5.0$ ) と群間に有意差がなかった。また、3-15 カ月目までの 1 年間の mTSS は、T 群、M 群、HR 群は各  $1.2 \pm 1.6$ 、 $0.3 \pm 0.8$ 、 $0.2 \pm 0.6$ ) であった。

### 2. RA における機能障害進行危険因子に関する研究:

IORRA コホート研究の 856 名の RA 患者において、欧米で報告された 6 ヶ所の遺伝子座 (*IL-15*、*GZMB*、*IL2RA*、*Dkk-1*、*Sost*、*MMP-9*) より 11 個の一塩基多型 (SNP) を選択し、ゲノタイピングを施行したが、関節破壊と有意な関連性のある SNP は認められなかった。

### 3. 早期 RA に対する MTX の関節破壊抑制効果に関する

**検討:** SAKURA コホートで早期 RA 患者 62 例に MTX を投与し (平均罹病期間 0.6 年)、MTX の関節破壊抑制効果と血中サイトカイン 9 種類の変動を超高感度 ECL 法で解析し、IL-1 と IL-6 の有意な低下を明らかにした。その中で、関節破壊進行と関連する治療後サイトカインを検討した所、治療後 TNF は抽出されず、従来型 ELISA 法と同様 IL-6 が有用なバイオマーカーである事が示された。

### 4. RA の関節破壊の進展に寄与する因子に関する検討:

長崎コホートでは、多変量解析で 2008 年以降のエントリーは関節破壊の急速進行 (RRP) 進展には負の (オッズ比 0.03)、また、エントリー時の RAMRIS 骨炎スコアは正の因子 (1 スコア当たりオッズ比 1.10) と抽出された。さらに、早期 RA においては、MRI 骨炎が RRP 進展に寄与すること、および、MTX 治療経過をエコー所見とバイオマーカーが反映することを明らかとした。

### 5. 高精度画像検査による関節破壊の評価:

近赤外線カメラを使ったインドシアニンググリーン (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、定量異常滑膜血流値と  $I_{max}$  は関節超音波滑膜血流値と有意に相関した。

## D. 考察

### 1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究:

研究者らが同定してきた RA 疾患・関節破壊関連分子である PADI4、CDK4/6、ROR  $\gamma$  t について治療応用の可能性が示唆された。Padi4 KO マウスでは IL-6-Th17 系が減弱し、関節破壊が軽減傾向であった。PADI4 KO マウスにおける関節炎モデル研究により、PADI4 が顆粒球系細胞・単球系細胞の生存、Th17 細胞の分化、抗体産生といった自然免疫・獲得免疫の幅広いシステムを制御していることが判明した。これらの PADI4 KO マウスでの知見より、PADI4 阻害薬は RA 治療薬となりうると考えられる。実際、腫瘍研究において PADI4 阻害作用のある小分子化合薬

の報告がなされつつあり、ヒトにおける副作用を見極めたい  
えでの RA 治療への応用も期待される。

ROR $\gamma$ t 過剰発現 T 細胞により関節炎の発症と関節破壊  
が抑制されることが判明した。ROR $\gamma$ t Tg マウス由来の所  
属リンパ節細胞の in vitro における解析から Th17 が増加  
していることが示唆されたが、関節炎の発症は抑制され、  
また ROR $\gamma$ t Tg マウスのリンパ節細胞の移入によって WT  
の関節炎が抑制されたことから、ROR $\gamma$ t Tg には関節炎  
に対する抑制性の細胞成分が存在すると考えられた。ま  
た ROR $\gamma$ t Tg マウスの Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞において  
CCR6 の発現亢進が認められたことから、これらが炎症局  
所における関節炎症・破壊制御に関与し、今後の治療応  
用の標的となり得ると考えられた

CIA マウスでは低用量の細胞周期制御療法と抗炎症療  
法の併用は関節炎や関節破壊を抑制した。また、骨破壊  
関連蛋白として新たに 4 蛋白が候補として同定された。

in vitro、及び、CIA ラットモデルでの解析により、ナノファイ  
バー (PLGA) に播種したヒト骨髄由来間葉系幹細胞  
(MSC) は、骨芽細胞や軟骨細胞への分化誘導、破骨細胞  
の分化制御、全身性免疫応答の抑制作用を併せ持ち、  
RA の疾患制御、関節機能の再生・修復を目指す上で有  
効なツールである事が明らかになった。

## 2) RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究:

平成 22 年に ACR/EULAR より RA 分類基準、23 年には  
寛解基準、治療指針 Treat-to-target が発表された。い  
ずれも発症早期から十分量の MTX で治療を開始し、疾患活  
動性とともに関節破壊を制御する事を目標としている。本  
邦でも MTX の増量と共に、7 剤の生物学的製剤が承認さ  
れ、実臨床に沿ったエビデンスを構築するための好機で  
ある。この絶好のタイミングで、本研究により関節破壊ゼロ  
を導く治療戦略が検証され、報告されることが期待される。  
疾患活動性の高い症例が T 群に振り分けられた傾向にあ  
るが、斯様な点も踏まえて現在、HR 群、T 群、M 群の 1 年  
3 ヶ月後の関節破壊の進行を調査中である。162 例が登録  
され、MTX 治療開始時点での疾患活動性は DAS28: 4.7、  
SDAI: 18.8 であった。一方、MTX 開始 3 か月後の DAS28

(T 群、M 群、HR 群は各 5.7、4.1、2.7)、SDAI (27.9、12.6、  
4.8)、3 ヶ月間の mTSS 0 は各 44%、43%、78% であり、  
MTX 開始 12 か月後には (中間報告 69 例)、DAS28 (T 群、  
M 群、HR 群は各 2.5、3.0、2.4)、SDAI (3.6、6.1、3.2)、  
3-15 カ月目までの 1 年間の mTSS は各 1.2、0.3、0.2 で  
あった。以上より予備的成績ではあるが、HR 群では 15 ヶ月  
間疾患活動性と関節破壊が抑制されたが、T 群、M 群で  
は最初の 3 ヶ月の間に関節破壊が既に進行したが、その  
後の 1 年では制御され、「関節破壊をゼロに」できる可能性  
が示唆されるが、最終的な結論を得るためにはあと数ヶ月  
を要する。今後、検証が終了すれば、ガイドラインの公布  
を通じて医療の標準化・効率化を齎すことにより、関節破  
壊制御・長期機能予後改善を可能とし、社会的損失や医  
療費高騰を抑制できるはずである。

また、IORRA コホートで、白人で同定された骨関節破壊  
進行に関連する遺伝子は、いずれも日本人では関連を認  
めなかった。SAKURA コホートでは、早期 RA 患者では、1  
年間の MTX 治療により IL-1 と IL-6 が有意に低下し、  
TNF ではなく IL-6 が関節破壊の進行制御と関連する有用  
なバイオマーカーであった。長崎コホートでは、急速関節  
破壊の関連する因子として、RAMRIS 骨炎スコアが正の因  
子と抽出、早期から MTX を用いた目標達成に向けた治療  
を行うことの重要性が確認された。近赤外線カメラは、関  
節超音波検査と同様に手指関節滑膜異常血流を一機的に  
評価し、滑膜血流の定量評価可能となった。

## E. 結論

1) 難治性 RA の関節破壊の機序の解明、修復研究: 本  
研究者らが同定してきた RA 疾患・関節破壊関連分子であ  
る PADI4、CDK4/6、ROR $\gamma$ t 等に注目し、関節破壊の分  
子機序の解明と抗体や阻害薬などの治療開発を目指した。  
また、申請者らが確立したヒト間葉系幹細胞から骨芽細胞  
への分化誘導、ナノファイバーを用いた 3 次元骨再生系を  
確立し、実験動物レベルでの評価系を確立し、関節破壊  
の機序解明、修復の基盤的研究を施行した。

2) RA の関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立研究: 関節

破壊ゼロを目指すエビデンスの蓄積と治療指針の検証を目的として症例登録を実施した [”ZERO-J” 試験 (UMIN000001281)]. さらに、HR 群では 15 ヶ月間疾患活動性と関節破壊が抑制されたが、T 群、M 群では最初の 3 ヶ月の間に関節破壊が既に進行したが、その後の 1 年では制御され、『関節破壊をゼロに』できる可能性が示唆される。複数のコホートにより関節破壊の危険因子を同定した。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

(研究代表者)

田中良哉

1. Kubo S, Yamaoka K, Kondo M, Yamagata K, Zhao J, Iwata S, Tanaka Y. The JAK inhibitor tofacitinib reduces the T cell stimulatory capacity of human monocyte-derived dendritic cells. *Ann Rheum Dis* (in press)
2. Tanaka Y, Hirata S, Kubo S, Fukuyo S, Hanami K, Sawamukai N, Nakano K, Nakayamada S, Yamaoka K, Sawamura F, Saito K. Discontinuation of adalimumab after achieving remission in patients with established rheumatoid arthritis: 1-year outcome of the HONOR study. *Ann Rheum Dis* (in press)
3. Tanaka Y. Next stage of RA treatment: TNF-inhibitor-free remission will be a possible treatment goal ? *Ann Rheum Dis* (2013) 72, ii124-ii127
4. 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
5. Iwata S, Yamaoka K, Niino 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
6. 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 pathologies 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.
7. Koike T. IgG4-related disease: why high IgG4 and fibrosis. *Arthritis Res Ther*. Jan 25; 15(1):103, 2013.
8. 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* online January 11, 2013.
9. Katayama M, Ohmura K, Yukawa N, Terao C, Hashimoto M, Yoshifuji H, Kawabata D, Fujii T, Iwakura Y, Mimori T: Neutrophils are essential as a source of IL-17 in the effector phase of arthritis. *PLoS One* 8(5):e62231, 2013
10. Terao C, Hashimoto M, Yamamoto K, Murakami K, Ohmura K, Nakashima R, Yamakawa N, Yoshifuji H, Yukawa N, Kawabata D, Usui T, Yoshitomi H, Furu M, Yamada R, Matsuda F, Ito H, Fujii T, Mimori T: Three Groups in the 28 Joints for Rheumatoid Arthritis Synovitis - Analysis Using More than 17,000 Assessments in the KURAMA Database. *PLoS One*. 8(3):e59341, 2013
11. Sumitomo S, Fujio K, Okamura T, Morita K, Ishigaki

K, Suzukawa K, Kanaya K, Kondo K, Yamasoba T, Furukawa A, Kitahara N, Shoda H, Shibuya M, Okamoto A, Yamamoto K. Transcription factor early growth response 3 is associated with the TGF- $\beta$ 1 expression and the regulatory activity of CD4-positive T cells in vivo. *J Immunol.* 2013;191(5):2351-9.

12. 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;43(4):1063-73

(分担代表者)

川上純

- 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) Satomura K, Torigoshi T, Koga T, Maeda Y, Izumi Y, Jiuchi Y, Miyashita T, Yamasaki S, Kawakami A, Aiba Y, Nakamura M, Komori A, Sato J, Ishibashi H, Motokawa S, Migita K. Serum amyloid A (SAA) induces pentraxin 3 (PTX3) production in rheumatoid synoviocytes. *Mod Rheumatol.* 23 (1): 28-35, 2013.

小池隆夫

1. 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.
2. Koike T. IgG4-related disease: why high IgG4 and fibrosis. *Arthritis Res Ther.* 15(1):103, 2013.
3. Fukae J, Isobe M, Kitano A, Henmi M, Sakamoto F, Narita A, Ito T, Mitsuzaki A, Shimizu M, Tanimura K, Matsuhashi M, 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, 523-528, 2013.
4. Fukae J, Tanimura K, Atsumi T, Koike T. Sonographic synovial vascularity of synovitis in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* Sep 18, 2013 (epub ahead of print)

住田孝之

1. Gazal S, Sacre K, Allanore Y, Teruel M, Goodall AH, Tohma S, Alfredsson L, Okada Y, Xie G, Constantin A, Balsa A, Kawasaki A, Nicaise P, Amos C, Rodriguez-Rodriguez L, Chiocchia G, Boileau C, Zhang J, Vittecoq O, Barnetche T, Gonzalez-Gay MA, Furukawa H, Cantagrel A, Le Loet X, Sumida T, Hurtado-Nedelec M, Richez C, Chollet-Martin S, Schaeferbeke T, Combe B, Khoryati L, Coustet B, El-Benna J, Siminovitch K, Plenge R, Padyukov L, Martin J, Tsuchiya N, Dieud P.: Validation of EULAR primary Sjogren's Syndrome disease activity and patient indexes. *Ann Rheum Dis* (in press)
2. Yoon J, Sudo K, Han J, Chae M, Park S, Weinstein M, Nakae S, Yamashita T, Lee , Sumida T, Kuroda M, Mamura M.: Smad2 is the TGF- receptor-regulated Smad to suppress the immunogenicity of mouse and human dendritic cells. *Eur J Immunol* (in press)
3. Yoon JH, Jung SM, Park SH, Kato M, Yamashita T, Lee IK, Sudo K, Nakae S, Han JS, Kim OH, Oh BC, Sumida T, Kuroda M, Ju JH, Jung KC, Park SH, Kim DK, Mamura M. : Activin receptor-like kinase5 inhibition suppresses mouse melanoma by ubiquitin degradation of Smad4, thereby derepressing eomesodermin in cytotoxic T lymphocytes. *EMBO Mol Med* 5(11):1720-39,2013
3. Kaneko Y, Kondo H and Takeuchi T. ACR/EULAR remission criteria maintains strict performance when evaluated in 44 joints. *J Rheumatology* 40 :1254–8,2013
4. Takeuchi T and Suzuki K. CD247 variants single nucleotide polymorphisms observed in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology online* March 23, 2013.
5. Nishina N, Kaneko Y, Kameda H, Kuwana M, and Takeuchi T. Reduction of plasma IL-6, but not TNF- by methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis: a potential biomarker for radiographic progression. *Clinical Rheumatology* 32:1661-6, 2013.
6. Takeuchi T, Matsubara T, Nitobe T, Suematsu E, Ohta S, Honjyo S, Abe T, Yamamoto A, Miyasaka N, and The Japan Abatacept Study Group. Phase II dose-response study of abatacept in Japanese patients with active rheumatoid arthritis with inadequate response to methotrexate. *Mod Rheum* 23:226-235, 2013.
7. Takeuchi T, Harigaya M, Tanaka Y, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, Miyasaka N, Koike T, Kanazawa M, Ohba 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*72:1488-95, 2013.
8. Takeuchi T, Miyasaka N, Zang C, Alvarez D, Fletcher T, Wajdula J, Yuasa H, and Vlahos B. A phase 3 randomized, double-blind, multicenter comparative study evaluating the effect of etanercept versus methotrexate on radiographic outcomes, disease activity and safety in Japanese subjects with rheumatoid arthritis. *Mod Rheum* 23:623-33, 2013.
9. Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Miyasaka N,

#### 竹内勤

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. 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.

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* online January 11, 2013.

10. 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*, online December 13, 2013.

### 三森経世

1. Katayama M, Ohmura K, Yukawa N, Terao C, Hashimoto M, Yoshifuji H, Kawabata D, Fujii T, Iwakura Y, Mimori T. Neutrophils are essential as a source of IL-17 in the effector phase of arthritis. *PLoS One*. 2013, 8: e62231
2. Cui J, Stahl EA, Saevarsdottir S, Miceli C, Diogo D, Trynka G, Raj T, Mirkov MU, Canhao H, Ikari K, Terao C, Okada Y, Wedrén S, Askling J, Yamanaka H, Momohara S, Taniguchi A, Ohmura K, Matsuda F, Mimori T, Gupta N, Kuchroo M, Morgan AW, Isaacs JD, Wilson AG, Hyrich KL, Herenius M, Doorenspleet ME, Tak PP, Crusius JB, van der Horst-Bruinsma IE, Wolbink GJ, van Riel PL, van de Laar M, Guchelaar HJ, Shadick NA, Allaart CF, Huizinga TW, Toes RE, Kimberly RP, Bridges SL Jr, Criswell LA, Moreland LW, Fonseca JE, de Vries N, Stranger BE, De Jager PL, Raychaudhuri S, Weinblatt ME, Gregersen PK, Mariette X, Barton A, Padyukov L, Coenen MJ, Karlson EW, Plenge RM. Genome-Wide Association Study and Gene Expression Analysis Identifies CD84 as a Predictor of Response to Etanercept Therapy in Rheumatoid Arthritis. *PLoS Genet*. 2013, 9: e1003394

3. Terao C, Hashimoto M, Yamamoto K, Murakami K, Ohmura K, Nakashima R, Yamakawa N, Yoshifuji H, Yukawa N, Kawabata D, Usui T, Yoshitomi H, Furu M, Yamada R, Matsuda F, Ito H, Fujii T, Mimori T. Three Groups in the 28 Joints for Rheumatoid Arthritis Synovitis - Analysis Using More than 17,000 Assessments in the KURAMA Database. *PLoS One* 2013, 8: e59341
4. Terao C, Ohmura K, Kawaguchi Y, Nishimoto T, Kawasaki A, Takehara K, Furukawa H, Kochi Y, Ota Y, Ikari K, Sato S, Tohma S, Yamada R, Yamamoto K, Kubo M, Yamanaka H, Kuwana M, Tsuchiya N, Matsuda F, Mimori T. PLD4 as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum*. 2013, 65: 472-80
5. Terao C, Hashimoto M, Furu M, Nakabo S, Ohmura K, Nakashima R, Imura Y, Yukawa N, Yoshifuji H, Matsuda F, Ito H, Fujii T, Mimori T. Inverse association between air pressure and rheumatoid arthritis synovitis: an observational study. *PLoS One* 2014, 9: e85376

### 山中寿

1. Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yoshida S, Graham RR, Manoharan A, Ortmann W, Bhangale T, Denny JC, Carroll RJ, Eyster AE, Greenberg JD, Kremer JM, Pappas DA, Jiang L, Yin J, Ye L, Su DF, Yang J, Xie G, Keystone E, Westra HJ, Esko T, Metspalu A, Zhou X, Gupta N, Mirel D, Stahl EA, Diogo D, Cui J, Liao K, Guo MH, Myouzen K, Kawaguchi T, Coenen MJ, van Riel PL, van de Laar MA, Guchelaar HJ, Huizinga TW, Dieudé P, Mariette X, Louis Bridges Jr S, Zhernakova A, Toes RE, Tak PP, Miceli-Richard C, Bang SY, Lee HS, Martin J, Gonzalez-Gay MA, Rodriguez-Rodriguez L, Rantapää-Dahlqvist S,

- Arlestig L, Choi HK, Kamatani Y, Galan P, Lathrop M, Eyre S, Bowes J, Barton A, de Vries N, Moreland LW, Criswell LA, Karlson EW, Taniguchi A, Yamada R, Kubo M, Liu JS, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Raychaudhuri S, Stranger BE, De Jager PL, Franke L, Visscher PM, Brown MA, Yamanaka H, Mimori T, Takahashi A, Xu H, Behrens TW, Siminovitch KA, Momohara S, Matsuda F, Yamamoto K, Plenge RM. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature*. 2013 Dec 25.
2. Yoshida S, Ikari K, Yano K, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. Lack of association between IL-15 genetic variants and progression of joint destruction in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013 Nov 22.
3. Suzuki T, Ikari K, Yano K, Inoue E, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. PADI4 and HLA-DRB1 are genetic risks for radiographic progression in RA patients, independent of ACPA status: results from the IORRA cohort study. *PLoS One*. 2013;8(4):e61045.
- L, Rantapää-Dahlqvist S, Arlestig L, Choi HK, Kamatani Y, Galan P, Lathrop M; the RACI consortium; the GARNET consortium, Eyre S, Bowes J, Barton A, de Vries N, Moreland LW, Criswell LA, Karlson EW, Taniguchi A, Yamada R, Kubo M, Liu JS, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Raychaudhuri S, Stranger BE, De Jager PL, Franke L, Visscher PM, Brown MA, Yamanaka H, Mimori T, Takahashi A, Xu H, Behrens TW, Siminovitch KA, Momohara S, Matsuda F, Yamamoto K, Plenge RM. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature*. 2013. [Epub ahead of print]

## 2. 学会発表

(研究代表者)

田中良哉

山本一彦

1. Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yoshida S, Graham RR, Manoharan A, Ortmann W, Bhangale T, Denny JC, Carroll RJ, Eyler AE, Greenberg JD, Kremer JM, Pappas DA, Jiang L, Yin J, Ye L, Su DF, Yang J, Xie G, Keystone E, Westra HJ, Esko T, Metspalu A, Zhou X, Gupta N, Mirel D, Stahl EA, Diogo D, Cui J, Liao K, Guo MH, Myouzen K, Kawaguchi T, Coenen MJ, van Riel PL, van de Laar MA, Guchelaar HJ, Huizinga TW, Dieudé P, Mariette X, Louis Bridges Jr S, Zhernakova A, Toes RE, Tak PP, Miceli-Richard C, Bang SY, Lee HS, Martin J, Gonzalez-Gay MA, Rodriguez-Rodriguez
1. Tanaka Y, Hirata S. Novel multi-biomarkers for estimating disease activity in rheumatoid arthritis. The 22nd International Rheumatology Symposium . Tokyo, Japan 平成 25 年 4 月
2. Tanaka Y. The Development of Anti-TNF Agents in Rheumatoid Arthritis. EAGOR2013, The 5th East Asian Group of Rheumatology (symposium). Seoul, Korea. 平成 25 年 5 月
3. Tanaka Y. A potential of human mesenchymal stem cells for the treatment of Rheumatoid Arthritis. The First ARISE WITH APLAR. Seoul, Korea. 平成 25 年 9 月
4. Tanaka Y. Certolizumab pegol and biologics for the treatment of rheumatic diseases. 12th International symposium on Sjögren's syndrome. Kyoto, Japan 平成 25 年 10 月
5. Tanaka Y, Emoto K, Tsujimoto M, Schlichting DE, Macias W. 12-week results of a phase 2b dose-ranging study of baricitinib, an oral JAK1/ JAK2

inhibitor in Japanese patients with rheumatoid arthritis on background methotrexate therapy. ACR 2013. San Diego, USA. 平成 25 年 10 月

6. Tanaka Y, Yamanaka Y, Ishiguro N, Miyasaka N, Kawana K, Kubo T, Kuroki A, Takeuchi T. Clinical remission after 52 weeks of treatment is a predictor of adalimumab-free disease control in patients with early rheumatoid arthritis: Hopeful 2 Study. ACR 2013. San Diego, USA. 平成25年10月
7. T Fujii, M Sekiguchi, K Matsui, M Kitano, M Hashimoto, K Ohmura, A Yamamoto, H Nakahara, K Maeda, A Yokota, K Miki, N Shimmyo, T Kuroiwa, K Murakami, Y Ozaki, K Higami, I Yoshii, Y Nozaki, T Ikawa, S.Morita, Y Kawahito, N Nishimoto, T Mimori, H Sano: Higher Titer of Anti-Citrullinated Protein Antibodies in Biologic-Naïve Rheumatoid Arthritis Patients are Candidate Biomarkers to Predict Sensitivity Leading to Clinical Remission with Abatacept (Poster #465). American College of Rheumatology, San Diego, Oct. 26-30, 2013

(分担代表者)

川上純

1. 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.

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.

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

竹内勤

1. T. Takeuchi, Y. Kaneko, T. Atsumi, Y. Tanaka, M. Inoh, H. Kobayashi, K. Amano, M. Miyata, Y. Murakawa, T. Fujii, A. Kawakami, H. Yamanaka, K. Yamamoto, N. Miyasaka, T. Mimori: ADDING TOCILIZUMAB OR SWITCHING TO TOCILIZUMAB MONOTHERAPY IN RA PATIENTS WITH INADEQUATE RESPONSE TO METHOTREXATE: 24- WEEK RESULTS FROM A RANDOMIZED CONTROLLED STUDY (SURPRISE STUDY). Madrid, Spain. 2013.6.13
2. T. Takeuchi, N. Wakasugi, H. Makino. Keio University, Astellas Pharma Inc., Tokyo, Okayama University, Okayama, Japan: LONG-TERM SAFETY AND EFFICACY OF TACROLIMUS FOR LUPUS NEPHRITIS PATIENTS -INTERIM ANALYSIS OF POST MARKETING SURVEILLANCE IN 1375 PATIENTS IN JAPAN (TRUST STUDY). Madrid, Spain. 2013.6.13
3. N. Nishina, J. Kikuchi, M. Hashizume, K. Yoshimoto, H. Kameda, T. Takeuchi: BASELINE SOLUBLE INTERLEUKIN-6 RECEPTOR LEVELS PREDICT THE CLINICAL EFFECTIVENESS OF TOCILIZUMAB IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS. Madrid, Spain. 2013.6.14
4. T. Takeuchi, M. Harigai, Y. Tanaka, H. Yamanaka, N.

Ishiguro, K. Yamamoto, Y. Murakami, T. Yoshinari, D. Baker, N. Miyasaka, T. Koike: GOLIMUMAB MONOTHERAPY IN PATIENTS WITH ACTIVE RHEUMATOID ARTHRITIS DESPITE DMARD THERAPY: WEEK 104 RESULTS OF CLINICAL, RADIOGRAPHIC AND SAFETY ASSESSMENTS INCLUDING EVALUATION OF REMISSION USING THE NEW ACR/EULAR CRITERIA. Madrid, Spain. 2013.6.14

5. 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
6. T. Takeuchi, K. Yamamoto, H. Yamanaka, N. Ishiguro, Y. Tanaka, K. Eguchi, A. Watanabe, H. Origasa, Y. Wada, T. Shoji, N. Miyasaka, T. Koike: IMMUNOGENICITY OF CERTOLIZUMAB PEGOL WITHOUT CONCOMITANT METHOTREXATE AND CLINICAL RESPONSE IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS: POST-HOC ANALYSIS OF THE HIKARI STUDY. Madrid, Spain. 2013.6.14
7. T. Takeuchi on behalf of ORION study group, T. Matsubara, S. Ohta, M. Mukai, K. Amano, S. Tohma, Y. Tanaka, H. Yamanaka, N. Miyasaka and ORION study group: ABATACEPT BIOLOGIC-FREE REMISSION STUDY IN ESTABLISHED RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS ORION STUDY. Madrid, Spain. 2013.6.15

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.

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

山中寿

- 1) Yoshida S, Ikari K, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. Lack of association between IL-15

## 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>、川尻真也<sup>1,2</sup>、岩本直樹<sup>1</sup>、青柳 潔<sup>2</sup>、上谷雅孝<sup>3</sup>

<sup>2</sup>長崎大学大学院公衆衛生学分野、<sup>3</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、2つの患者コホートから解析した。一つは両側手指関節MRIを撮像する長崎早期関節炎コホートで、rapid radiographic progression (RRP)は 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。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。次に、関節エコーを用いたMTX治療経過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。33症例がエントリーされ、DAS28寛解群13症例と治療抵抗群12症例を比較検討した。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)とパワードプラスコア(PDスコア)が改善した。バイオマーカーでは血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、VEGFを評価したが、その中ではIL-6が、臨床的治療反応およびエコー所見を反映した。今年度の解析で、MRI骨炎とエコー滑膜炎の情報は、RAの関節破壊の予測に重要であることが明らかとなった。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、関節破壊の予後予測が肝要である。関節破壊については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、画像所見ではMRI骨炎やエコー関節滑膜炎と予後予測との関連が指摘されている。今年度は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. 長崎早期関節炎コホートを用いて解析した。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を撮像しているため、関節破壊は両側手指関節Xpを用い、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。

2. MTX治療エコーコホートを用いて解析した。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

#### 1. 長崎早期関節炎コホートをを用いた解析

エントリーまでの罹病期間中央値 3 ヶ月、RAMRIS 骨炎スコア中央値 1 の 76 症例の検討である。RRP は 12 症例 (15.8%) に認め、17 症例 (22.4%) は観察期間内に生物学的製剤が導入された。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、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 (表 1)。

#### 2. MTX 治療エコーコホートをを用いた解析

33 症例の検討である。6 ヶ月後の DAS 寛解は 13 症例に認めた。6 ヶ月後の DAS が moderate or high、もしくは生物学的製剤が導入された症例を治療抵抗群と考え、これを 12 症例に認めた。図 1 と図 2 に示すが、DAS 寛解群でのみ、GS スコア、PD スコア、IL-6、VEGF の低下を認めた。バイオマーカーでは、IL-6 でその傾向が顕著であった。

### D. 考察

関節破壊の進展を防止するには、特に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た。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。それに加え、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 2 つの観察研究の結果から、RA の関節破壊の進展に寄与する因子の抽出を試みた。

早期 RA においては、MRI 骨炎が RRP 進展に寄与すること、および、MTX 治療経過をエコー所見とバイオマーカーが反映することを明らかとした。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、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) Satomura K, Torigoshi T, Koga T, Maeda Y, Izumi Y, Jiuchi Y, Miyashita T, Yamasaki S, Kawakami A, Aiba

Y, Nakamura M, Komori A, Sato J, Ishibashi H, Motokawa S, Migita K. Serum amyloid A (SAA) induces pentraxin 3 (PTX3) production in rheumatoid synoviocytes. Mod Rheumatol. 23 (1): 28-35, 2013.

5) 玉井慎美, 川上 純. MRI 画像の特徴と早期診断・治療評価. Mebio. 30 (2): 16-20, 2013.

## 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) 西野文子, 川尻真也, 高谷亜由子, 鈴木貴久, 中島好一, 寶來吉朗, 岩本直樹, 一瀬邦弘, 玉井慎美, 有馬和彦, 中村英樹, 折口智樹, 川上 純. 関節リウマチ患者においてアダリムマブ治療反応性を予測する関節エコー所見の検討. 第 28 回日本臨床リウマチ学会. 2013/11/30-12/1.

5) 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.

## 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。

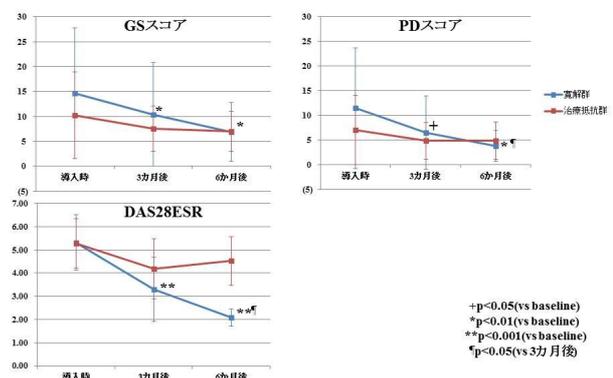
### 3. その他

なし。

表 1. RRP 進展を予測する多変量解析

	Odds ratio	95 % C.I.	p-value
エントリー時の RAMRIS 骨炎スコア	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

図 1. 寛解群と治療抵抗群の比較: DAS とエコー



厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)  
研究分担報告書

## 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

関節リウマチ (RA) は、Treat to target の治療概念の啓蒙に伴って、従来より早期における RA 診断法、また、関節炎の正確な評価法の重要性に注目が集まっている。このなかで RA では全身的な治療反応後においても局所には炎症が残存し予後不良であることが判明してきている。このような関節炎は臨床症状に乏しく、従来の方法では評価することが困難である。最近になり、このような sub-clinical synovitis の発見と評価には画像検査が有用であると報告されている。関節 MRI 検査は、骨髄浮腫などの特徴的所見を捉えることが可能である。しかしながら、高い医療コスト、一度に施行可能部位の制限、医療施設の限定などの問題から、頻回施行には向かない。関節超音波検査は自由度が高い検査であり、滑膜炎の状態を鋭敏に評価することが可能である。しかしながら画像描出は煩雑であり習熟が必要である。更には自由度の高さから評価法は決定されたものではなく検証段階にある。低コスト、簡便に滑膜炎を評価できる画像検査は、診断と評価の面で有用と考えられる。

インドシアニンググリーン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(インドシアニンググリーン蛍光血管描出法)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、インドシアニンググリーン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、インドシアニンググリーン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。

インドシアニンググリーン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。インドシアニンググリーン蛍光血管描出法は 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。

## B. 研究方法

医療機器である近赤外線描出カメラ(浜松ホトニクス)を使用した両手用撮像装置を作成した。

活動性 RA 患者4症例の両手に対して、関節超音波検査と近赤外線カメラ検査を施行した(ICG: 0.25mg/body)。定量パワードップラ関節超音波検査にて滑膜血流値を得た後、両者結果を比較した。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。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。

(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。また本邦における保険診療に従った検査、治療を行っている。

## C. 研究結果

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

本研究の結果から 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、開発は比較的低コストである。

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。

## E. 結論

近赤外線カメラを使ったインドシアニングリーン蛍光血管描出法は、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. 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.

2. 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.

3. 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.

4. Koike T.

IgG4-related disease: why high IgG4 and fibrosis. Arthritis Res Ther. 15(1):103, 2013.

5. Fukae J, Isobe M, Kitano A, Henmi M, Sakamoto F, Narita A, Ito T, Mitsuzaki A, Shimizu M, Tanimura K, Matsushita M, 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, 523-528, 2013.

6. Fukae J, Tanimura K, Atsumi T, Koike T.

Sonographic synovial vascularity of synovitis in rheumatoid arthritis. Rheumatology Sep 18, 2013 (epub ahead of print)

## 2.学会発表

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. 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

## 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 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

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

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 p16INK4a 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) とアロマトーゼ阻害薬である 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。

本研究では、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

DBA1/J マウスをウシ 型コラーゲン(C )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 抗体価とリンパ節由来細胞の C 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

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、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 抗体価と C 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 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 特異的 T 細胞応答の抑制はきたさなかった。

### D. 考察

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

本成果は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. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

1. 関節リウマチ治療における細胞周期制御・抗炎症併用療法の可能性 (口演、第 57 回日本リウマチ学会、2013 年)
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 (ポスター発表、第 30 回炎症再生学会、2013 年)
3. Cell cycle regulation therapy combined with cytokine blockade enhances anti-arthritis effects without increase of immune suppression. (口演、ACR\_ARHP Annual Meeting、2013 年)
4. Cell cycle regulation therapy combined with cytokine

blockade enhances anti-arthritic effects without increase of immune suppression.(口演、日本免疫学会、2013年)

#### **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

厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)  
研究分担報告書

**ROR  $\gamma$  過剰発現による自己免疫性関節炎の制御機構に関する研究**

研究分担者 住田 孝之 (筑波大学医学医療系内科(膠原病・リウマチ・アレルギー))  
研究協力者 近藤 裕也、田原 昌浩(筑波大学医学医療系内科(膠原病・リウマチ・アレルギー))

**研究要旨**

関節リウマチ(rheumatoid arthritis; RA)の病態形成における CD4<sup>+</sup> T 細胞の分化制御機構を明らかにすることを目的として、T helper 17 細胞(Th-17)分化を決定する転写因子 ROR  $\gamma$  を T 細胞でのみ過剰発現した ROR  $\gamma$  トランスジェニックマウス(ROR  $\gamma$  Tg)に対してコラーゲン誘導関節炎(collagen induced arthritis; CIA)を誘導したところ、ROR  $\gamma$  Tg マウスでは野生型(wild type; WT)と比較して関節炎の発症率、重症度の有意な減少が認められ、また病理組織学的に関節局所の炎症像および骨破壊像が減弱していた。抗原であるタイプIIコラーゲン(CII)反応性 T 細胞のサイトカイン産生、転写因子発現については、ROR  $\gamma$  Tg マウスにおいて IL-17 産生の有意な亢進および ROR  $\gamma$  の発現の亢進が認められた。ROR  $\gamma$  Tg マウスにおける ROR  $\gamma$  発現亢進は、Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 細胞(Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞)においても認められ、同時に関節炎局所への遊走に重要なケモカインレセプターCCR6の発現亢進を認めた。また Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞の細胞増殖抑制能は、WT と ROR  $\gamma$  Tg マウス間に有意な差は認められなかった。WT に対して ROR  $\gamma$  Tg マウス由来のリンパ節細胞の経静脈的に移入し、CIA を誘導した場合の影響を解析したところ、ROR  $\gamma$  Tg マウス由来のリンパ節細胞の移入による関節炎の減弱が確認され、ROR  $\gamma$  Tg マウス内に関節炎に対する抑制性細胞分画が存在している可能性が示唆された。

以上から ROR  $\gamma$  発現により Th-17 分化が優位となった場合であっても関節炎発症が減弱すること、さらに ROR  $\gamma$  Tg マウス内に関節炎発症に対して抑制的に働く細胞成分が存在し、ROR  $\gamma$ <sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞が関与する可能性があること等が明らかになった。

**A. 研究目的**

関節リウマチ(rheumatoid arthritis; RA)の疾患モデルであるコラーゲン誘導関節炎(CIA)を用いて自己免疫疾患への関与が注目されている Th-17 の分化に必須な転写因子 ROR  $\gamma$  が関節炎発症に与える影響を解析することによって、関節炎の病態形成における CD4<sup>+</sup> T 細胞の分化制御機構を明らかにすることを目的とした。

**B. 研究方法**

1) ROR  $\gamma$  を T 細胞においてのみ過剰発現させた ROR

$\gamma$  トランスジェニックマウス(ROR  $\gamma$  Tg)に対して CIA を誘導し、野生型 C57BL/6(WT)と臨床像を比較検討した

- 2) CII 投与 42 日後に後肢を摘出し、関節局所の炎症所見、骨破壊所見について病理組織学的に評価した。
- 3) CII 投与後の所属リンパ節細胞を in vitro で抗原である CII とともに培養し、ELISA による培養上清中のサイトカイン量の測定および FACS によるサイトカイン産生、転写因子 ROR  $\gamma$  発現の評価を行った。
- 4) CII 投与後に所属リンパ節細胞を採取して FACS により

転写因子 Foxp3 発現およびケモカインレセプター発現との関連を解析した。

- 5) WT Foxp3<sup>GFP</sup> reporter マウスおよび ROR $\gamma$  t Tg Foxp3<sup>GFP</sup> reporter マウスから CD4<sup>+</sup>GFP<sup>+</sup>(=Foxp3<sup>+</sup>)細胞を sorting し、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>GFP<sup>-</sup>細胞を effector T 細胞に対する細胞増殖抑制能を in vitro で評価した。
- 6) CII 投与後の WT もしくは ROR $\gamma$  t Tg マウス由来の所属リンパ節細胞を CII 投与後の WT マウスに経静脈的に移入し、関節炎発症に与える影響を評価した。

(倫理面への配慮)

本研究は、当施設の遺伝子組み換え実験安全委員会、動物実験委員会に実験計画書を提出して承認を得ており、研究の実施に当たっては筑波大学遺伝子組換え実験安全管理規定および筑波大学動物実験取扱規定に留意しながら行っている。

## C. 研究結果

- 1) ROR $\gamma$  t Tg マウスでは WT と比較して CIA の発症率、重症度について有意な減少が認められた(図 1)。
- 2) 関節局所の病理学的評価では、ROR $\gamma$  t Tg マウスにおいて炎症像、関節破壊像は有意に抑制されていた(図 2)。
- 3) in vitro で培養後の上清中 IL-17 濃度は、WT と比較して ROR $\gamma$  t Tg マウス由来のリンパ節細胞を培養した場合に有意な増加が認められた。同条件下での CD4<sup>+</sup>細胞における ROR $\gamma$  t の発現は、WT と比較して ROR $\gamma$  t Tg マウスにおいて有意に亢進していた。
- 4) 所属リンパ節中 CD4<sup>+</sup>T 細胞における Foxp3 発現は、WT、ROR $\gamma$  t Tg マウス間で有意な差は認めなかったが、ROR $\gamma$  t Tg 由来の Foxp3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>細胞においては WT と比較して ROR $\gamma$  t および CCR6 の発現が有意に亢進していた。
- 5) WT Foxp3<sup>GFP</sup> reporter マウス、ROR $\gamma$  t Tg Foxp3<sup>GFP</sup> reporter マウスから分離した CD4<sup>+</sup>GFP<sup>+</sup>(=Foxp3<sup>+</sup>)細胞の effector T 細胞に対する細胞増殖抑制能は、WT、

ROR $\gamma$  t Tg マウス間で有意な差は認められなかった。

- 6) ROR $\gamma$  t Tg マウス由来の所属リンパ節細胞を WT マウスに移入した後に CIA を誘導した場合に、WT 由来の所属リンパ節細胞を移入した場合と比較して、関節炎の重症度が有意に低下した。

## D. 考察

ROR $\gamma$  t Tg マウス由来の所属リンパ節細胞の in vitro における解析から Th-17 が増加していることが示唆されたが、関節炎の発症は抑制され、また ROR $\gamma$  t Tg マウスのリンパ節細胞の移入によって WT の関節炎が抑制されたことから、ROR $\gamma$  t Tg には関節炎に対する抑制性の細胞成分が存在すると考えられた。ROR $\gamma$  t Tg マウスでは、Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞において ROR $\gamma$  t の有意な亢進が認められたが、細胞増殖能は保たれていることが明らかになった。また ROR $\gamma$  t Tg マウスの Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞において CCR6 の発現亢進が認められたことから、これらが炎症局所における関節炎発症制御に関与している可能性が考えられた。

## E. 結論

T 細胞における ROR $\gamma$  t の過剰発現は自己免疫性関節炎の発症を抑制することが明らかとなり、細胞移入実験などの結果から関節炎発症を抑制する細胞の存在が示唆された。

## F. 健康危険情報

特記事項なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Gazal S, Sacre K, Allanore Y, Teruel M, Goodall AH, Tohma S, Alfredsson L, Okada Y, Xie G, Constantin A, Balsa A, Kawasaki A, Nicaise P, Amos C, Rodriguez-Rodriguez L, Chiocchia G, Boileau C, Zhang J, Vittecoq O, Barnetche T, Gonzalez-Gay MA,

- Furukawa H, Cantagrel A, Le Loet X, Sumida T, Hurtado-Nedelec M, Richez C, Chollet-Martin S, Schaeverbeke T, Combe B, Khoryati L, Coustet B, El-Benna J, Siminovitch K, Plenge R, Padyukov L, Martin J, Tsuchiya N, Dieud P.: Validation of EULAR primary Sjogren's Syndrome disease activity and patient indexes. Ann Rheum Dis (in press)
2. Yoon J, Sudo K, Han J, Chae M, Park S, Weinstein M, Nakae S, Yamashita T, Lee , Sumida T, Kuroda M, Mamura M.: Smad2 is the TGF- receptor-regulated Smad to suppress the immunogenicity of mouse and human dendritic cells. Eur J Immunol (in press)
3. Yoon JH, Jung SM, Park SH, Kato M, Yamashita T, Lee IK, Sudo K, Nakae S, Han JS, Kim OH, Oh BC, Sumida T, Kuroda M, Ju JH, Jung KC, Park SH, Kim DK, Mamura M.: Activin receptor-like kinase5 inhibition suppresses mouse melanoma by ubiquitin degradation of Smad4, thereby derepressing eomesodermin in cytotoxic T lymphocytes. EMBO Mol Med 5(11):1720-39,2013
4. Umeda N, Matsumoto I, Ito I, Kawasaki A, Tanaka Y, Inoue A, Tanaka Y, Tsuboi H, Suzuki T, Hayashi T, Ito S, Tsuchiya N, Sumida T.: Anti-citrullinated glucose-6-phosphate isomerase peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis are associated with HLA-DRB1 shared epitope alleles and disease activity. Clin Exp Immunol 172(1):44-53,2013
5. Suzuki T, Horikoshi M, Sugihara M, Hirota T, Ogishima H, Umeda N, Kondo Y, Tsuboi H, Hayashi T, Chino Y, Matsumoto I, Sumida T.: Therapeutic efficacy of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor inhibitors: One year follow-up by low-field extremity MRI. Mod Rheumatol 23(4):782-7,2013

## 2. 学会発表

1. 近藤裕也、住田孝之他：転写因子 ROR  $\gamma$  t 高発現による自己免疫性関節炎制御機構の解析 第 57 回日本リウマチ学会総会・学術集会、2013 年
2. 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

## 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

特記事項なし

図1 コラーゲン誘導関節炎 (CIA)

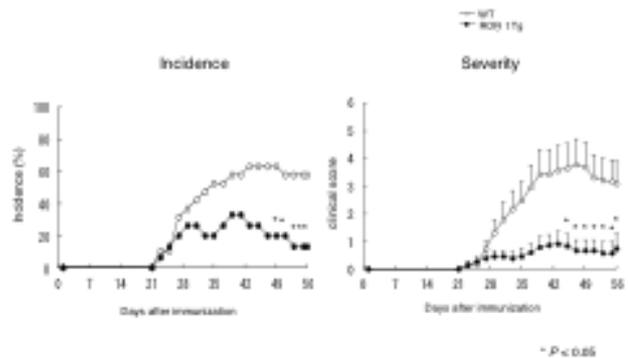
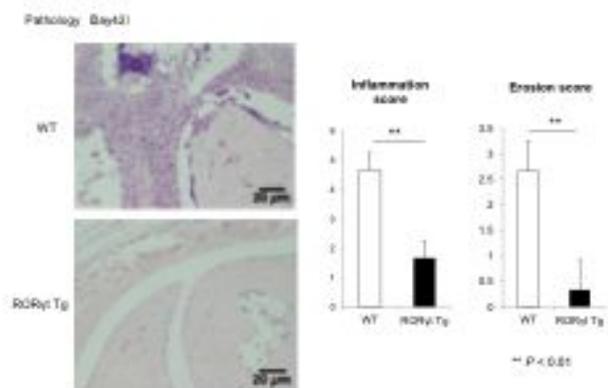


図2 関節の組織学的評価



厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)  
研究分担報告書

SAKURA 早期関節炎コホートにおける高感度サイトカインアッセイ系による検討

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投与例における、血中サイトカイン変動を、Electro-chemiluminescence (ECL)による超感度アッセイ系により解析した。

平均罹病期間 0.6 年の早期 RA コホート 62 例において IL-1 と IL-6 の有意な低下を明らかにした。その中で、関節破壊進行と関連する治療後サイトカインを検討した所、治療後 TNF は抽出されず、従来型 ELISA 法と同様 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投与例における、血中サイトカイン変動を、Electro-chemiluminescence (ECL)による超感度アッセイ系により解析する。

(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)。

## 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。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, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF, IFN, 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 ソフトウェアを用いて統計解析した。

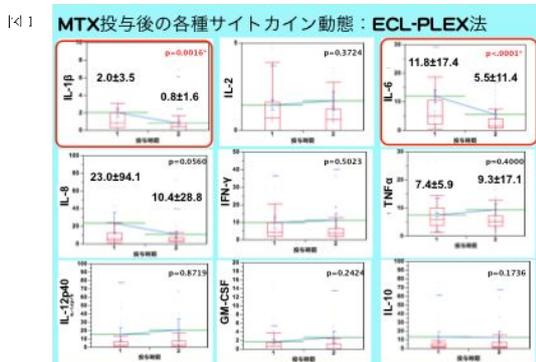
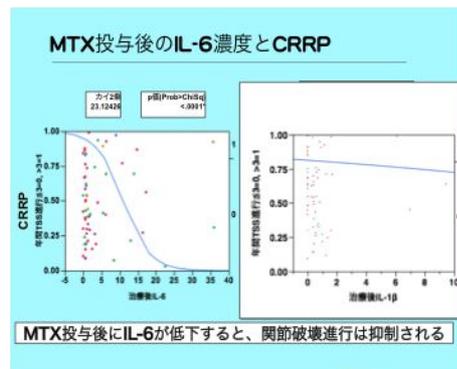
## C. 研究結果

1) 患者背景と臨床効果: 昨年報告した通り、女性 79%、年齢  $56 \pm 14.5$  才、罹病期間  $6.3 \pm 8.0$  ヶ月、RF+ 74.2%、抗 CCP 74.2%、MTX 用量  $8.7 \pm 2.3$  mg/週。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。

2) IL-6 と TNF 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 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 は、 $r=0.659$ ,  $p<0.001$  と IL-6 に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 1 pg/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 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 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 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。

感度 ECL 法によっても、治療後 TNF の単位オッズ比は 1.08、95% 信頼区間は 0.50-1.91 であった。



3) 治療後サイトカインの変動 (図1): 治療前後で有意に変化したサイトカインは、IL-1 と IL-6 であった。IL-1 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 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 , GM-CSF も有意な変化を示さなかった。

4) CRRP と関連する MTX 投与 1 年後の要因: TSS > 3 以上の clinically relevant radiographic progression (CRRP) と関連する治療後サイトカインを解析した所、ロジスティック回帰分析によって、唯一治療後 IL-6 が CCRP と関連する要因として抽出された (単位オッズ比 = 1.92、95% 信頼区間 = 1.30-3.63)。CRRP を来す IL-6 値を ROC 解析によって求めた所、2.4pg/ml のカットオフが得られた (図2)。一方、高

## D. E. 考察/ 結論

平均罹病期間 0.6 年の早期 RA コホート 62 例で MTX の関節破壊抑制効果と血中サイトカイン 9 種類の変動を超高感度 ECL 法で解析し、IL-1 と IL-6 の有意な低下を明らかにした。その中で、関節破壊進行と関連する治療後サイトカインを検討した所、治療後 TNF は抽出されず、従来型 ELISA 法と同様 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

### 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 Iwashashi, 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.
  7. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Takei S, Tanaka Y, Sano Y, Yamaguchi H, and Yamanaka H. Characteristics related to good effectiveness and safety with tocilizumab: Post-marketing surveillance of 7901 rheumatoid arthritis patients in Japan. *J Rheum* in press.
  8. Sugano K, Kinoshita Y, Miwa H, Takeuchi T, and Esomeprazole NSAID Prevention study group. Safety and efficacy of long-term esomeprazole 20mg in Japanese patients with a history of peptic ulcer receiving daily non-steroidal anti-inflammatory drugs. *BMC Gastroenterology* in press.
  9. Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Shoji T, Sakamaki Y, van der Heijde D, Miyasaka N, and Koike T. Efficacy and safety of certolizumab pegol plus methotrexate in Japanese rheumatoid arthritis patients with inadequate response to methotrexate: the J-RAPID randomized, placebo-controlled trial. *Mod Rheum* in press.
  10. Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Iwai K, Sakamaki Y, van der Heijde D, Miyasaka N, and Koike T. Efficacy and safety of certolizumab pegol without methotrexate co-administration in Japanese patients with active rheumatoid arthritis: the HIKARI randomized, placebo-controlled trial. *Mod Rheum* in press.
  11. Tanaka Y, Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Shoji T, Miyasaka N, and Koike T. Long-term efficacy and safety of certolizumab pegol in Japanese rheumatoid arthritis patients who could not receive methotrexate: 52-week results from an open-label extension of the HIKARI study. *Mod Rheum* in press.
  12. Tanaka Y, Kubo S, Yamanaka H, Amano K, Hirata S, Tanaka E, Nagasawa H, Yasuoka H, and Takeuchi T. Efficacy and safety of abatacept in routine care of patients with rheumatoid arthritis: Oencia as Biological Intensive Treatment for RA (ORBIT) study.

- Mod Rheum in press.
13. Kaneko Y, Kondo H and Takeuchi T. ACR/EULAR remission criteria maintains strict performance when evaluated in 44 joints. *J Rheumatology* 40:1254–8,2013
  14. Tsuboi H, Hagiwara S, Asashima H, Umehara H, Kawakami A, Nakamura H, Sano H, Tsubota K, Ogawa Y, Takamura E, Saito I, Inoue H, Nakamura S, Moriyama M, Takeuchi T, Tanaka Y, Hirata S, Mimori T, Matsumoto I, and Sumida T. Validation of different sets of criteria for the diagnosis of Sjogren's syndrome in Japanese patients. *Mod Rheum* 23:219-225, 2013.
  15. Takeuchi T and Suzuki K. CD247 variants single nucleotide polymorphisms observed in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology online* March 23, 2013.
  16. Nishina N, Kaneko Y, Kameda H, Kuwana M, and Takeuchi T. Reduction of plasma IL-6, but not TNF- by methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis: a potential biomarker for radiographic progression. *Clinical Rheumatology* 32:1661-6, 2013.
  17. Takeuchi T, Matsubara T, Nitobe T, Suematsu E, Ohta S, Honjyo S, Abe T, Yamamoto A, Miyasaka N, and The Japan Abatacept Study Group. Phase II dose-response study of abatacept in Japanese patients with active rheumatoid arthritis with inadequate response to methotrexate. *Mod Rheum* 23:226-235, 2013.
  18. Sakai R, Nagasawa H, Nishi E, Okuyama A, Takei H, Kurasawa T, Kondo T, Nishimura K, Shirai Y, Ito T, Kameda H, Takeuchi T, and Amano K. Successful treatment of adult-onset Still's disease with tocilizumab monotherapy: two case reports with literature review. *Clin Rheum* 31:569-74, 2012.
  19. Takeuchi T, Harigaya M, Tanaka Y, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, Miyasaka N, Koike T, Kanazawa M, Ohba 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*72:1488-95, 2013.
  20. Takeuchi T, Miyasaka N, Zang C, Alvarez D, Fletcher T, Wajdula J, Yuasa H, and Vlahos B. A phase 3 randomized, double-blind, multicenter comparative study evaluating the effect of etanercept versus methotrexate on radiographic outcomes, disease activity and safety in Japanese subjects with rheumatoid arthritis. *Mod Rheum* 23:623-33, 2013.
  21. Kameda H, Kanbe K, Sato E, Ueki Y, Saito K, Nagaoka S, Hidaka T, Atsumi T, Tsukano M, Kasama T, Shiozawa S, Tanaka Y, Yamanaka H, and Takeuchi T. A merged presentation of clinical and radiographic data using probability plots in a clinical trial, the JESMR study. *Ann Rheum Dis* 72:310-2, 2012.
  22. Tokuhira M, Watanabe R, Nemoto T, Sagawa M, Tomikawa T, Tamaru J, Itoyama S, Nagasawa H, Amano K, Kameda H, Takeuchi T, Mori S, and Kizaki M. Clinicopathological analysis in patients with iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative diseases and rheumatoid arthritis. *Leukemia & Lymphoma* 53:616-23, 2012.
  23. 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* online January 11, 2013.

24. 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*, online December 13, 2013.

#### 学会発表

1. T. Takeuchi , Y. Kaneko , T. Atsumi , Y. Tanaka , M. Inoh , H. Kobayashi , K. Amano , M. Miyata , Y. Murakawa , T. Fujii , A. Kawakami , H. Yamanaka , K. Yamamoto , N. Miyasaka , T. Mimori: ADDING TOCILIZUMAB OR SWITCHING TO TOCILIZUMAB MONOTHERAPY IN RA PATIENTS WITH INADEQUATE RESPONSE TO METHOTREXATE: 24- WEEK RESULTS FROM A RANDOMIZED CONTROLLED STUDY (SURPRISE STUDY). Madrid, Spain. 2013.6.13
2. H. Yamanaka , K. Yamamoto , T. Takeuchi , N. Ishiguro , Y. Tanaka , K. Eguchi , A. Watanabe , H. Origasa , T. Shoji , S. Onodera , N. Miyasaka , T. Koike: WEEK 12 CLINICAL RESPONSE TO CERTOLIZUMAB PEGOL PREDICTS LONG-TERM OUTCOMES REGARDLESS OF CONCOMITANT MEDICATIONS AND BASELINE DISEASE CHARACTERISTICS IN JAPANESE PATIENTS WITH ACTIVE RHEUMATOID ARTHRITIS. Madrid, Spain. 2013.6.13
3. T. Takeuchi , N. Wakasugi , H. Makino . Keio University, Astellas Pharma Inc., Tokyo, Okayama University, Okayama, Japan: LONG-TERM SAFETY AND EFFICACY OF TACROLIMUS FOR LUPUS NEPHRITIS PATIENTS -INTERIM ANALYSIS OF POST MARKETING SURVEILLANCE IN 1375 PATIENTS IN JAPAN (TRUST STUDY). Madrid, Spain. 2013.6.13
4. N. Nishina, J. Kikuchi, M. Hashizume, K. Yoshimoto, H. Kameda, T. Takeuchi: BASELINE SOLUBLE INTERLEUKIN-6 RECEPTOR LEVELS PREDICT THE CLINICAL EFFECTIVENESS OF TOCILIZUMAB IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS. Madrid, Spain. 2013.6.14
5. J. Kikuchi, H. Kameda, K. Yoshimoto, T. Takeuchi: LOW SERUM INTERLEUKIN-6 LEVEL AT BASELINE, RATHER THAN AT FOLLOW-UP, IS ASSOCIATED WITH FAVORABLE RADIOGRAPHIC OUTCOME IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS TREATED WITH ABATACEPT. Madrid, Spain. 2013.6.14
6. T. Takeuchi, M. Harigai, Y. Tanaka, H. Yamanaka, N. Ishiguro, K. Yamamoto, Y. Murakami, T. Yoshinari, D. Baker, N. Miyasaka, T. Koike: GOLIMUMAB MONOTHERAPY IN PATIENTS WITH ACTIVE RHEUMATOID ARTHRITIS DESPITE DMARD THERAPY: WEEK 104 RESULTS OF CLINICAL, RADIOGRAPHIC AND SAFETY ASSESSMENTS INCLUDING EVALUATION OF REMISSION USING THE NEW ACR/EULAR CRITERIA. Madrid, Spain. 2013.6.14
7. 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
8. T. Takeuchi, K. Yamamoto, H. Yamanaka, N. Ishiguro, Y. Tanaka, K. Eguchi, A. Watanabe, H. Origasa, Y. Wada, T. Shoji, N. Miyasaka, T. Koike: IMMUNOGENICITY OF CERTOLIZUMAB PEGOL

- WITHOUT CONCOMITANT METHOTREXATE AND CLINICAL RESPONSE IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS: POST-HOC ANALYSIS OF THE HIKARI STUDY. Madrid, Spain. 2013.6.14
9. Y. Tanaka, M. Harigai, T. Takeuchi, H. Yamanaka, N. Ishiguro, K. Yamamoto, Y. Murakami, T. Yoshinari, D. Baker, N. Miyasaka, T. Koike: GOLIMUMAB ADMINISTERED SUBCUTANEOUSLY EVERY FOUR WEEKS IN PATIENTS WITH ACTIVE RHEUMATOID ARTHRITIS DESPITE METHOTREXATE THERAPY: LONG-TERM CLINICAL, RADIOGRAPHIC AND SAFETY RESULTS, INCLUDING EVALUATION OF REMISSION USING THE NEW ACR/EULAR CRITERIA. Madrid, Spain. 2013.6.14
  10. Y. Tanaka, T. Takeuchi, T. Mimori, N. Miyasaka, T. Koike and RRR Study Investigators: THE POSSIBILITY AND PREDICTIVE FACTORS OF MAINTAINING LOW DISEASE ACTIVITY AND JOINT STRUCTURE AFTER DISCONTINUATION OF INFLIXIMAB IN RA PATIENTS: RESULTS FROM 3-YEAR EXPERIENCE OF RRR STUDY. Madrid, Spain. 2013.6.14
  11. G. Burmester, T. Takeuchi, O. Barbarash, G. Ranganna, D. Close, A. Godwood, D. Saurigny and EARTH Study Group.: CONSISTENT EFFICACY AND SAFETY OUTCOMES BETWEEN EUROPEAN AND JAPANESE SUBJECTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS FOLLOWING TREATMENT WITH MAVRILIMUMAB IN THE PHASE 2 EARTH STUDY. Madrid, Spain. 2013.6.14
  12. K. Amano, T. Matsubara, H. Inoue, M. Iwahashi, A. Yamazaki, C. S. Karyekar, T. Takeuchi and Department of RheuJapan Abatacept Study Group: LONG-TERM SAFETY AND EFFICACY OF TREATMENT WITH SUBCUTANEOUS ABATACEPT IN JAPANESE PATIENTS WITH RA WHO WERE MTX INADEQUATE RESPONDERS - 76-WEEK RESULTS. Madrid, Spain. 2013.6.14
  13. T. Takeuchi on behalf of ORION study group, T. Matsubara, S. Ohta, M. Mukai, K. Amano, S. Tohma, Y. Tanaka, H. Yamanaka, N. Miyasaka and ORION study group: ABATACEPT BIOLOGIC-FREE REMISSION STUDY IN ESTABLISHED RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS ORION STUDY. Madrid, Spain. 2013.6.15
  14. M. Harigai, S. Inokuma, N. Ishiguro, J. Ryu, T. Takeuchi, S. Takei, Y. Tanaka, H. Yamanaka, Y. Sano, H. Yaguramaki, T. Koike: CHARACTERISTICS ASSOCIATED WITH BETTER EFFECTIVENESS AND SAFETY IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS TREATED WITH INTRAVENOUS TOCILIZUMAB: RESULTS FROM FULL ANALYSIS OF ALL-PATIENT POSTMARKETING SURVEILLANCE IN JAPAN. Madrid, Spain. 2013.6.15
  15. T. Takeuchi, Y. Tanaka, K. Amano, J. Kikuchi, E. Tanaka, S. Hirata, H. Nagasawa, H. Yasuoka, H. Yamanaka: EFFECTIVENESS OF ABATACEPT AGAINST RHEUMATOID ARTHRITIS IN DAILY CLINICAL PRACTICE - ORBIT STUDY. Madrid, Spain. 2013.6.15
  16. Yoshiya Tanaka, Kazuhiko Yamamoto, Tsutomu Takeuchi, Nobuyuki Miyasaka, Takayuki Sumida, Tsuneyo Mimori, Takao Koike and Kazuhiro Endo: Efficacy Of Rituximab In Patients With Refractory Lupus Nephritis, a Post-Hoc Analysis From Phase II Trial In Japan. San Diego, USA. 2013.10.27
  17. Hidekata Yasuoka, Yuichiro Shirai, Yuichi Tamura, Toru Satoh, Tsutomu Takeuchi and Masataka Kuwana: Baseline Characteristics That Predict a

- Short-Term Response To Immunosuppressive Treatment In Patients With Pulmonary Arterial Hyper-tension Associated With Connective Tissue Disease. San Diego, USA. 2013.10.27
18. Hidekata Yasuoka, Ken Stern, Yuka Okazaki, Tetsuya Nishimoto, Tsutomu Takeuchi and Masataka Kuwana: Up-Regulated Expression Of CXCL5 In Circulating Platelets From Patients With Systemic Sclerosis: A Role In Fibrosis. San Diego, USA. 2013.10.27
  19. Misato Hashizume, Keiko Esaki, Keiko Yoshimoto, Hideto Kameda, Tsutomu Takeuchi and Yoshihiro Matsumoto: Novel Function Of Soluble Interleukin-6 Receptor As An Antagonist Of Interleukin-27-Mediated Anti-Inflammatory Responses. San Diego, USA. 2013.10.28
  20. Yoshiya Tanaka, Tsutomu Takeuchi, Naoki Ishiguro, Hisashi Yamanaka, Toshiyuki Yoneda, Harry K. Genant and Désirée van der Heijde: Estimation Of The Effect Of Denosumab On Bone Loss From The Results Of The 12-Month Phase II Study In Patients With Rheumatoid Arthritis (RA) On Background Methotrexate (MTX). San Diego, USA. 2013.10.28
  21. Takao Koike, Masayoshi Harigai, Naoki Ishiguro, Shigeko Inokuma, Junnosuke Ryu, Syuji Takei, Tsutomu Takeuchi, Y. Tanaka, Masahiko Watanabe and Hisashi Yamanaka: Safety and Effectiveness Of Abatacept In 3985 Japanese Patients With Rheumatoid Arthritis; Japan All-Cases Post-Marketing Surveillance. San Diego, USA. 2013.10.28
  22. Gerd-Rüdiger Burmester, Tsutomu Takeuchi, Olga Barbarash, Duncan Porter, Didier Saurigny, David Close, Alex Godwood, Yoojung Yang and Ancilla W. Fernandes: Early and Sustained Improvement In Pain and Physical Function As Measured By Visual Analog Scale and Short Form-36 Physical Component Summary Score In Rheumatoid Arthritis Patients Treated With Mavrilimumab, An Investigational Anti-GM-CSFR-Alpha Monoclonal Antibody, In a Phase 2a Study. San Diego, USA. 2013.10.28
  23. M Weinblatt, P Mease, E Mysler, T Takeuchi, E Drescher, A Berman, M Zilberstein, J Xing and P Emery: A Phase IIb Study Of The Efficacy and Safety Of Subcutaneous Clazakizumab (anti-IL-6 monoclonal antibody) With Or Without Methotrexate In Adults With Moderate-To-Severe Active Rheumatoid Arthritis and An Inadequate Response To Methotrexate. San Diego, USA. 2013.10.28
  24. Keiko Yoshimoto, Maiko Tanaka, Masako Kojima, Hideko Ogata, Eriko Ishioka, Ayumi Nishikawa, Katsuya Suzuki, Hideto Kameda, Tohru Abe and Tsutomu Takeuchi: Increased Expression of BAFF Receptor On Monocytes Is a Contributory Factor of Hypergammaglobulinemia in Patients With Primary Sjögren's Syndrome. San Diego, USA. 2013.10.29
  25. Keiko Yoshimoto, Maiko Tanaka, Masako Kojima, Hideko Ogata, Eriko Ishioka, Ayumi Nishikawa, Katsuya Suzuki, Hideto Kameda, Tohru Abe and Tsutomu Takeuchi: BAFF Induces Production of Matrix Metalloproteinase-9 By Peripheral Monocytes in Patients With Primary Sjögren's Syndrome Through a Signaling Pathway That Involves NF-Kb and PI3 Kinase. San Diego, USA. 2013.10.29
  26. Yuko Kaneko, Hironari Hanaoka, Michito Hirakata, Tsutomu Takeuchi and Masataka Kuwana: Distinct Arthropathies In Patients With Anti-Aminoacyl tRNA Synthetase Antibodies: Utility Of Autoantibody Profiles In Discrimination. San Diego, USA.

- 2013.10.29
27. Tsutomu Takeuchi, Kazuhiko Yamamoto, Hisashi Yama- naka, Naoki Ishiguro, Yoshiya Tanaka, Katsumi Eguchi, Akira Wata- nabe, Hideki Origasa, Mariko Kobayashi, Toshiharu Shoji, Nobuyuki Miyasaka and Takao Koike: Post-Hoc Analysis Showing Better Clinical Response With The Loading Dose Of Certolizumab Pegol In Japanese Patients With Active Rheumatoid Arthritis. San Diego, USA. 2013.10.29
28. Yoshiya Tanaka, Kazuhiko Yamamoto, Tsutomu Takeuchi, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Katsumi Eguchi, Akira Wa- tanabe, Hideki Origasa, Tadao Okamoto, Yumiko Wada, Toshiharu Shoji, Nobuyuki Miyasaka and Takao Koike: Comprehensive Disease Remission Achieved By Certolizumab Pegol Treatment, and Factors Associated With Certolizumab Pegol Comprehensive Disease Remission, In Rheumatoid Arthritis Patients With Predominantly High Disease Activity. San Diego, USA.2013.10.29
29. Yoshiya Tanaka, Yasuhiko Shinmura, Ryo Nakajima, Takahiro Muramatsu, Shuichi Komatsu, Tadamichi Kubo, Aki Kuroki, Ataru Igarashi, Toshiro Tango and Tsutomu Takeuchi: Economic Impact Of Adalimumab Treatment In Japanese Patients With Rheumatoid Arthritis: Analysis Of 24 Weeks Data From The Anouveau Study. San Diego, USA. 2013.10.29
30. Masako Tsukamoto, Katsuya Suzuki, Keiko Yoshimoto, Hideto Kameda and Tsutomu Takeuchi: Pleiotropic Roles Of Fc Receptors Upregulated On Circulating Monocytes In Rheumatoid Arthritis Patients. San Diego, USA. 2013.10.29
31. Masataka Kuwana, Yuichiro Shirai, Hidekata Yasuoka, Tsutomu Takeuchi and Kenichi Masui: Utility Of Autoantibody Testing For Predicting Risk Of Pulmonary Arterial Hypertension: A Retrospective Analysis In Routine Autoantibody Laboratory. San Diego, USA. 2013.10.29
32. Yoshiya Tanaka, Hisashi Yamanaka, Naoki Ishiguro, Nobuyuki Miyasaka, Katsuyoshi Kawana, Tadamichi Kubo, Aki Kuroki and Tsutomu Takeuchi: Clinical Remission After 52 Weeks Of Treatment Is a Predictor Of Adalimumab-Free Disease Control In Patients With Early Rheumatoid Arthritis: HOPEFUL 2 Study. San Diego, USA. 2013.10.29
33. Tsutomu Takeuchi, Yoshiya Tanaka, Naoki Ishiguro, Hisashi Yamanaka, Toshiyuki Yoneda, Harry K. Genant and Désirée van der Heijde: Dose-Response Effects Of Denosumab, a Novel Subcutaneous RANKL Inhibitor, On The Progression Of Bone Erosion In Japanese Patients With Rheumatoid Arthritis Treated With Methotrexate: Results Of Phase II DRIVE Study—A Twelve Month Placebo Controlled, Randomized, Double Blind Study. San Diego, USA. 2013.10.30

## H.知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

### 1. 特許取得

特になし

### 2. 実用新案登録

特になし

### 3. その他

特になし

## 抗シトルリン化ペプチド抗体陰性関節リウマチ患者における新規自己抗体に関する研究

分担研究者: 三森 経世 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学 教授  
協力研究者: 大村 浩一郎 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学 講師

### 研究要旨

抗 CCP 抗体陰性関節リウマチ(RA)はしばしば診断に苦慮し、治療開始が遅延し関節破壊が進行する。我々は抗 CCP 抗体陰性 RA の診断に有用な自己抗体の検索をビオチン化蛋白ライブラリーと AlphaScreen 法を用いてスクリーニングした。抗 CCP 抗体陰性 RA 血清には未知のシトルリン化蛋白に対する抗体が含まれており、今回は未知の抗シトルリン化蛋白抗体をスクリーニングした。まず抗 CCP 抗体陽性 RA 血清と反応する新規シトルリン化蛋白抗体を 186 個発見した。抗 CCP 抗体陰性 RA 血清と反応するシトルリン化蛋白は 14 個。うち 3 個を Western Blot および ELISA にて反応性、陽性率を検討した。シトルリン化蛋白 は 33 例の抗 CCP 抗体(-)RA 血清中 2 例に陽性となり、20 名の健常人では陰性であり診断の補助に用いられる可能性がある。

### A. 研究目的

抗環状シトルリン化ペプチド抗体(抗 CCP 抗体)は関節リウマチ(RA)の特異的自己抗体であるが、早期 RA での陽性率は 50%程度にすぎず、診断・治療の遅れから関節破壊の進行もまねく。今回我々は関節破壊を認める抗 CCP 抗体陰性 RA 患者血清中に抗 CCP 抗体 detection kit に含まれていない抗シトルリン化タンパク抗体(ACPA)が存在するという仮説のもとに、AlphaScreen 法を用いて ACPA を網羅的にスクリーニングし、抗 CCP 抗体陰性 RA の診断に役立つ抗体を検索する。

### B. 研究方法

AlphaScreen 法は 2 つのビーズが近接したときのみレーザーを当てると化学発光するシステムで、本研究では Strepto-Avidin をコートした donor beads と血清と反応させた protein A-coated acceptor beads を用いる。ビオチン化蛋白ライブラリーに前記 beads を加え、その蛋白と反応する自己抗体が血清に含まれていればビーズが近接し発光す

るという方法である。2181 種類のビオチン化蛋白ライブラリーを一斉に PAD もちいて、シトルリン化し ACPA をスクリーニングする。

比較的関節破壊の強い 3 例の抗 CCP 抗体陰性 RA 患者血清と、対照として 4 例の抗 CCP 抗体陽性 RA および 3 例の健常人血清を用いて、非シトルリン化およびシトルリン化タンパクライブラリーに対して AlphaScreen を行った。

検証に用いた 3 つの蛋白( 、 、 )は市販のものを購入し、Western Blotting および ELISA に用いた。Western Blot ではスクリーニングで高い OD 値を示した 2 例の抗 CCP 抗体(+)RA と 1 例の膠原病患者、1 例の健常人を用いた。ELISA ではスクリーニングに用いた血清を除いて 30 例の抗 CCP 抗体(+)RA、30 例の抗 CCP 抗体(-)RA、22 例の膠原病、20 例の健常人の血清を用いた。

(倫理面への配慮)

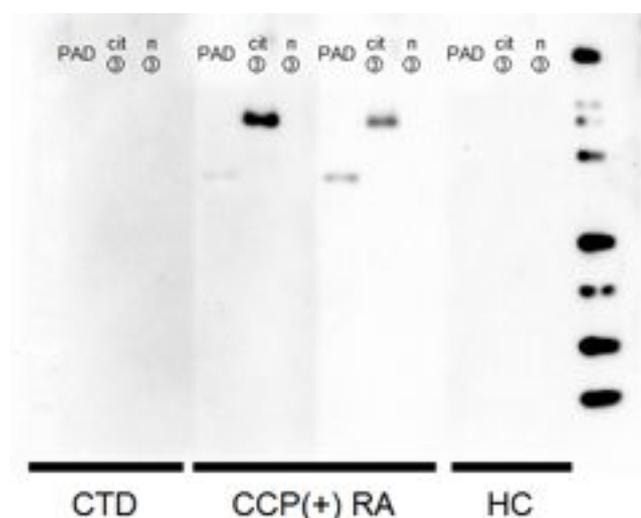
患者血清を用いる場合、個人情報かわからないようにするため、匿名符号を用いて実験および解析をした。

### C. 研究結果

実験ごとに AlphaScreen の OD 値のベースが多少異なるため、実験毎で各血清に対応する mock (20 well 以上) の OD 値を基に mean + 3SD を cut-off 値として設定した。抗 CCP 抗体陽性 RA 血清では明らかにシトルリン化蛋白に対する反応が強く、抗 CCP 抗体陽性 RA 血清 (4 検体) で陽性となったシトルリン化蛋白の数は 2181 蛋白中 186 個、それに対して、抗 CCP 抗体陰性 RA 血清 (3 検体) では陽性となったシトルリン化蛋白の数は 2181 蛋白中 14 個のみであり、健常人血清 (3 検体) では陽性となったシトルリン化蛋白の数は 2181 蛋白中 9 個であった (表 1)。抗 CCP 抗体陰性 RA 血清で比較的高い OD 値を示し、健常人血清では陰性であった候補タンパクを 3 つ選び validation study を行った。まずは Western blot によりシトルリン化候補タンパクに対する自己抗体であることを確認した (図 1)。

次に、抗 CCP 抗体 (-) RA 血清のうち 1 検体でも高い OD 値を示し、健常人では陰性であった蛋白を 3 個選び、ELISA 法にて抗 CCP 抗体 (+) RA 患者 30 例、抗 CCP 抗体 (-) RA 患者 30 例、他の膠原病患者 22 例、健常人 20 例を用いて、非シトルリン化蛋白およびシトルリン化蛋白に対する陽性率を検討した。

図1 シトルリン化候補タンパク に対する自己抗体



候補タンパク とそのシトルリン化したタンパク、またシトル

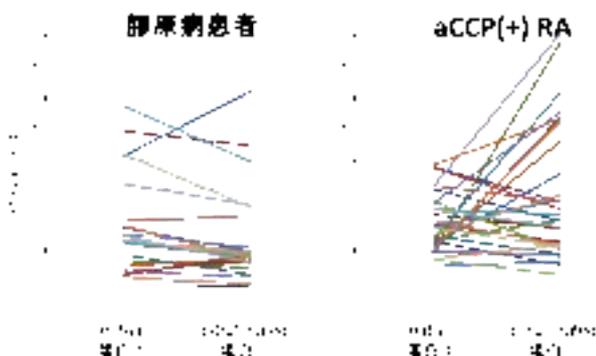
リン化した際に用いた酵素の PAD を電気泳動し、ニトロセルロース膜に転写したのち、抗 CCP 抗体陽性患者血清 2 検体、膠原病患者血清 1 検体 (CTD)、健常人血清 1 検体 (HC) と反応させ、Western Blot を行った。native 蛋白のバンドはないが、シトルリン化蛋白に対するバンドが強く認められる。抗 CCP 抗体 (+) RA 患者血清は PAD に対する抗体も弱く認められている。

表 1 2181 個のシトルリン化蛋白中、自己抗体が検出された蛋白数

検体 (血清)	陽性蛋白数
抗 CCP 抗体 (+) RA	186
抗 CCP 抗体 (-) RA	14
健常人	9

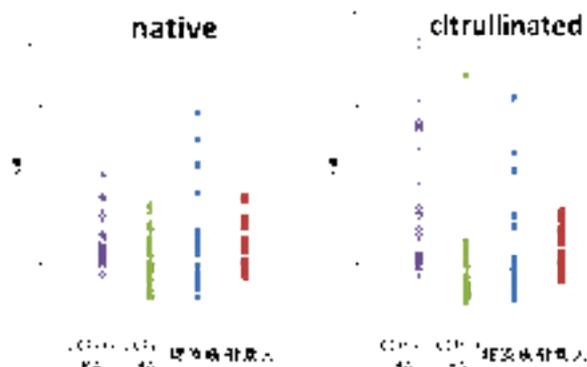
蛋白 に対する結果を図 2 と図 3 に示す。図 2 より膠原病患者の陽性例は主に native 蛋白に対する抗体で、RA 患者陽性例はシトルリン化蛋白に対する抗体であることがわかる。図 3 で抗 CCP 抗体 (-) RA 患者 30 例中 1 例に抗シトルリン化蛋白 抗体が認められたため、スクリーニングに用いた血清 3 例を加えると 33 例中 2 例で陽性ということになる。

図 2 native およびシトルリン化蛋白 に対する抗体価



膠原病患者 22 例、抗 CCP 抗体 (+) RA 患者 30 例の native 蛋白 とそのシトルリン化した蛋白 に対する抗体価を OD 値で示し、同じ患者血清を直線で結んだ。

図 3 各疾患、健常人での抗蛋白 抗体価



**抗 CCP 抗体(+)RA 患者 30 例、抗 CCP 抗体(-)RA 患者 30 例、他の膠原病患者 22 例、健常人 20 例の native 蛋白とそのシトルリン化した蛋白 に対する抗体価を OD 値で示す。**

同様に蛋白、蛋白 とそのシトルリン化した蛋白に対する自己抗体価を ELISA で確認した。シトルリン化蛋白に対する自己抗体は抗 CCP 抗体陰性 RA30 例中 1 例に認められたが、これは native 蛋白に対する抗体であった。シトルリン化蛋白 に対する抗体は 30 例の抗 CCP 抗体 (-)RA 患者血清中には認められなかった。

#### D. 考察

AlphaScreen 法を用いて、シトルリン化蛋白抗体が効率よくスクリーニング可能であることが示された。本方法の利点は翻訳後修飾を容易に行うことができ、それに対する自己抗体を容易に検出できることである。今後、カルバミル化蛋白抗体などの検出にも威力を発揮する可能性がある。

今回の検討で、新たなシトルリン化蛋白抗体を 186 個発見し、そのうち3個に対して Western blot と ELISA にて検証し、2 個が検証された。抗 CCP 抗体(-)RA 患者血清 31 例中 2 例にシトルリン化蛋白 に対する抗体が認められ、抗 CCP 抗体(-)RA 患者血清中にも、未知のシトルリン化蛋白抗体が存在することが示された。今後、残った 183 個の蛋白を検証することで、抗 CCP 抗体(-)RA の診断に役立つ自己抗体の組み合わせが見つかるものと期待する。

#### E. 結論

AlphaScreen 法が抗シトルリン化蛋白抗体のスクリーニングに優れていることが証明され、抗 CCP 抗体陰性 RA 患者血清中にも未知のシトルリン化蛋白抗体が存在することも示された。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Katayama M, Ohmura K, Yukawa N, Terao C, Hashimoto M, Yoshifuji H, Kawabata D, Fujii T, Iwakura Y, Mimori T. Neutrophils are essential as a source of IL-17 in the effector phase of arthritis. PLoS One. 2013, 8: e62231
- 2) Cui J, Stahl EA, Saevarsdottir S, Miceli C, Diogo D, Trynka G, Raj T, Mirkov MU, Canhao H, Ikari K, Terao C, Okada Y, Wedrén S, Askling J, Yamanaka H, Momohara S, Taniguchi A, Ohmura K, Matsuda F, Mimori T, Gupta N, Kuchroo M, Morgan AW, Isaacs JD, Wilson AG, Hyrich KL, Herenius M, Doorenspleet ME, Tak PP, Crusius JB, van der Horst-Bruinsma IE, Wolbink GJ, van Riel PL, van de Laar M, Guchelaar HJ, Shadick NA, Allaart CF, Huizinga TW, Toes RE, Kimberly RP, Bridges SL Jr, Criswell LA, Moreland LW, Fonseca JE, de Vries N, Stranger BE, De Jager PL, Raychaudhuri S, Weinblatt ME, Gregersen PK, Mariette X, Barton A, Padyukov L, Coenen MJ, Karlson EW, Plenge RM. Genome-Wide Association Study and Gene Expression Analysis Identifies CD84 as a Predictor of Response to Etanercept Therapy in Rheumatoid Arthritis. PLoS Genet. 2013, 9: e1003394
- 3) Terao C, Hashimoto M, Yamamoto K, Murakami K, Ohmura K, Nakashima R, Yamakawa N, Yoshifuji H, Yukawa N, Kawabata D, Usui T, Yoshitomi H, Furu M,

Yamada R, Matsuda F, Ito H, Fujii T, Mimori T. Three Groups in the 28 Joints for Rheumatoid Arthritis Synovitis - Analysis Using More than 17,000 Assessments in the KURAMA Database. PLoS One 2013, 8: e59341

- 4) Terao C, Ohmura K, Kawaguchi Y, Nishimoto T, Kawasaki A, Takehara K, Furukawa H, Kochi Y, Ota Y, Ikari K, Sato S, Tohma S, Yamada R, Yamamoto K, Kubo M, Yamanaka H, Kuwana M, Tsuchiya N, Matsuda F, Mimori T. PLD4 as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population. Arthritis Rheum. 2013, 65: 472-80
- 5) Terao C, Hashimoto M, Furu M, Nakabo S, Ohmura K, Nakashima R, Imura Y, Yukawa N, Yoshifuji H, Matsuda F, Ito H, Fujii T, Mimori T. Inverse association between air pressure and rheumatoid arthritis synovitis: an observational study. PLoS One 2014, 9: e85376

## 2. 学会発表

- 1) Hiwa R, Ohmura K, Mimori T, et al: Only rheumatoid factor-positive subset of anti-citrullinated peptide/protein antibody-negative rheumatoid arthritis seroconverts to anti-citrullinated peptide/protein antibody positive. American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting 2013, San Diego, Oct 29, 2013 (poster presentation).
- 2) Hiwa R, Ohmura K, Mimori T, et al: Clinical characteristics of rheumatoid factor-positive or -negative subsets of anti-citrullinated peptide/protein antibody-negative rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting 2013, San Diego, Oct 29, 2013 (poster presentation).
- 3) Hiwa R, Ohmura K, Mimori T, et al: Does anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibody-negative rheumatoid arthritis (RA) become anti-CCP positive

RA? 第 57 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2013 年 (京都) 国際ワークショップ (oral presentation)

## 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

厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)  
研究分担報告書

**関節リウマチの骨関節破壊進行関連因子の同定に関する研究**

研究分担者	山中 寿	東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 教授
研究協力者	猪狩 勝則	東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 准教授
	吉田 進二	東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 助教

**研究要旨**

関節リウマチにおける骨関節破壊進行関連因子の同定は、関節リウマチ治療における関節破壊ゼロを目指す治療指針の確立において重要な意義を持つ。近年、欧米で白人を対象として行われたマルチコホート研究によって骨関節破壊進行に関連する遺伝子がいくつか報告されたが、日本人においても同様な関連が認められるかどうかは証明されていない。我々は IORRA コホート内で DNA を収集し得た約 2000 名の内、発症 5 年時の両手正面 X 線写真を Sharp/van der Heijde スコア (SHS) によりスコアリングした 865 名のサブコホートを有している。このデータを用いて候補遺伝子解析を行うことで、日本人関節リウマチ患者における骨関節破壊進行との関連を検討したが、いずれの SNP においても有意な関連を認めなかったことが明らかになった。

**A. 研究目的**

関節リウマチの治療薬および治療戦略の著しい進歩により、進行性の骨関節破壊の阻止が可能となつてはきているが、現状では治療強化前に骨関節破壊が進行し、不可逆的な変形による高度な身体機能障害を呈する患者も存在する。近年、欧米で白人を対象として行われたマルチコホート研究により骨関節破壊進行に関連する遺伝子がいくつか同定された。本研究の目的は日本人においても同様の関連が認められるかどうかを追認解析することで証明することである。

**B. 研究方法**

本研究は東京女子医科大学で実施中の IORRA コホート研究の一貫として実施した。骨関節破壊の評価には SHS (Sharp/van der Heijde score) を用い、発症 5 年目の両手正面 X 線写真が得られた 865 名の関節リウマチ患者を対象とした。これまでに欧米で報告された 6 ヶ所の遺伝子座

(IL-15、GZMB、IL2RA、Dkk-1、Sost、MMP-9) より 11 個の一塩基多型 (SNP) を選択し、ゲノタイピングを施行した。遺伝統計学的解析では発症 5 年目の両手 SHS を対数化して従属変数とし、各 SNP におけるリスクアレルの個数を独立変数とした (相互作用が報告されていた Dkk-1 と Sost についてはリスクアレルの合計個数を独立変数とした)。更に我々のコホート研究で過去に骨関節破壊進行との関連が証明された発症年齢、性別、抗 CCP 抗体、発症年度を調節因子として加えて重回帰分析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究で想定されている研究内容に関しては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」など関連する指針などに基づいて妥当性を適切に判断している。また、東京女子医科大学遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会において承認を得た上で、インフォームドコンセ

ントのもとに書面による同意を得て実施している。

rs4792909 0.40  
(0.39)

### C. 研究結果

いずれの SNP においても有意な関連を認めなかった  
(表 1、2)。

rs10762715 Add 0.22 0.02 0.48  
(0.37)  
rs6503475 0.45  
(0.43)

(表 1) IL-15、GZMB、IL2RA、Dkk-1、MMP-9 における各 SNP の重回帰分析による解析結果

Gene	SNP	Tested model	MAF (CEU)		P
IL-15	rs6821171	Add	0.30	-0.02	0.49
		Rec	(0.21)	-0.03	0.37
	rs1521761	Add	0.15	-0.04	0.24
		Rec	(0.33)	0.02	0.63
GZMB	rs8192916	Add	0.45	-0.01	0.79
		Rec	(0.36)	-0.00	0.97
IL2RA	rs2104286	Add	0.10	0.03	0.35
		Rec	(0.25)	-0.00	0.99
Dkk-1	rs1896368	Add	0.42	0.04	0.26
		Rec	(0.51)	0.04	0.23
	rs1896367	Add	0.30	-0.06	0.07
		Rec	(0.37)	-0.04	0.20
	rs1528873	Add	0.22	-0.04	0.22
		Rec	(0.42)	-0.01	0.74
MMP-9	rs11908352	Add	0.18	-0.00	0.91
		Rec	(0.26)	0.01	0.79

(表 2) Dkk-1 と Sost の各 SNP の相互作用における重回帰分析による解析結果

Gene	SNP	Tested model	MAF (CEU)		P	
Dkk-1 & Sost	rs1528873	Add	0.22	-0.01	0.85	
			(0.42)			
	rs6503475		0.45			
			(0.43)			
rs10762715	Add	0.22	-0.02	0.55		
		(0.37)				

### D. 考察

関節リウマチにおいては多くの疾患感受性遺伝子が報告されているが、遺伝子の種類によっては人種差があることも証明されている。骨関節破壊に関連する遺伝子の報告は疾患感受性遺伝子と比べると少なく、未だに解明が十分ではない。今回、我々は白人で同定された遺伝子を候補とした解析を日本人で行ったが、いずれの遺伝子においても有意な関連を認めなかった。本研究の限界として発症 5 年目の両手正面 X 線写真におけるスコアを 5 年間の累積スコアとして代用しており、サンプル数も欧米で行われた研究と比較すると少ないため、検出力には限界があると考えられる。しかしながら遺伝子によっては作用方向も異なり、白人と日本人との間における遺伝的異質性の存在が示唆される。

### E. 結論

白人で同定された骨関節破壊進行に関連する遺伝子はいずれも日本人では関連を認めなかった。骨関節破壊関連遺伝子については白人と日本人とでは遺伝的異質性が存在する可能性が高い。

### F. 健康危険情報

特になし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K,

Suzuki A, Yoshida S, Graham RR, Manoharan A, Ortmann W, Bhargale T, Denny JC, Carroll RJ, Eyler AE, Greenberg JD, Kremer JM, Pappas DA, Jiang L, Yin J, Ye L, Su DF, Yang J, Xie G, Keystone E, Westra HJ, Esko T, Metspalu A, Zhou X, Gupta N, Mirel D, Stahl EA, Diogo D, Cui J, Liao K, Guo MH, Myouzen K, Kawaguchi T, Coenen MJ, van Riel PL, van de Laar MA, Guchelaar HJ, Huizinga TW, Dieudé P, Mariette X, Louis Bridges Jr S, Zhernakova A, Toes RE, Tak PP, Miceli-Richard C, Bang SY, Lee HS, Martin J, Gonzalez-Gay MA, Rodriguez-Rodriguez L, Rantapää-Dahlqvist S, Arlestig L, Choi HK, Kamatani Y, Galan P, Lathrop M, Eyre S, Bowes J, Barton A, de Vries N, Moreland LW, Criswell LA, Karlson EW, Taniguchi A, Yamada R, Kubo M, Liu JS, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Raychaudhuri S, Stranger BE, De Jager PL, Franke L, Visscher PM, Brown MA, Yamanaka H, Mimori T, Takahashi A, Xu H, Behrens TW, Siminovitch KA, Momohara S, Matsuda F, Yamamoto K, Plenge RM. Nature. 2013 Dec 25.

- 2) Lack of association between IL-15 genetic variants and progression of joint destruction in Japanese patients with rheumatoid arthritis. Yoshida S, Ikari K, Yano K, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. Ann Rheum Dis. 2013 Nov 22.
- 3) PADI4 and HLA-DRB1 are genetic risks for radiographic progression in RA patients, independent of ACPA status: results from the IORRA cohort study. Suzuki T, Ikari K, Yano K, Inoue E, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. PLoS One. 2013;8(4):e61045.

## 2. 学会発表

- 1) Lack of association between IL-15 genetic variants and progression of joint destruction in Japanese

rheumatoid arthritis patients. Yoshida S, Ikari K, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. The 14<sup>th</sup> Annual European Congress of Rheumatology, The European League Against Rheumatism 2013.

- 2) Genetic association on disease severity in rheumatoid arthritis: a validation study in Japanese patients. Yoshida S, Ikari K, Yano K, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. The 77<sup>th</sup> American College of Rheumatology/Associations of Rheumatology Health Professionals Annual Meeting 2013.

## 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。

厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)  
研究分担報告書

**関節リウマチの PADI4 を標的とする治療法の開発**

研究分担者 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 教授 山本 一彦

研究協力者 庄田 宏文 同 助教  
瀬理 裕 同 大学院生  
藤尾 圭志 同 講師  
鈴木 亜香里 理化学研究所 ゲノム医科学研究センター  
自己免疫疾患研究チーム 上級研究員

**研究要旨**

関節リウマチ(Rheumatoid arthritis:RA)は多因子疾患であり、その疾患感受性遺伝子として Peptidylarginine deiminase 4 (PADI4)が同定されているが、関節炎における意義は明らかとなっていない。今回 PADI4 の関節炎病態・骨破壊における役割を明らかとするため、PADI4 knockout (KO)マウスを作成した。Glucose-6-phosphate isomerase (GPI)免疫による関節炎モデルでは、PADI4 KO マウスにおいて関節炎の重症度の低下がみられた。更に、顆粒球系細胞、単球系細胞の減少、抗 GPI 抗体価の低下、Th17 細胞の減少を認め、PADI4 が免疫系細胞に対して多様な影響を有していることが判明した。特に、PADI4 は顆粒球系細胞、単球系細胞での発現が強い遺伝子であり、PADI4 KO マウスではこれらの細胞群のアポトーシスが亢進していることが明らかとなった。このことより、PADI4 は免疫系細胞のアポトーシスを制御するとともに、自然免疫・獲得免疫系に影響を与え、RA の病態に重要な役割を果たすことが明らかとなった、新たな創薬標的となりうると考えられた。

**A.研究目的**

RA は全身の関節に持続的な炎症をきたす疾患であり、炎症の持続により骨破壊、機能障害に至ることが知られている。RA は多因子疾患として知られているが、疾患感受性遺伝子として 2004 年に Peptidylarginine deiminase 4 (PADI4)が同定され、疾患感受性アレルでは mRNA 分解の低下が起こることにより PADI4 の発現亢進が起きることが分かっている。PADI4 は蛋白をシトルリン化する翻訳後修飾に関わる酵素であるが、シトルリン化抗原は RA の有力な自己抗原であり、また PADI4 発現は炎症関節局所で亢進していることから PADI4 が RA の病態に深く関与している可能性があると考えられている。一方で、PADI4 の生理学的機能研究では PADI4 はヒストンのシトルリン化などを介した転写調節により、細胞生存に関与

しているとの報告もある。PADI4 は免疫系においては好中球、単球やマクロファージに発現することが知られている。しかし、PADI4 の免疫系における機能については未知の部分が多く、PADI4 を標的とした治療法開発の為には PADI4 の関節炎における機能解析が必要である。

**B.研究方法**

PADI4 KO マウスを作成し、DBA/1J にバッククロスした。Glucose-6-phosphate isomerase (GPI)を CFA と免疫することで炎症性関節炎を誘導し、関節炎スコア、病理スコアを経時的に測定した。免疫前、day7、day14 における骨髄、脾臓、関節における免疫系細胞の数、表現型を FACS Vantage を用いて解析した。一部の細胞は cell sorting により回収し、RNeasy Micro kit(Qiagen)を用いて

mRNA を合成したうえで、逆転写酵素(super script III (Invitrogen)) により cDNA 合成を行い、SYBR Green(Qiagen)を用いて定量的 PCR を行った。免疫後経時的に回収した血清を用いて、ELISA 法により抗 GPI 抗体価、IL-6 濃度を測定した。また、脾臓 CD4 陽性 T 細胞を MACS により単離したうえで、GPI で再刺激し、Th1, Th17 細胞への分化を FACS で測定した。また免疫前のマウス脾臓より CD4 陽性 T 細胞を単離し、抗 CD3 抗体、抗 CD28 抗体、各種サイトカインによる Th1, Th17 condition で培養を行い、Th1, Th17 細胞への分化を FACS で測定した。

マウス骨髄細胞より Percoll を用いて単離した好中球を、TNF-a, LPS, GM-CSF, G-CSF をそれぞれ添加して培養し、24時間後の細胞死(Annexin V+PI)を FACS で解析した。

マウス実験を行うに当たり、所属機関の承認を受けた動物実験計画書に従い、実験動物に対する倫理的配慮を最大限に行ったうえで、実験を施行した。

### C. 研究結果

PADI4 KO マウスにおいて GPI 関節炎は有意に軽減された(平均スコア 10 vs 4:  $p < 0.05$ )。関節炎の発症については PADI4 KO マウスでやや遅れる傾向があったが最終的に有意差はみられなかった。病理学的検討では炎症細胞浸潤、骨破壊は PADI4 KO マウスで有意に軽度であった。PADI4 KO マウスにおいては、day14 における血清抗 GPI 抗体価(IgG, IgM)の減少、day7 以降の血清 IL-6 濃度の低下が観察された。また、GPI 関節炎では IL-6-IL-17 pathway の重要性が報告されているが(Iwanami K, et al. Arthritis Rheum, 2008)、PADI4 KO マウスでは day7 における脾臓 CD4 陽性 T 細胞の Th17 分化が抑制されていた。一方で、免疫前の細胞を in vitro で Th17 へ分化させた場合、WT, PADI4 KO CD4 陽性 T 細胞で Th17 分化の程度は不変であったため、PADI4 KO GPI 関節炎における Th17 細胞減少に関しては、T 細胞への extrinsic な影響が示唆された。

脾臓、所属リンパ節の総細胞数は GPI 免疫後に増加するが、PADI4 KO マウスでは有意に増加が低下していた。細胞別の解析では、CD3+T 細胞数、B 細胞数に差を認めなかったが、CD11b+Ly6G+の顆粒球系細胞、Ly6C+の単球系細胞の PADI4 KO マウスにおける有意な減少が認められた。骨髄における検討では、GPI 免疫前、免疫後でも WT, PADI4 KO で顆粒球系細胞、単球系細胞の細胞数に差を認めなかった。Day14 の炎症関節では、顆粒球系細胞の有意な減少を認めた。これらの細胞群のアポトーシス関連遺伝子の発現を定量的 PCR で検討したところ、PADI4 KO マウスにおいて Bcl-2, Bim, Bax, Bid などのアポトーシス関連遺伝子の発現が亢進していた。また骨髄好中球の in vitro におけるアポトーシスの検討では、いずれの条件においても PADI4 KO 好中球のアポトーシスが WT と比較して有意に亢進していた。

### D. 考察

従来、PADI4 は自己抗原のシトルリン化による抗原性の変化と、それに引き続いて起こるシトルリン化抗原自己免疫応答の誘導に関与することで RA の病態に重要であると考えられてきた。一方で、PADI4 には neutrophil extracellular traps (NET)の形成に関与する(Li P, et al. J Exp Med, 2010)、骨髄幹細胞の分化に影響する(Nakashima K, et al. Nat Communication. 2013)といった免疫系へ影響を与えることが推定される生理的な作用があることが相次いで報告されている。

PADI4 KO マウスにおける関節炎モデル研究により、PADI4 が顆粒球系細胞・単球系細胞の生存、Th17 細胞の分化、抗体産生といった自然免疫・獲得免疫の幅広いシステムを制御していることが判明した。今回使用した GPI 関節炎モデルは IL-6-IL-17 pathway の重要性が証明されているモデルであり、PADI4 KO マウスの関節炎軽症化の機序としては in vivo における Th17 細胞分化の減少が関与している可能性がある。また GPI 関節炎における IL-6 の産生細胞としては CD11b 陽性細胞と報告されており、今回我々が細胞数の減少を証明した顆粒球系

細胞・単球系細胞が IL-6 産生を担っている可能性を考慮している。

以上のような PADI4 KO マウスでの知見より、PADI4 阻害薬は RA 治療薬となりうると考えられる。実際、腫瘍研究において PADI4 阻害作用のある小分子化合物の報告がなされつつあり、ヒトにおける副作用を見極めたうえで RA 治療への応用も期待される。

## E. 結論

PADI4 KO マウスを作成し、GPI 関節炎モデルを用いて、PADI4 の炎症性関節炎における機能解析を行った。PADI4 欠損により自然免疫系・獲得免疫系に幅広い影響が観察され、関節炎が軽症化された。PADI4 阻害療法は RA 治療の新たな戦略となることが示唆された。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yoshida S, Graham RR, Manoharan A, Ortmann W, Bhangale T, Denny JC, Carroll RJ, Eyler AE, Greenberg JD, Kremer JM, Pappas DA, Jiang L, Yin J, Ye L, Su DF, Yang J, Xie G, Keystone E, Westra HJ, Esko T, Metspalu A, Zhou X, Gupta N, Mirel D, Stahl EA, Diogo D, Cui J, Liao K, Guo MH, Myouzen K, Kawaguchi T, Coenen MJ, van Riel PL, van de Laar MA, Guchelaar HJ, Huizinga TW, Dieudé P, Mariette X, Louis Bridges Jr S, Zhernakova A, Toes RE, Tak PP, Miceli-Richard C, Bang SY, Lee HS, Martin J, Gonzalez-Gay MA, Rodriguez-Rodriguez L, Rantapää-Dahlqvist S, Arlestig L, Choi HK, Kamatani Y, Galan P, Lathrop M; the RACI consortium; the GARNET consortium, Eyre S, Bowes J, Barton A, de

Vries N, Moreland LW, Criswell LA, Karlson EW, Taniguchi A, Yamada R, Kubo M, Liu JS, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Raychaudhuri S, Stranger BE, De Jager PL, Franke L, Visscher PM, Brown MA, Yamanaka H, Mimori T, Takahashi A, Xu H, Behrens TW, Siminovitch KA, Momohara S, Matsuda F, Yamamoto K, Plenge RM. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. Nature. 2013. [Epub ahead of print]

### 2. 学会発表

瀬理 祐, 山本 一彦ら. 関節リウマチの疾患感受性遺伝子である PADI4 の関節炎モデルマウスを用いた機能解析. 第 41 回日本臨床免疫学会総会(平成 25 年 11 月 27 日、下関)

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

## 研究成果の刊行に関する一覧表(平成 25 年度)

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kubo S, Yamaoka K, Kondo M, Yamagata K, Zhao J, Iwata S, <u>Tanaka Y.</u>	The JAK inhibitor tofacitinib reduces the T cell stimulatory capacity of human monocyte-derived dendritic cells.	Ann Rheum Dis	in press		
<u>Tanaka Y</u> , Hirata S, Kubo S, Fukuyo S, Hanami K, Sawamukai N, Nakano K, Nakayamada S, Yamaoka K, Sawamura F, Saito K.	Discontinuation of adalimumab after achieving remission in patients with established rheumatoid arthritis: 1-year outcome of the HONOR study.	Ann Rheum Dis	in press		
<u>Tanaka Y.</u>	Next stage of RA treatment: TNF-inhibitor-free remission will be a possible treatment goal ?	Ann Rheum Dis	72	ii124-ii127	2013
<u>Tanaka Y</u> , Maeshima Y, Yamaoaka K.	In vitro and in vivo analysis of a Jak inhibitor in rheumatoid arthritis.	Ann Rheum Dis	71	i70-i74	2012
Iwata S, Yamaoka K, Niuro H, Nakano K, Wang S-P, Akashi K, <u>Tanaka Y.</u>	Amplification of toll-like receptor-mediated signaling through Syk in human B cell activation.	J Allergy Clin Immunol	129	1594-1601	2012
Koike T.	IgG4-related disease: why high IgG4 and fibrosis.	Arthritis Res Ther	15(1)	103	2013
Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Miyasaka N, Mukai M, Matsubara T, Uchida S, Akama H, Hartmut K, Vipin A, and <u>Tanaka Y.</u>	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	in press		

Katayama M, Ohmura K, Yukawa N, Terao C, Hashimoto M, Yoshifuji H, Kawabata D, Fujii T, Iwakura Y, Mimori T	Neutrophils are essential as a source of IL-17 in the effector phase of arthritis.	PLoS One	8(5)	e62231	2013
Terao C, Hashimoto M, Yamamoto K, Murakami K, Ohmura K, Nakashima R, Yamakawa N, Yoshifuji H, Yukawa N, Kawabata D, Usui T, Yoshitomi H, Furu M, Yamada R, Matsuda F, Ito H, Fujii T, Mimori T	Three Groups in the 28 Joints for Rheumatoid Arthritis Synovitis - Analysis Using More than 17,000 Assessments in the KURAMA Database.	PLoS One	8(3)	e59341	2013
Sumitomo S, Fujio K, Okamura T, Morita K, Ishigaki K, Suzukawa K, Kanaya K, Kondo K, Yamasoba T, Furukawa A, Kitahara N, Shoda H, Shibuya M, Okamoto A, Yamamoto K.	Transcription factor early growth response 3 is associated with the TGF-1 expression and the regulatory activity of CD4-positive T cells in vivo.	J Immunol	191(5)	2351-9	2013
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	43(4)	1063-73	2013
Kawashiri SY, Arima K, Suzuki T, Nakashima Y, Horai Y, Okada A, Tamai M, Nakamura H, <u>Kawakami A.</u>	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	in press		
Kawashiri SY, Fujikawa K, Nishino A, Suzuki T, Okada A, Nakamura H, <u>Kawakami A.</u>	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

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, <u>Kawakami A</u> .	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
Satomura K, Torigoshi T, Koga T, Maeda Y, Izumi Y, Jiuchi Y, Miyashita T, Yamasaki S, <u>Kawakami A</u> , Aiba Y, Nakamura M, Komori A, Sato J, Ishibashi H, Motokawa S, Migita K.	Serum amyloid A (SAA) induces pentraxin 3 (PTX3) production in rheumatoid synoviocytes.	Mod Rheumatol	23(1)	28-35	2013
玉井慎美, <u>川上 純</u> .	MRI 画像の特徴と早期診断・治療評価.	Mebio	30(2)	16-20	2013
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, <u>Koike T</u> .	Ultrasound assessment of synovial pathologic features in rheumatoid arthritis using comprehensive multi-plane images of the 2nd metacarpophalangeal joint - Identification of the components which are reliable and influential on the global assessment of the whole joint.	Arthritis Rheum	in press		
Takamura A, Hirata S, Nagasawa H, Kameda H, Seto Y, Atsumi T, Dohi M, <u>Koike T</u> , 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
<u>上阪 等</u>	関節リウマチ制圧に向けた新しい抗リウマチ薬の発見	お茶の水医学雑誌	61	385-393	2013

<p>Gazal S, Sacre K, Allanore Y, Teruel M, Goodall AH, Tohma S, Alfredsson L, Okada Y, Xie G, Constantin A, Balsa A, Kawasaki A, Nicaise P, Amos C, Rodriguez-Rodriguez L, Chiocchia G, Boileau C, Zhang J, Vittecoq O, Barnetche T, Gonzalez-Gay MA, Furukawa H, Cantagrel A, Le Loet X, Sumida T, Hurtado-Nedelec M, Richez C, Chollet-Martin S, Schaefferbeke T, Combe B, Khoryati L, Coustet B, El-Benna J, Siminovitch K, Plenge R, Padyukov L, Martin J, Tsuchiya N, Dieud P.</p>	<p>Validation of EULAR primary Sjogren's Syndrome disease activity and patient indexes.</p>	<p>Ann Rheum Dis</p>	<p>in press</p>		
<p>Yoon J, Sudo K, Han J, Chae M, Park S, Weinstein M, Nakae S, Yamashita T, Lee , <u>Sumida T</u>, Kuroda M, Mamura M.</p>	<p>Smad2 is the TGF-receptor-regulated Smad to suppress the immunogenicity of mouse and human dendritic cells.</p>	<p>Eur J Immunol</p>	<p>in press</p>		
<p>Yoon JH, Jung SM, Park SH, Kato M, Yamashita T, Lee IK, Sudo K, Nakae S, Han JS, Kim OH, Oh BC, <u>Sumida T</u>, Kuroda M, Ju JH, Jung KC, Park SH, Kim DK, Mamura M.</p>	<p>Activin receptor-like kinase5 inhibition suppresses mouse melanoma by ubiquitin degradation of Smad4, thereby derepressing eomesodermin in cytotoxic T lymphocytes.</p>	<p>EMBO Mol Med</p>	<p>5</p>	<p>1720-39</p>	<p>2013</p>
<p>Umeda N, Matsumoto I, Ito I, Kawasaki A, Tanaka Y, Inoue A, Tanaka Y, Tsuboi H, Suzuki T, Hayashi T, Ito S, Tsuchiya N, <u>Sumida T</u>.</p>	<p>Anti-citrullinated glucose-6-phosphate isomerase peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis are associated with HLA-DRB1 shared epitope alleles and disease activity.</p>	<p>Clin Exp Immunol</p>	<p>172</p>	<p>44-53</p>	<p>2013</p>
<p>Suzuki T, Horikoshi M, Sugihara M, Hirota T, Ogishima H, Umeda N, Kondo Y, Tsuboi H, Hayashi T, Chino Y, Matsumoto I, <u>Sumida T</u>.</p>	<p>Therapeutic efficacy of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor inhibitors: One year follow-up by low-field extremity MRI.</p>	<p>Mod Rheumatol</p>	<p>23</p>	<p>782-7</p>	<p>2013</p>

Nishimoto N, Koichi Amano, <u>Tsutomu Takeuchi</u> , Nobuhiro Takagi, et al.	Retreatment efficacy and safety of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis in recurrence (RESTORE) study.	Mod Rheumatol	24	26-32	2014
Kaneko Y, Kondo H and <u>Takeuchi T.</u>	ACR/EULAR remission criteria maintains strict performance when evaluated in 44 joints.	J Rheumatology	40	1254-8	2013
Nishina N, Kaneko Y, Kameda H, Kuwana M, and <u>Takeuchi T.</u>	Reduction of plasma IL-6, but not TNF- $\alpha$ by methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis: a potential biomarker for radiographic progression.	Clinical Rheumatol	32	1661-7	2013
<u>Takeuchi T.</u> , Tanaka Y, Yamanaka H,T, Baker D, and the GO-MONO study group. Et al.	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	72	1488-95	2013
Nishina N, Kikuchi J, Hashizume M, Yoshimoto K, Kameda H, and <u>Takeuchi T.</u>	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	in press		
Nakashima R, Imura Y, Hosono Y, Seto M, Murakami A, Watanabe K, Handa T, Mishima M, Hirakata M, Takeuchi T, Fujio K, Yamamoto K, Kohsaka H, Takasaki Y, Enomoto N, Suda T, Chida K, Hisata S, Nukiwa T, <u>Mimori T.</u>	The Multicenter Study of a New Assay for Simultaneous Detection of Multiple Anti-Aminoacyl-tRNA Synthetases in Myositis and Interstitial Pneumonia	PLoS One	9	e85062	2014

<p>Cui J, Stahl EA, Saevarsdottir S, Miceli C, Diogo D, Trynka G, Raj T, Mirkov MU, Canhao H, Ikari K, Terao C, Okada Y, Wedrén S, Askling J, Yamanaka H, Momohara S, Taniguchi A, Ohmura K, Matsuda F, <u>Mimori T</u>, Gupta N, Kuchroo M, Morgan AW, Isaacs JD, Wilson AG, Hyrich KL, Herenius M, Doorenspleet ME, Tak PP, Crusius JB, van der Horst-Bruinsma IE, Wolbink GJ, van Riel PL, van de Laar M, Guchelaar HJ, Shadick NA, Allaart CF, Huizinga TW, Toes RE, Kimberly RP, Bridges SL Jr, Criswell LA, Moreland LW, Fonseca JE, de Vries N, Stranger BE, De Jager PL, Raychaudhuri S, Weinblatt ME, Gregersen PK, Mariette X, Barton A, Padyukov L, Coenen MJ, Karlson EW, Plenge RM.</p>	<p>Genome-Wide Association Study and Gene Expression Analysis Identifies CD84 as a Predictor of Response to Etanercept Therapy in Rheumatoid Arthritis.</p>	<p>PLoS Genet</p>	<p>9</p>	<p>e1003394</p>	<p>2013</p>
<p>Terao C, Ohmura K, Kawaguchi Y, Nishimoto T, Kawasaki A, Takehara K, Furukawa H, Kochi Y, Ota Y, Ikari K, Sato S, Tohma S, Yamada R, Yamamoto K, Kubo M, Yamanaka H, Kuwana M, Tsuchiya N, Matsuda F, <u>Mimori T</u>.</p>	<p>PLD4 as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population.</p>	<p>Arthritis Rheum</p>	<p>65</p>	<p>472-80</p>	<p>2013</p>
<p>Tsuboi H, Hagiwara S, Asashima H, Umehara H, Kawakami A, Nakamura H, Sano H, Tsubota K, Ogawa Y, Takamura E, Saito I, Inoue H, Nakamura S, Moriyama M, Takeuchi T, Tanaka Y, Hirata S, <u>Mimori T</u>, Matsumoto I, Sumida T.</p>	<p>Validation of different sets of criteria for the diagnosis of Sjögren's syndrome in Japanese patients.</p>	<p>Mod Rheumatol</p>	<p>23</p>	<p>219-25</p>	<p>2013</p>
<p>Terao C, Hashimoto M, Yamamoto K, Murakami K, Ohmura K, Nakashima R, Yamakawa N, Yoshifuji H, Yukawa N, Kawabata D, Usui T, Yoshitomi H, Furu M, Yamada R, Matsuda F, Ito H, Fujii T, <u>Mimori T</u>.</p>	<p>Three Groups in the 28 Joints for Rheumatoid Arthritis Synovitis - Analysis Using More than 17,000 Assessments in the KURAMA Database.</p>	<p>PLoS One</p>	<p>8</p>	<p>e59341</p>	<p>2013</p>

Yoshida S, Ikari K, Yano K, Toyama Y, Taniguchi A, <u>Yamanaka H</u> , Momohara S.	Lack of association between IL-15 genetic variants and progression of joint destruction in Japanese patients with rheumatoid arthritis.	Ann Rheum	in press		
Suzuki T, Ikari K, Yano K, Inoue E, Toyama Y, Taniguchi A, <u>Yamanaka H</u> , Momohara S.	PADI4 and HLA-DRB1 are genetic risks for radiographic progression in RA patients, independent of ACPA status: results from the IORRA cohort study.	Plos One	in press		
Seto Y, Inoue E, Shidara K, Hoshi D, Sugimoto N, Sato E, Tanaka E, Nakajima A, Taniguchi A, Momohara S, <u>Yamanaka H</u> .	Functional disability can deteriorate despite suppression of disease activity in patients with rheumatoid arthritis: a large observational cohort study.	Mod Rheumatol	23	1179-85	2013
<u>Yamanaka H</u> , Seto Y, Tanaka E, Furuya T, Nakajima A, Ikari K, Taniguchi A, Momohara S.	Management of rheumatoid arthritis: the 2012 perspective	Mod Rheumatol	23	1-7	2013
Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yoshida S, Graham RR, Manoharan A, Ortmann W, Bhangale T, Denny JC, Carroll RJ, Eyster AE, Greenberg JD, Kremer JM, Pappas DA, Jiang L, Yin J, Ye L, Su DF, Yang J, Xie G, Keystone E, Westra HJ, Esko T, Metspalu A, Zhou X, Gupta N, Mirel D, Stahl EA, Diogo D, Cui J, Liao K, Guo MH, Myouzen K, Kawaguchi T, Coenen MJ, van Riel PL, van de Laar MA, Guchelaar HJ, Huizinga TW, Dieudé P, Mariette X, Louis Bridges Jr S, Zhernakova A, Toes RE, Tak PP, Miceli-Richard C, Bang SY, Lee HS, Martin J, Gonzalez-Gay MA, Rodriguez-Rodriguez L, Rantapää-Dahlqvist S, Arlestig L, Choi HK, Kamatani Y, Galan P,	Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery.	Nature	506	376-381	2013

<p>Lathrop M; the RACI consortium; the GARNET consortium, Eyre S, Bowes J, Barton A, de Vries N, Moreland LW, Criswell LA, Karlson EW, Taniguchi A, Yamada R, Kubo M, Liu JS, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Raychaudhuri S, Stranger BE, De Jager PL, Franke L, Visscher PM, Brown MA, <u>Yamanaka H</u>, Mimori T, Takahashi A, Xu H, Behrens TW, Siminovitch KA, Momohara S, Matsuda F, <u>Yamamoto K</u>, Plenge RM.</p>					
<p>Iwasaki Y, Fujio K, Okamura T, Yanai A, Sumitomo S, Shoda H, Tamura T, Yoshida H, Charnay P, <u>Yamamoto K</u>.</p>	<p>Egr-2 transcription factor is required for Blimp-1-mediated IL-10 production in IL-27-stimulated CD4+ T cells.</p>	<p>Eur J Immunol</p>	<p>43</p>	<p>1063-73</p>	<p>2013</p>

## 研究成果の刊行に関する一覧表(平成 25 年度)

### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
		書籍名	出版地	ページ
三森経世	ステロイド	郡義明	文光堂	2013
		基本薬の選び方と使い方 のコツ	東京	267-277
三森経世	筋炎における自己 抗体	鈴木則宏	中外医学社	2014
		神経	東京	245-252

厚生労働省科学研究 難治性疾患等克服研究事業  
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 (免疫アレルギー分野))

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

司会 田中良哉

研究班概要発表(10:00~11:45、12:35~13:20)

1. 関節リウマチの関節破壊「ゼロ」を目指す治療法確立に関する研究

研究代表者 田中 良哉 産業医科大学医学部第一内科学講座 教授

10:00~10:15

2. ROR $\gamma$ t 過剰発現による自己免疫性関節炎の制御機構に関する研究

研究分担者 住田 孝之 筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学 教授

(発表者)近藤 裕也

10:15~10:30

3. 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

(発表者)深江 淳

10:30~10:45

4. 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

10:45~11:00

5. 抗シトルリン化ペプチド抗体陰性関節リウマチ患者における新規自己抗体に関する研究

研究分担者 三森 経世 京都大学大学院医学研究科 臨床免疫学 教授

(発表者)大村 浩一郎

11:00~11:15

6. 関節リウマチ(RA)の PADI4 を標的とする治療法の開発

研究分担者 山本 一彦 東京大学大学院医学系研究科内科学専攻アレルギー・リウマチ学 教授

(発表者)庄田 宏文

11:15~11:30

7.間葉系幹細胞を用いた関節破壊の機序の解明、再生・修復に関する研究

研究代表者 田中 良哉 産業医科大学医学部第一内科学講座 教授

11 : 30 ~ 11 : 45

Lunch Time(11 : 45 ~ 12 : 35)

8. 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

研究分担者 川上 純 長崎大学大学院医歯薬学研究科リウマチ免疫制御学 教授

12 : 35 ~ 12 : 50

9. 候補遺伝子解析による関節リウマチの骨関節破壊進行関連因子の同定に関する研究

研究分担者 山中 寿 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 教授

(発表者)吉田 進二

12 : 50 ~ 13 : 05

10.SAKURA 早期関節炎コホートにおける高感度サイトカインアッセイ系による検討

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

13 : 05 ~ 13 : 20

終わりの挨拶(13 : 20 ~ )