

学位論文の内容の要旨

学位論文題目 関節リウマチにおける血清バイオマーカー
に関する研究

論文指導教員 江 川 祥 子

学位申請者 樋 浦 一 哉

関節リウマチ(RA, rheumatoid arthritis)は進行性の多発性関節炎を主徴とする全身性自己免疫疾患である。病変の主座は関節滑膜にあり、滑膜の増殖・炎症から次第に周辺の軟骨・骨を侵食し、関節破壊に至る。

従来、RA患者の関節破壊は発症後10年以上かけて緩やかに進行すると考えられていたため、疼痛や炎症を抑えるなどの消極的治療が行われてきた。しかし、関節破壊は発症後2年間で最も進行しやすく、治療開始が早いほど寛解率も向上する。このため、早期診断、早期の適切な治療が重要である。RAの確定診断は、米国リウマチ学会(ACR)による1987年改定分類基準に基づいて行われてきたが、このような背景をもとに早期診断の実現に向け、2009年にACRとヨーロッパリウマチ学会(EULAR)が共同でACR/EULAR分類基準を作成した。これは、4群12項目の一覧表から該当する項目のスコアを合計し、6点以上をRAと診断する簡便な分類となっている。しかし、ACR/EULAR分類基準を用いても、他の膠原病や変形性関節症(OA, osteoarthritis)、脊椎関節症などといったRA以外の疾患を除外できない症例があり、RA専門医以外が早期に他の疾患の可能性を除外し、早期治療を開始することは難しいのが現状である。

現在、RAに対しては、早期からメトトレキサートを中心とした抗リウマチ薬や生物学的製剤を積極的に用いる治療が推奨されている。生物学的製剤の導入は、かつては不治の病といわれたRAの治療目標を臨床症状改

善から寛解導入、関節破壊進行制御さらには生命予後改善へとパラダイムシフトさせた。しかし、生物学的製剤は効果が期待できる半面で、非常に高価であるため患者の経済的負担が大きい。RA を早期に診断し、適切な時期に適切な治療を開始することは、患者の QOL を改善するとともに医療経済的視点からも重要である。

本研究は、RA 診断ならびに治療上の問題点の解決に寄与することを目的として行なった。RA 診断に関しては、簡便な血清バイオマーカーの評価と早期診断への利用を検討した。治療に関しては、TNF- α (tumor necrosis factor- α) 受容体製剤であるエタネルセプト(ETN)の投与回数の違いによる治療効果の差異、ならびに ETN 投与による血清 TNF- α を中心とした血清成分の変動について、TNF- α 抗体製剤であるインフリキシマブ(IFX)投与の場合と比較し解析した。

本研究は、帯広厚生病院倫理委員会の承認を得て行い、患者からは書面による同意を得た。

1. 関節リウマチ患者におけるリウマチ因子と他の血清マーカー

リウマチ因子(RF)は、ACR 分類基準(1987)、ACR/EULAR 分類基準(2009)で用いられており、客観的に RA を評価できる血清マーカーとして現在でも中心的な存在である。RA 患者の約 60~80%が陽性を示すが、RA だけではなく、他の疾患や一部の健常人でも陽性になることがあり、RA に対しての特異度が十分ではない。そこで、ACR 分類に従い RA と診断された 68 例を対象とし、RF 陽性・陰性に分け江川等により測定法が開発された抗カルパスタチン抗体(ACA)を含め、RA 診断の指標候補にあげられている抗シトルリン化ペプチド抗体(抗 CCP 抗体)、抗ガラクトース欠損 IgG 抗体(CA・RF)、マトリックスメタロプロテアーゼ-3(MMP-3)の有用性を検討した。

RF 陽性群では抗 CCP 抗体、CA・RF、ACA の陽性率が MMP-3 より高く、一方、RF 陰性群では抗 CCP 抗体、MMP-3、ACA の陽性率が CA・RF より高かった(Table.1)。このことから、RA 分類基準に挙げられている RF に抗 CCP 抗体、または ACA などの自己抗体測定を組み合わせることが診断に有用であると推

察された。後に発表され、現在、最も新しい ACR/EULAR 分類基準の血清学的因子の項目では、RFと抗 CCP 抗体を組み合わせでの評価に変更となっている。

Table.1 RF 陽性群、陰性群における各種血清マーカーの陽性率

		抗CCP抗体(+)	MMP-3(+)	CA・RF(+)	ACA(+)
RF 陽性群 n=31	n	30	23	31	30
	%	97%	74%	100%	97%
RF 陰性群 n=37	n	27	30	22	32
	%	73%	81%	59%	86%

2. 診断未確定関節炎における関節リウマチ早期診断

抗 CCP 抗体は早期 RA において感度・特異度が高いことが知られている。しかし、初診時に抗 CCP 抗体陰性であっても、後に RA と確定診断される場合がある。そこで、抗 CCP 抗体陰性 RA と他の関節疾患との鑑別診断に有用な血清マーカーの検討を行った。関節痛を主訴とし、症状の発症後 6 ヶ月以内に来院した患者 99 例の初診時血清を用い、抗 CCP 抗体、RF、C-反応性タンパク質(hsCRP:高感度 CRP)、MMP-3 を測定し、1年以内に確定診断された RA に対する感度、特異度、陽性予測度、陰性予測度、正確度を求めた。

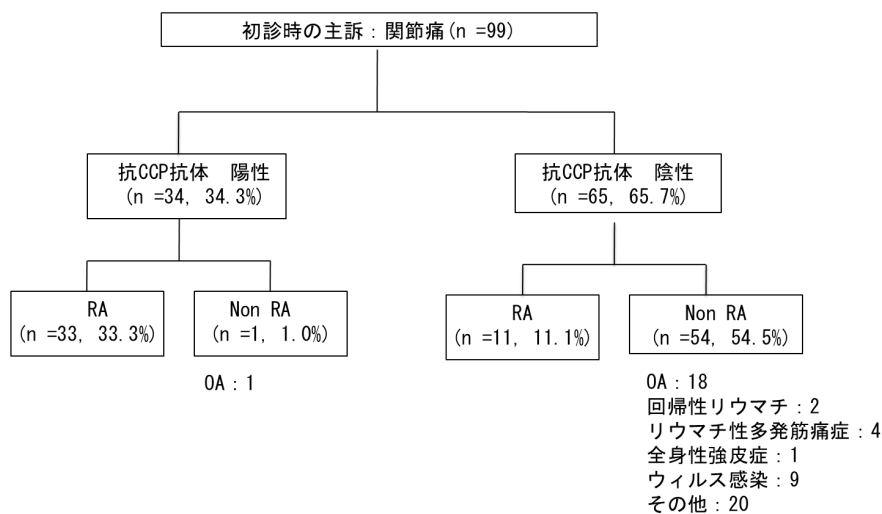


Fig.1 診断未確定患者の内訳

99 例中 RA 確定診断に至った症例は 44 例であった。初診時に抗 CCP 抗体陽性は 34 例であり、このうち 33 例が RA、1 例が OA と診断された(Fig.1)。RA44 例の抗 CCP 抗体に対する感度は 75.0%、特異度 98.2%、陽性予測値 97.1%であり、他のマーカーと比較しいずれも高かった(Table.2)。一方、抗体陰性 65 例中 22 例が初診時に RA を疑われたが、RA と確定診断されたのは 11 例であった(Fig.1)。抗体陰性 RA 患者において、単独の血清マーカーでは十分な正確度が得られなかった(Table.3)。そこで血清マーカーの組み合わせによる検討を行ったところ、hsCRP と MMP-3 がともに陽性である 7 例 (63.6%) が RA 確定診断と一致し、特異度 85.2%、正確度 81.5%となった(Table.3)。

Table.2 RA 患者の血清マーカーの比較

(n=99, RA=44)

	感度(%)	特異度(%)	陽性予測率(%)	陰性予測率(%)	正確度(%)
抗CCP抗体	75.0	98.2	97.1	16.9	87.9
RF	68.2	83.6	76.9	23.3	76.8
hsCRP	84.1	56.4	60.7	18.4	68.7
MMP-3	43.2	80.0	63.3	36.2	63.6

Table.3 抗 CCP 抗体陰性 RA 患者の血清マーカーの比較

(n=65, RA=11)

	感度(%)	特異度(%)	陽性予測率(%)	陰性予測率(%)	正確度(%)
RF	27.3	85.3	27.3	14.8	75.4
hsCRP	81.8	57.4	28.1	6.1	61.5
MMP-3	63.6	81.5	41.2	8.3	78.5
RF + hCRP	18.2	94.4	40.0	15.0	81.5
RF + MMP-3	18.2	98.1	66.7	14.5	84.6
hsCRP + MMP-3	63.6	85.2	46.7	8.0	81.5

関節痛を主訴として来院した患者が抗 CCP 抗体陽性であれば早期 RA と診断し、また陰性であっても早期 RA の疑いがあり、hsCRP と MMP-3 がともに陽性であれば、今後 RA と確定診断される可能性が高いと考えられ、専門医による画像診断も含めた精査の対象になると思われる。

3. エタネルセプトの用法・用量の妥当性の検討

完全ヒト型可溶性 TNF レセプター製剤である ETN は 2005 年に発売され、関節破壊抑制と臨床症状改善において優れた臨床効果が認められている。発売当初、ETN の用法・用量は海外での臨床試験に倣い、25mg 週 2 回投与が推奨された。しかし週 2 回投与では特に低体重者に対しては過量となる可能性が指摘され、一部の医療機関で週 1 回投与が試みられていた。そこで RA の疾患活動性を評価する DAS28-CRP と各種バイオマーカーを指標として用い、25mgETN 週 1 回投与(11 例)と週 2 回投与(11 例)の有用性を比較検討した。

両群とも投与 3 ヶ月後に、腫脹関節数、疼痛関節数、CRP、DAS28-CRP の有意な改善がみられた(Fig.2)。△DAS28-CRP は両群に有意な差はなく、週 1 回投与、週 2 回投与ともに同程度の活動性低下を示した(Fig.3)。

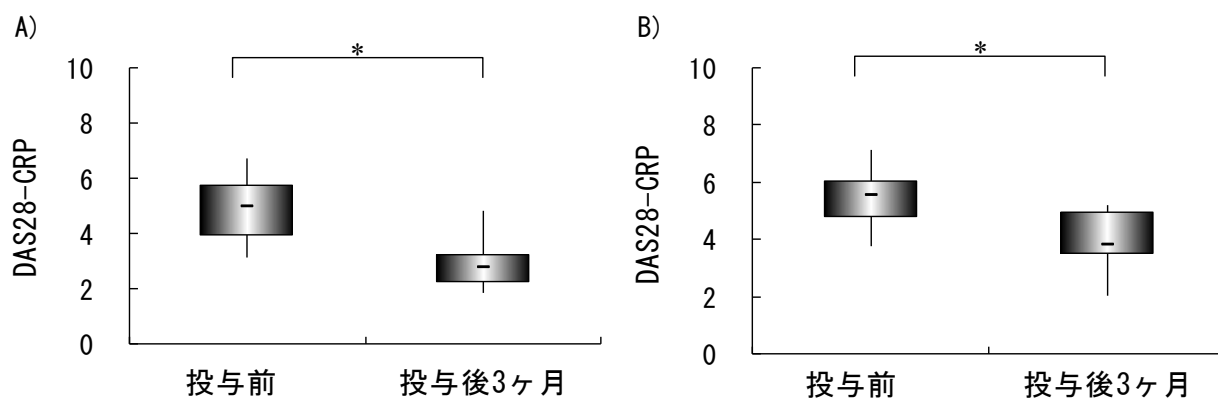


Fig.2 ETN 投与前、投与後 3 ヶ月の DAS28-CRP の変化

A) 25mg 週 1 回投与 B) 25mg 週 2 回投与 *: $p < 0.05$

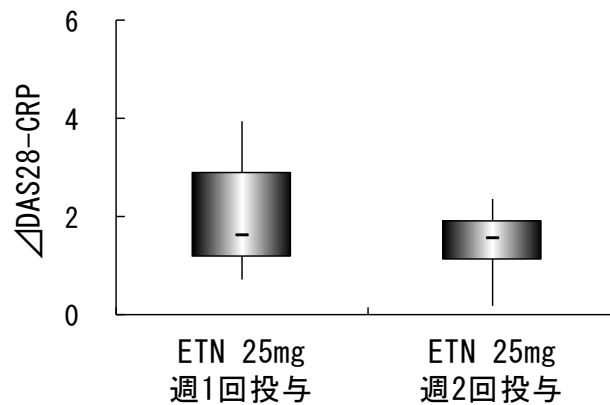


Fig.3 投与後 3 ヶ月間の DAS28-CRP の変化量

以上の結果より、ETN の用法・用量において 25mg 週 1 回投与と週 2 回投与では治療効果に有意な差が認められず、患者の経済的負担の軽減の観点からも週 1 回の投与が推奨されると考えた。その後、国内実臨床における多くの 25mg 週 1 回投与の有効性、安全性の報告を受け、本投与法の検証目的で国内第Ⅲ相試験が行われた。その結果、2010 年 10 月から 25 mg 週 1 回投与を承認する内容に添付文書が改訂され、申請者等の報告した研究論文もその一助となったと考える。

4. エタネルセプト投与による血清 TNF- α 値の変動

ETN または抗 TNF- α 抗体製剤である IFX を投与した場合の RA 患者の治療効果について、血中 TNF- α 濃度に着目して解析した。ETN 投与 18 例と IFX 投与 12 例を対象とした。ETN 投与患者からは投与前、投与開始後 1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月経過時に、また IFX 投与患者からは投与前、投与開始後 2 週間、6 週間、14 週間、22 週間経過時にそれぞれ血液を採取し、各種臨床マーカーを測定した。血清 TNF- α 値は ELISA 法により定量した。

ETN または IFX 投与患者の DAS28-CRP は投与前と比較し、ともに投与開始後 1 ヶ月辺りから有意な改善がみられた (Fig. 4)。しかし予想に反し、ETN 投与患者では血清 TNF- α 値は同時期から著しく上昇していた (Fig. 5)。一方、IFX 投与患者では上昇はごくわずかであった。

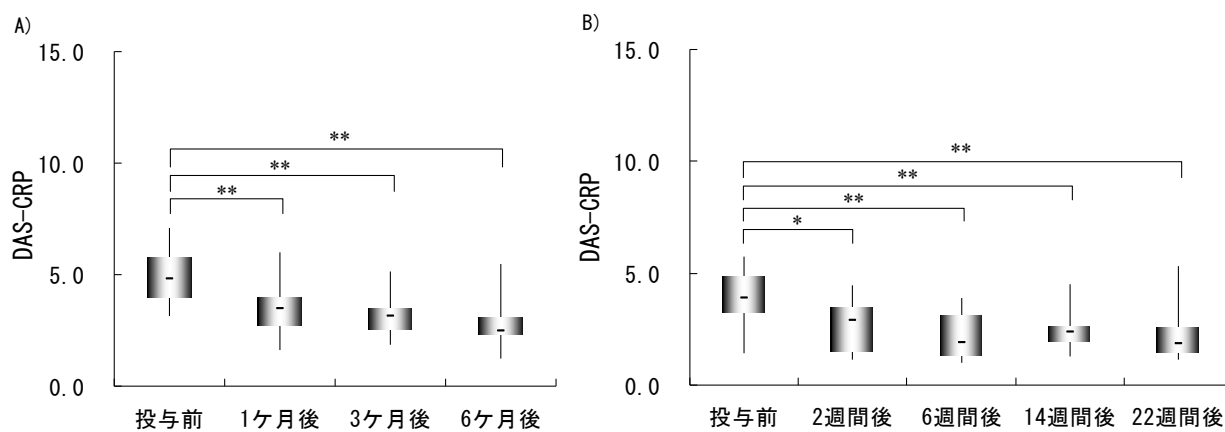


Fig. 4 DAS28-CRP の推移

A) ETN B) IFX *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$

投稿予定図のため削除

Fig. 5 血清 TNF- α 値の推移

A) ETN B) IFX *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$

この現象の理由を明らかにするために、TNF- α が発現誘導を行う細胞接着因子 ICAM-1 の発現を指標として、ETN 投与 RA 患者血清中の TNF- α の生理活性について調べた。細胞はヒト大動脈内皮細胞 (HAEC) を用いた。その結果、リコンビナント TNF- α では HAEC の ICAM-1 のタンパク質発現が促進されたのに対し、同濃度の TNF- α を含む ETN 患者血清では促進しなかった (Fig. 6)。

投稿予定図のため削除

Fig. 6 ICAM-1 の発現に及ぼす ETN 投与患者血清の影響

ETN は偽受容体として可溶性 TNF- α と結合するためアップレギュレーション機構が働き、その結果 TNF- α 産生が亢進するが、その活性は ETN により阻害されており、そのため治療効果がでていないと考えられた。

まとめ

RA 治療において早期診断は適切な治療介入のために不可欠である。本研究では抗 CCP 抗体あるいは hsCRP と MMP-3 が共に陽性であれば、今後 RA と確定診断される可能性が高く、専門医による精査の対象になると考えられることを示した。また生物学的製剤である ETN は週 1 回投与、週 2 回投与ともに同程度の治療効果を示すことを確認するとともに、ETN 投与により TNF- α 産生はアップレギュレーションされるが、活性は ETN によりブロックされているため治療効果が現れることを示唆した。RA 診断、治療において簡便かつ客観的な評価が可能な血清バイオマーカーの探索は有用であると考えた。