

**CONFERENCE
ON
RHEUMATIC
DISEASES**

愛媛リウマチ研究会抄録集

平成 29 年 9 月 16 日(土)

ひめぎんホール

CONFERENCE ON THE RHEUMATIC DISEASES

愛媛リウマチ研究会抄録集

～ 目次 ～

◆ 関節リウマチの胃粘膜障害発症における薬剤的予防因子の検討

道後温泉病院 リウマチセンター

辻本 早希 先生

◆ 生物学的製剤使用中の感染症への対応

松山赤十字病院 リウマチ膠原病センター

佐川 文彬 先生

◆ 抗IL-17A抗体が有効であったシェーグレン症候群合併乾癬性関節炎の一例

愛媛大学大学院医学系研究科 血液・免疫・感染症内科学 松本 卓也 先生

『マイクロRNAによるリウマチの病態解明と治療法の開発』

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

システム発生・再生医学分野

教授 浅原 弘嗣 先生

関節リウマチの胃粘膜障害発症における薬剤的予防因子の検討

1 医療法人千寿会 道後温泉病院

2 広島大学病院 リウマチ・膠原病科

○辻本早希¹ 的場謙一郎¹ 奥田恭章¹ 茂久田翔² 今井 開¹ 堤聡¹

澤田直哉¹ 村田洋介¹ 山田明弘¹ 城山一男¹ 大西誠¹ 高杉潔¹

【目的】関節リウマチ(RA)は、疼痛コントロールに非ステロイド系抗炎症薬(NSAIDs)を必要とする患者が多い。NSAIDs 常用例における上部消化管(GI) 粘膜障害の発生率は高く、過去の報告例は 10~30%とされている。粘膜障害発症抑制には NSAIDs 及び消化器疾患治療薬の選択が重要とされており、今回我々は当院 RA 患者においての GI 粘膜障害の頻度、薬剤選択との関連およびその予防効果について検討した。

【方法】2008 年から 2015 年に当院における上部消化管内視鏡(GIF)検査を施行した RA 患者 1704 例を対象とした。GIF での胃粘膜障害の程度を LANZA スコアを用いて分類し、薬剤との関連について検討した。

【結果】GI 粘膜障害の有病率は全体の 16.7%であった。解析により 1.高齢、2.ステロイド内服あり、3.PPI 内服なし、4.NSAIDs 内服ありの 4 因子が GI 粘膜障害の有意な危険因子として挙げられた。また、NSAIDs の COX2 選択性と GI 粘膜障害の関連性については、COX2 選択性(+)群が COX2 選択性(-)群より有意に GI 粘膜障害が軽度であった。

【結語】RA 患者において NSAIDs 投与時は PPI の併用を行うとともに COX2 選択性を考慮することが推奨される。

生物学的製剤使用中の感染症への対応

松山赤十字病院 リウマチ膠原病センター

佐川 文彬

【背景】トシリズマブ(TCZ)投与により肝臓での凝固因子の産生が抑制されることが知られている。今回我々は関節リウマチ(RA)に対するTCZ使用中に人工関節感染・皮下膿瘍を生じ、出血合併症や術後の創傷治癒遅延を認めた1例を経験したので報告する。

【症例】

68歳、女性、RA罹病期間45年、20年前に左膝人工関節置換術を施行されていた。現在プレドニゾン7mg、TCZ点滴で加療を受けていた。左膝関節と右下腿～足の発赤・腫脹・疼痛が出現し、当科を受診した。左膝関節穿刺で *Streptococcus intermedius*、右下腿および足背皮下膿瘍からは *Candida albicans* が検出された。左膝人工関節感染症・右下腿皮下膿瘍と診断し、緊急入院、手術を施行した。手術は関節切開下に滑膜切除術を施行する予定であったが、術中創部出血がコントロールできずショックに至りドレナージするのみに留まった。抗菌薬・抗真菌薬の全身投与、膿瘍腔に対して適宜穿刺ドレナージを継続することで全身状態は良好に推移したが、左膝創部が離開し人工関節が露出した。凝固 XIII 因子低下に対して補充療法を行い、またフィブリンノーゲン低値が回復した TCZ 最終投与から7週目で創閉鎖術を施行した。以後、感染局所および全身状態は良好に推移し退院した。

【考察】

ステロイド剤、生物学的製剤の使用による易感染性のため人工関節感染・皮下膿瘍を生じた。また血小板減少や抗血栓薬の使用歴が無いにも関わらず出血合併症を起こし、さらに術後創傷治癒遅延を生じた原因として、長期のステロイド剤服用による動脈硬化・血管脆弱性に加え TCZ 投与による凝固因子等の産生抑制が影響したものと考えた。

抗 IL-17A 抗体が有効であったシェーグレン症候群合併乾癬性関節炎の一例

愛媛大学大学院医学系研究科 血液・免疫・感染症内科学 特任講師

松本 卓也 先生

症例は 61 歳女性。既往に特発性血小板減少性紫斑病、シェーグレン症候群があり、近医にてプレドニゾン 10mg/day 内服を受けていた。2014 年に尋常性乾癬の診断を受け、近くの皮膚科で外用治療を受けていたが、2015 年 3 月頃より右第 2PIP 関節の腫脹と圧痛、屈曲制限が出現し、整形外科受診し側副靭帯、屈筋腱の炎症が指摘された。乾癬性関節炎が疑われたが、以前の血球減少の既往があり、2015 年 9 月に当院当科を紹介され受診した。右第 2PIP 関節の他、両手指多関節に滑膜炎を認め、乾癬性関節炎と診断しサラゾスルファピリジン開始したが、改善乏しく TNF α 製剤(アダリムマブ)投与を開始した。関節症状は速やかに改善し、皮膚症状も改善を認めた。しかし、投与開始 1 年後より、関節痛の再燃と乾癬の皮膚症状の増悪に加えて、顔面、四肢に環状紅斑様皮疹が出現した。皮膚生検結果から、尋常性乾癬の増悪とシェーグレン症候群の環状紅斑様所見と診断され、アダリムマブによる皮膚症状の増悪も否定しきれずアダリムマブ中止し、皮膚科共診のもと抗 IL-17A 抗体(セクキヌマブ)投与を開始した。セクキヌマブ開始後より間もなくして、乾癬の皮膚症状含めて皮膚所見は著明に改善した。関節症状も消退し、現在も投与継続しているが再燃を認めていない。TNF α 阻害剤使用にて、皮膚症状の増悪を認めたシェーグレン症候群合併の乾癬性関節炎の症例に抗 IL-17A 抗体使用にて、皮膚症状、関節症状の改善を認めた一例を経験した。若干の文献的考察を加えて報告する。

「マイクロ RNA によるリウマチの病態解明と治療法の開発」

東京医科歯科大学 医歯学総合研究科・医学部 システム発生・再生医学分野
教授 浅原弘嗣 先生

自己免疫疾患では、攻撃する側の免疫反応と、攻撃される側の自己組織それぞれにおける分子メカニズムを探り、双方から疾患の診断、治療の開発を進めていくことが重要となる。例えば、関節リウマチにおいては、滑膜炎を鈍とするなら、その炎症の攻撃から自らをまもる軟骨は楯ともいうことができよう。軟骨のホメオスタシスを高めることで滑膜炎による破壊を食い止め、再生を促すこと、すなわち強力な盾を用意してやるのが、疾患治療の一つの方向性であろう。しかし、ポストゲノム研究をもってしても、未だ滑膜炎を惹起し継続させる病態の本質が何であるかは解明されておらず、新しい切り口での疾患研究が求められている。

マイクロ RNA の研究は、分子生物学の最後のフロンティアの一つともいえる。miRNA はそのシークエン스에 相補的な mRNA に、Ago 複合体をリクルートし、ターゲットとなる mRNA の安定性、あるいはタンパク合成を阻害することで、ターゲット遺伝子のタンパク生成を抑制する機能を発揮する。

我々は、関節炎の病態における炎症機構とそれによる組織障害・破壊のそれぞれにおい miRNA の解析を行い、炎症を収束制御する miR-146 と、軟骨組織のホメオスタシスを高め、炎症に抵抗性をあたえる miR-140 の機能を報告してきた。関節リウマチでの新しい診断マーカーとしての可能性や、miRNA をターゲットにした炎症治療の開発も期待されている。

そこで、ここでは、関節炎をモデルに、攻撃する側の免疫・慢性炎症反応と、攻撃される側の関節軟骨組織の双方からマイクロ RNA の研究の現況を概説し、今後の疾患の早期診断、治療の開発に進める方向性を考えたい。

愛媛リウマチ研究会2017

IT'S **NOT** A SMALL WORLD

マイクロRNAによるリウマチの病態説明と治療法の開発

東京医科歯科大学 医学部 システム発生・再生医学分野
浅原 弘嗣 (Hiroshi Asahara, MD, PhD)

今までの大学

あの遺伝子を取り寄せなくては！
お金も時間ももったいないなあ。

全部の遺伝子を使って研究してみたいなあ。

新しい遺伝子を見つけたのだけど、知られている遺伝子と比べてみたいなあ。

遺伝子図書館ができれば

学内に全ての遺伝子がそろいます

研究者は必要な遺伝子をいつでも使うことができます。全ての遺伝子でさえ！

研究背景

腱・靭帯組織

骨と筋肉、骨と骨を繋ぐ
最強のメカノ組織

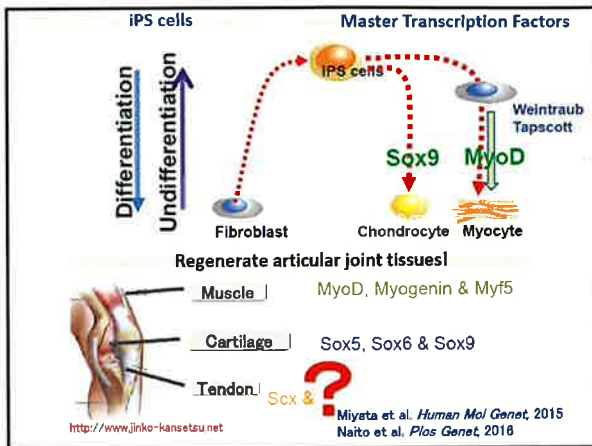
損傷の再生が困難
人工の腱・靭帯の作製は困難

→ **バイオ靭帯の作製の競争が世界で行われている**

(米 NIH: “**腱・靭帯**” 研究の必要性を提言)

全身:

- 関節リウマチ
- 腰板断裂/肩関節周囲炎
- テニス肘
- アキレス腱炎/断裂
- 骨ケルハン病
- 前十字靭帯損傷
- 足関節靭帯損傷



腕のマスター転写因子Mkxを世界に先駆け同定

世界最大級のデータベース作成 *Mkx*遺伝子の腕特異的発現!

WISH for mice embryos at 3stages PNAS

Construction of WISH database "EMERYYS" Ito et al. *PNAS* 2010

Annotation of gene expression patterns ヒト関節症韧带ではMKXが減少

Yokoyama, et. al. *Dev Cell* 2009 正常 変形性関節症

Nakahara et al. *Arthritis Rheum.* 2013

Bigger Is Better!?

腕・韧带の実験では、サイズの問題から、マウスでなくラットが用いられることが多い


	mouse (<i>Mus musculus</i>)	rat (<i>Rattus norvegicus</i>)
♂	16~40g	200~400g
♀	22~15g	300~700g
ht	7cm	20~25cm
lh	2.6Cbp	2.75Cbp
Gene targeting	popular	difficult

哺乳類の遺伝プログラムを書き換える

エバンス博士 ES細胞の樹立
 カペッキ、スミーズ両博士 マウスのES細胞を使って
 標的の遺伝子を相同組換えにより改変することに成功し、
 改変遺伝子を持ったノックアウトマウスを作成

⇒ 遺伝子を書き換えることで、その遺伝子が正常な状態でどのよ
 うな機能をもっているか、どれほど大切かについて情報が得られる。
 1989年 最初のノックアウトマウスの作成
 2007年 ノーベル生理学・医学賞

RajewskyラボのESの立ち上げ
 は、俺がした！ By 住田先生

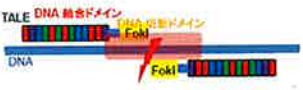


聖マリアンナ医科大学
 難病治療研究センター
 1995


Science Breakthrough of the year 2013 ゲノム編集技術のアドバンテージ

CRISPR/TALENによる遺伝子改変動物作成

TALEN system




CRISPR/Cas9 system




TALEN・CRISPRを用いたノックアウトマウスの作成

TALEN or CRISPRを受精卵へ
マイクロインジェクション



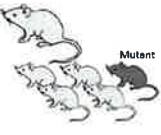
Zygote

偽妊娠マウスの
子宮へ戻す




Pseudopregnant female

迅速にKOマウスの作製が可能
高効率なgerm line transmission



Mutant



2004年～2012年
 ラボ内ですべての過程を行って作成したKOマウス
 15遺伝子

2012年7月より (2年間)
 医科歯科大学 成育医療研究センター

CRISPR 10遺伝子 CRISPR 34遺伝子
 TALEN 6遺伝子 TALEN 23遺伝子

Mkxノックアウトラットのアキレス腱の発達異常
腱形成不全 **歩行障害**

アキレス腱の異常骨化 **アキレス腱CT画像**
 Safranin O-fast green PNAS

Rat Mouse
 野生型 Mkkx^{-/-} Mkkx^{-/-}

3-week Suzuki et al, PNAS 2016

ノックアウトラットでこそその研究成果!

転写因子はリウマチにおいて、どんな旋律を奏でているのか!?
＝クロマチン免疫沈降で解き明かすことができる

Takaraプロトコール

従来の固定化と溶解 抗体免疫沈降 抗体免疫沈降後、DNAを抽出

固定を解いて、DNAを抽出 PCR増幅 ChIP-Seq

さあ、分子生物学実験の最高峰、クロマチン免疫沈降をやってみよう!
コスモバイオプロトコール


準備するもの **プロトコール**

.....

トラブルシューティング

.....

アメリカのフラッグシップ ロボット




YASKAWA
7軸目に
肘関節を加えた！！



省スペース
過激姿勢保持
回り込みなどの姿勢が可能

6軸(6つの関節)ロボット

現在主流の
垂直多関節形
産業用ロボット




日本企業のロボット(安川電機)

研究の再現性、透明性を担保する試み

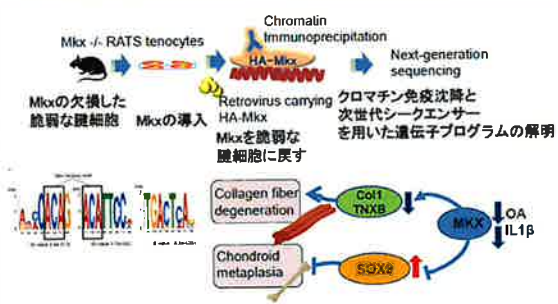
双腕ロボットLabDroidまほろ(AIST夏目博士&Robot Biology Institute)で
我々がプログラムした
クロマチン免疫沈降システム

過度な研究労働やリスクを軽減
再生医療の産業化に有用

Yachie, Natsume & Robot Consortium. Nat Biotech 2017



Mkxが臆細胞を作り、守る遺伝子ネットワークが明らかに！



Chromatin Immunoprecipitation
Next-generation sequencing

クロマチン免疫沈降と次世代シーケンサーを用いた遺伝子プログラムの解明

Suzuki et al. PNAS 2016
Kouda et al. Development 2017

Mlxを腫・靭帯の再生医療に使えるか！？

Mlx overexpression in C3H10T1/2

Transferase units/μg

Transferase units/μg

Otabe et al., *JOR* 2015
 その年最もダウンロードされ表彰

Nakamichi et al.
Nat Commun. 2016

Mlx promotes disc regeneration *in vivo*

With Dr. Sakai @ Tokai Univ. &
 Dr. Masuda @ UCSD

Nakamichi et al.
Nat Commun. 2016

あり方委員会 外科系シンポジウム
 (明日土曜午前)
 中道さん

腫・靭帯組織を試験管内で創る

細胞外マトリックス組織をコマーシャルベースで利用できる
 iPS由来細胞を除去して使うため、医療応用が早い
 身体のあるゆる部分にロープのように利用できる

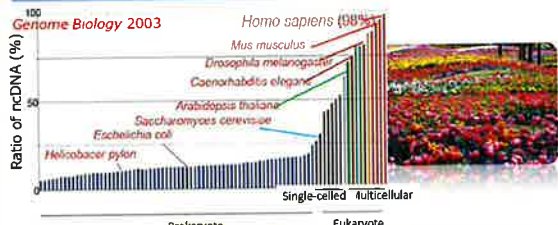
東京オリンピック
 に向けてGO!

進化と遺伝子の謎




ゲノム全体の大きさは変わっても、遺伝子の数はあまり変わらない！？

新しいタイプの遺伝子は広大な遺伝子砂漠の中に存在？



The transcriptional landscape of the mammalian genome.
Genome Network Project
Science. 2005

Landscape of transcription in human cells
ENCODE project
Nature. 2012

マウスゲノムの約70%がRNAに転写されている。

It's **NOT** a small world. microRNA, siRNA etc.

1993 線虫において発生時間軸を制御する翻訳阻害性の siRNA (small temporal RNA) の発見 (Leem et al. Cell)

⇒ 当時、線虫(*C. elegans*)に特有の現象と考えられた

1998 RNAi (RNA interference) の発見 (Fire, et al. Nature)

⇒ ファイアーとメローは2006年ノーベル生理学・医学賞

1999 siRNA (small interfering RNA) の発見 (Hamilton, et al. Science)

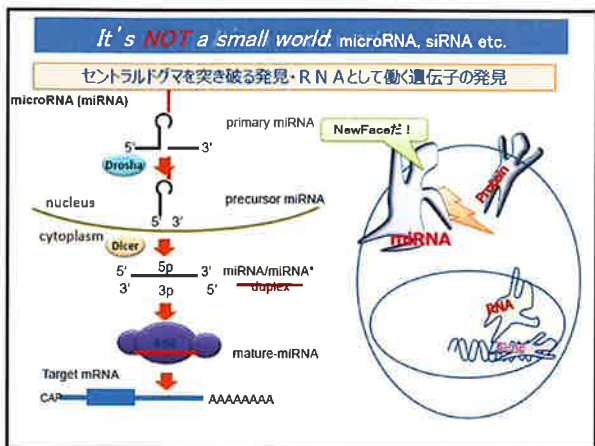
⇒ Dicerから切り出される21塩基対の二本鎖RNA

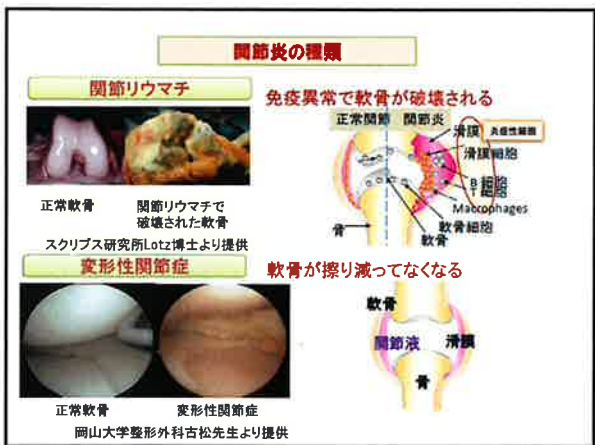
2001 miRNA (micro RNA) の発見 (Lagos-Quintana, et al, Lau, et al, Lee et al, Science)

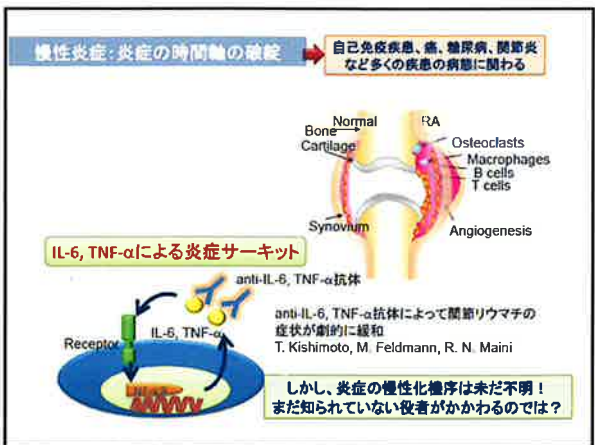
⇒ miRNAは、複数のmRNA配列に部分相補的に結合する

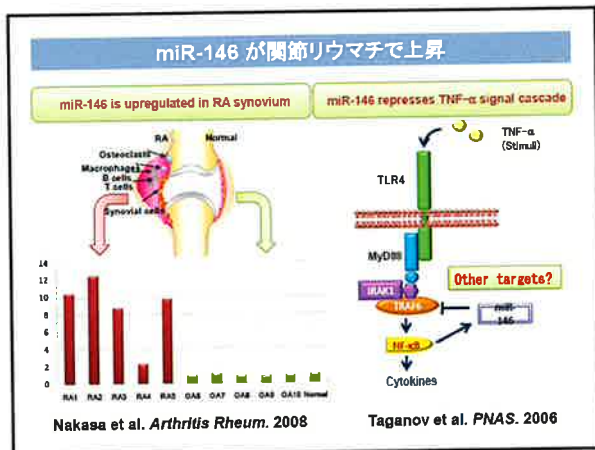


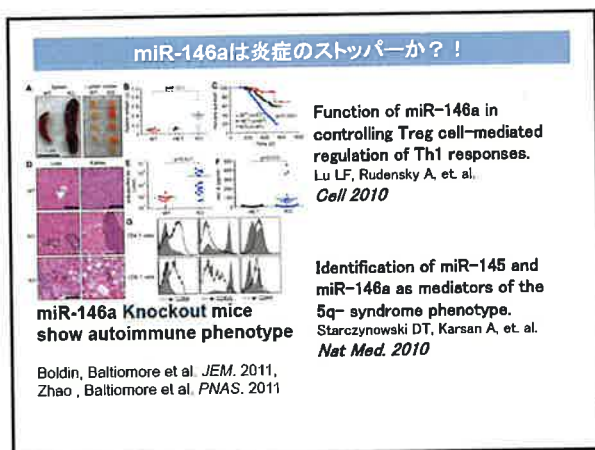
Dr. Ambros

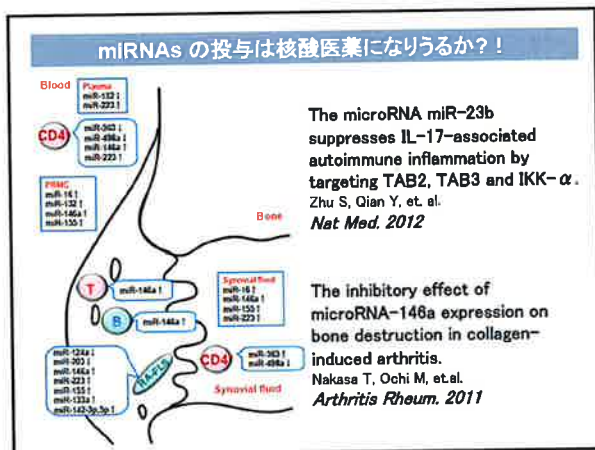


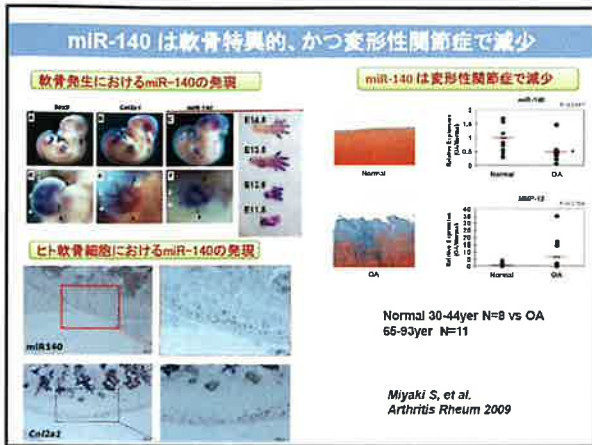


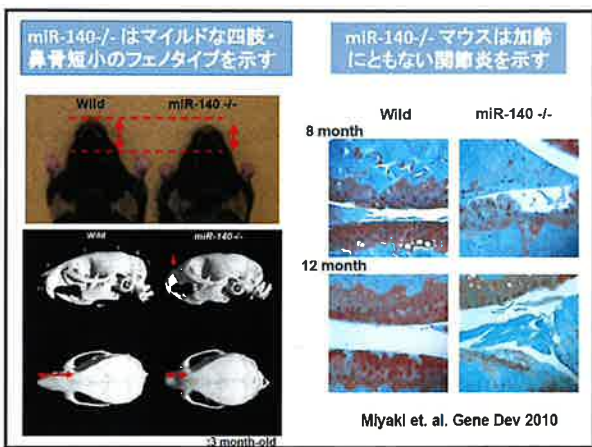


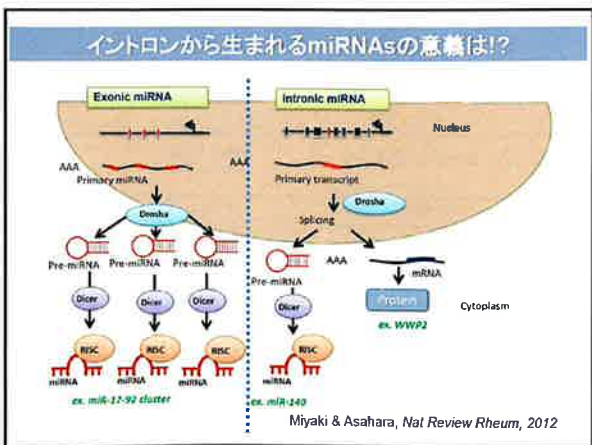


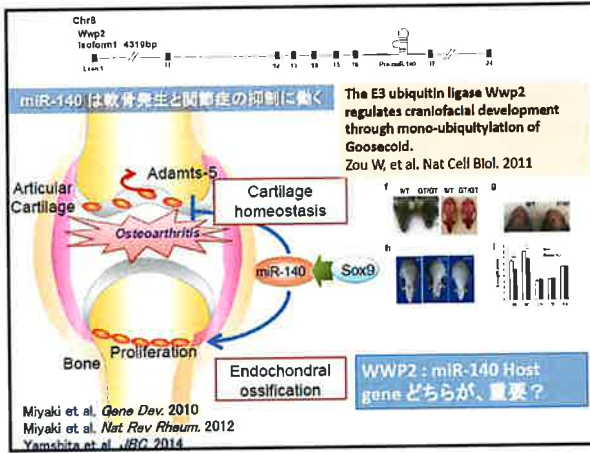


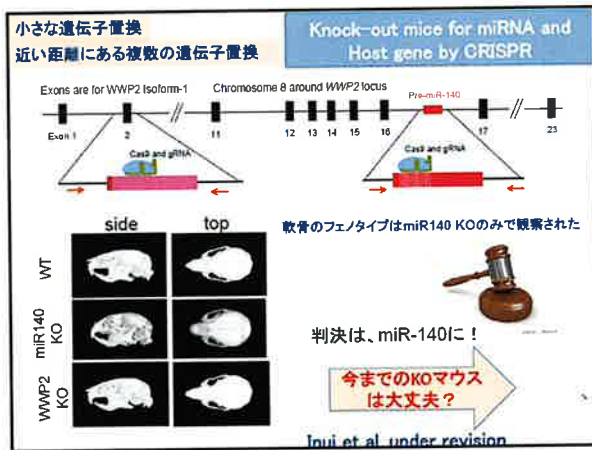


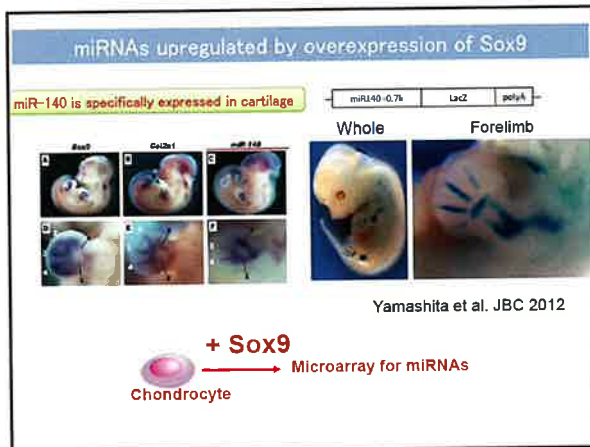


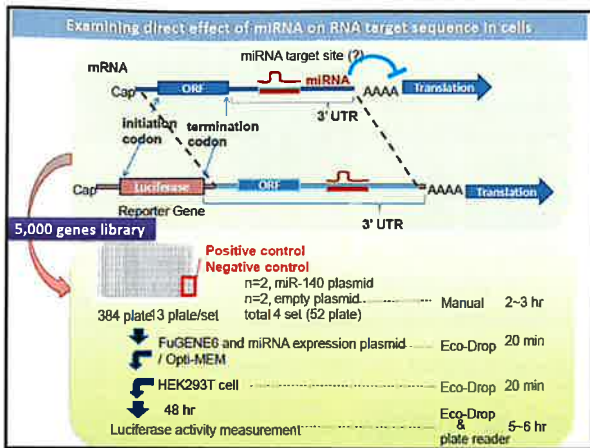


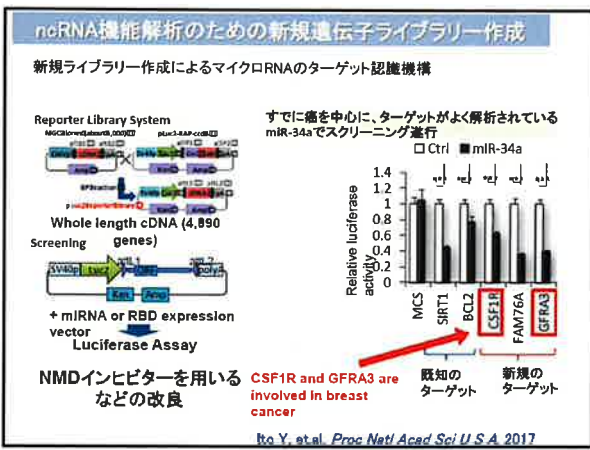


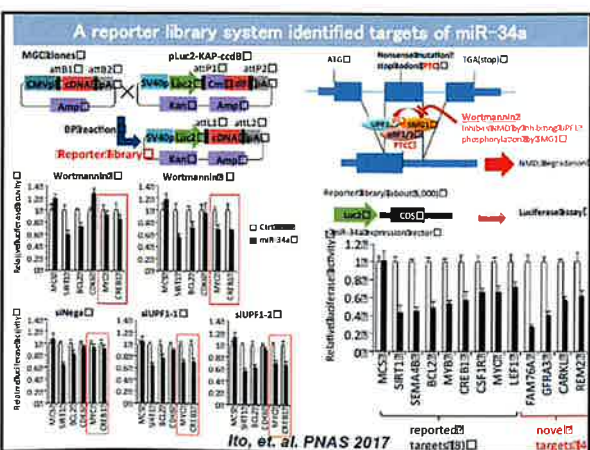


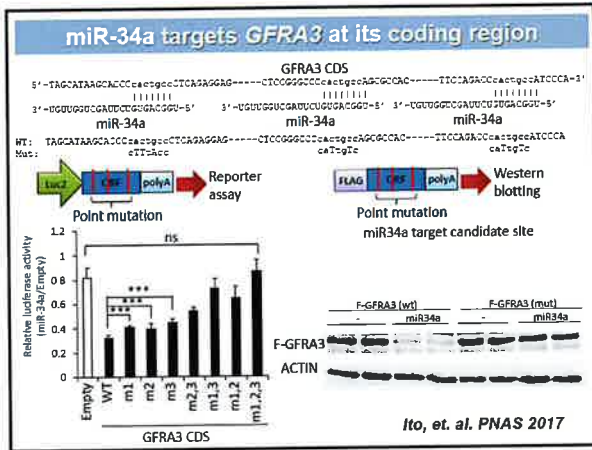


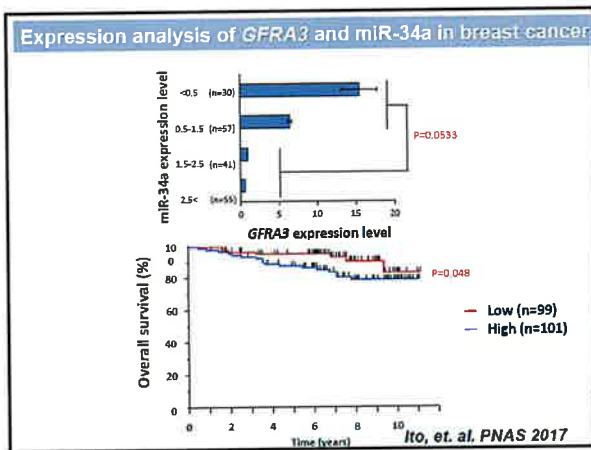












がらくたとおもわれていた遺伝子の中に、
関節を守る遺伝子が見つかった！！

miR-140 は軟骨発生と関節症の抑制に働く miRNAを用いた治療

今までの治療は、一対一

軟骨の強化！
 軟骨の発達
 頭を撞でるくらいでも複数から褒められたら。。。

Miyaki et al. *Gene Dev.* 2010
 Miyaki et al. *Nat Rev Rheum.* 2012
 Yamahita et al. *JBC.* 2014

ご清聴ありがとうございました

スタッフ
伊藤 義典
松島 隆英
千葉 所幸
田中 隆子
國原 正浩
栗本 蓮太

大学院生
三ツ村 隆弘
望月 祐輔
山本 寛人
片岡 穂輔
矢野 雄輝
宮崎 貴行
鈴木 光司

今までにお願いいただきました医師
東京医科歯科大学
(整形外科・内科・産科・小児科・産婦人科・矯正科)
日本医科大学整形外科
順徳医科大学整形外科
鹿児島大学整形外科
千葉大学整形外科
慶応大学整形外科
広島大学整形外科
名古屋大学整形外科
近畿大学整形外科
岡山大学 整形外科・歯学部



医学・工学の融合
医学と工学を繋ぐバイオロジー

骨太な研究をしたい！
次世代の研究者の育成




卒業研究生・大学院生の方、参加をお待ちしております！





愛媛リウマチ研究会

世話人：

安達 永二郎（道後温泉病院）

今井 淳子（一番町リウマチクリニック）

奥田 恭章（道後温泉病院）

佐田 榮司（愛媛県立医療技術大学）

曾根 康夫（新居浜協立病院）

田窪 伸夫（田窪リウマチ・整形外科）

仲田 三平（鬼北町立北宇和病院）

中野 直子（愛媛大学医学部附属病院 小児科）

水木 伸一（松山赤十字病院リウマチ膠原病センター）

長谷川 均（愛媛大学医学部附属病院 第一内科）

渡部 昌平（JCHO 宇和島病院） 【五十音順】

事務局：

JCHO 宇和島病院

〒798-0053 愛媛県宇和島市賀古町2丁目1-37

TEL: 0895-22-5616 (代)