

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 23 日現在

機関番号：32653

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24890252

研究課題名(和文) 関節リウマチの機能障害進行と関連する遺伝子の同定

研究課題名(英文) Identification of genes that are related to the progression of the functional impairment in patients with rheumatoid arthritis

研究代表者

越智 健介(Ochi, Kensuke)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：70445203

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：当センターの関節リウマチ患者前向きコホート調査により、以下が明らかとなった。1) 機能障害進行と有意に相関するSNPは存在しない。2) 骨折は男性では肋骨に多く、女性では脊椎に多い。上下肢骨折は転倒によるものが多く、脊椎骨折は不顕性骨折が多い。男女の間で頻度に有意な差があった骨折部位は肋骨、鎖骨、肩関節、足関節である。3) 疾患活動性は改善しているにも関わらず、骨折率の減少していない。4) 橈骨遠位端骨折の危険因子は女性、高齢、やせ形、ステロイド内服量である。5) 上腕骨近位端骨折の危険因子は高齢、炎症反応高値、骨折の既往、ステロイド内服量、ビスフォスフォネート内服なし、である。

研究成果の概要(英文)：This study using our cohort study in patients with rheumatoid arthritis indicated the following things; 1) There was no SNP significantly correlating with progression of functional impairment. 2) The most frequent fracture in man was rib, while clinical vertebra in woman. Significant differences in gender were seen in the frequencies of fractures in rib, clavicle, shoulder, and ankle. Prevention of falls may be the most effective way to reduce upper- and lower-extremity fractures. 3) Despite the improvement in disease activity and functional disability, the incidence of nonvertebral fractures showed no apparent change between 2001 and 2010. 4) Female gender, age, body mass index, daily prednisolone dose, and physician global visual analog scale were risk factors for distal radius fractures. 5) Age, serum C-reactive protein level, history of fractures, daily prednisolone dose, and no oral bisphosphonate intake were risk factors for proximal humerus fractures.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：整形外科学

キーワード：関節リウマチ 機能障害 骨折

1. 研究開始当初の背景

RAは有病率が約0.5%と比較的頻度の高い、慢性進行性破壊性多関節炎を伴う全身性自己免疫疾患である。病期の進行とともに全身の関節構造が破綻し、機能障害が進行していくが、臨床経過は多彩であり、寝たきり生活を余儀なくされる重症例から日常生活に障害を残さない例まで様々である。重症例では社会的活動のみならず日常生活も高度に障害され、平均余命までもが短縮するため、大きな社会的、経済的問題となっている。

RAに対する治療の主要なゴールは、症状のコントロール、関節破壊の抑制、身体機能の正常化をはかって長期的な生活の質 (quality of life: QOL) を最大限まで改善することである。近年の薬物治療の進歩によって、RAの治療体系にはパラダイムシフトとも称される大きな変化がもたらされ、特にここ数年の間に臨床応用されるようになった各種の生物学的製剤は病期進行を制御できる可能性があると期待されている。一方で生物学的製剤は従来の抗リウマチ薬に比べ薬剤費が非常に高い上に、重症感染症などの副作用も一定の割合で生じうる。従って、機能障害の著しい進行などの重症化が予想される患者に対しては生物学的製剤を含めた積極的な治療を発症早期から行うことで疾患活動性を抑制し、そうでない患者には従来の抗リウマチ薬を中心とした治療を行う、安全かつ効果的で経済的なオーダーメイド医療が実現出来れば社会に与える影響は大きい。

疾患重症化に関連する候補遺伝子として、これまでに HLA-DRB1、*PADI4*、*MMP-3*、*IL-4*、*TNF-*、*TRAF1* などが報告されている。しかしながらその中で確認されているものは HLA-DRB1 のみである。実際、当施設の前向きコホートにおいても単純 X 線上の関節破壊と HLA-DRB1 との関連が明確だったものの、HLA-DRB1 以外の上記候補遺伝子と単純 X 線上の関節破壊の間に明らかな関連はなかった。

近年、RAの疾患重症度は単純 X 線上の関節破壊像による物理的な評価や医療者側からの評価のみではなく、患者による評価も加味した機能障害指数 (Health Assessment Questionnaire: HAQ) が重要視されるようになってきた。このような背景の中で、解析手法としてゲノム全体を包括的に検索可能なゲノムワイド関連解析 (genomewide association study, GWAS) を用いて HAQ に基づく疾患重症度と関連する遺伝子の同定を目指す意義は深い。

2. 研究の目的

本研究代表者が所属する東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センターでは、これまでに日本人 RA 患者におけるオーダーメイド医療実現化プロジェクトのほか、疾患感受性遺伝子同定、メタ解析、遺伝子間相互作用、環境因子との相互作用、生物学的製剤を含む抗リウマチ薬に対する薬剤反応性関連遺伝子の同定などの研究を進め、日本人 RA 患者の遺伝背景解明に貢献してきた。

本研究の全体構想は RA における包括的なオーダーメイド医療の実現であり、その中で本研究計画は機能障害進行予測因子同定ならびにオーダーメイド医療確立に寄与することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)ゲノムワイド関連解析 (genomewide association study, GWAS)

患者選択

J-HAQ は疾患活動性などと並ぶ IORRA における基本収集データであり、全ての患者の全てのフェーズで記録対象となっている。データクリーンアップを終えているフェーズ 1 (2000 年秋) からフェーズ 20 (2010 年秋) までの登録患者 10,000 名超のうち、4,408 名で初回登録時と登録 5 年後の J-HAQ データが得られており、この患者群を用いて遺伝背景

以外で HAQ 進行度に関連する因子を検索し、機能障害進行関連遺伝子検索の際の調整因子とした。上記対象患者群 (n=4,408) の中で、このプロジェクトでの DNA 利用について同意が得られている患者 1,384 名を遺伝子解析の対象とした。このうち 346 名は他のプロジェクトですでに GWAS が実施済であったため GWAS による一次スクリーニングの対象とし、バリデーションには GWAS 未実施の 1,038 名を用いた。なお、既知の 23 の疾患感受性領域を対象とした候補遺伝子解析については 1,384 名全例を対象とした。

調整因子の解析

IORRA データベースには J-HAQ のほか、年齢、性別などの基本情報、血清 CRP 値、赤沈値、自己抗体価などの臨床検査値、抗リウマチ薬の投与状況や副作用情報ならびに DAS28 や SDAI などの疾患活動性指標が含まれている。IORRA 登録時から登録 5 年後までの経時的 J-HAQ の変化から HAQ slope を算出し、これを従属変数とした。独立変数を登録時の年齢、罹病期間、性、SDAI (もしくは DAS28) の 5 年間の積分、投薬内容とし、重回帰分析により機能障害進行と関連する遺伝要因以外の因子を検索した。

ゲノムワイド関連解析 (GWAS) およびバリデーション

他のプロジェクトで得られたゲノムワイド多形情報を二次利用して、GWAS による一次スクリーニングを行った (n=346)。GWAS のプラットフォームには約 90 万 SNP を収載した Genome-Wide Human SNP Array 6.0 (アフィメトリクス社) を使用した。

IORRA データベースからの臨床情報は情報管理担当者による匿名化の上で、DNA サンプルと連結し、大容量記録装置を備えた解析用ワークステーションに格納した。解析プログラムにはフリーソフトウェアである PLINK v.1.07 を用い、Quality control (QC) および遺伝統計解析を行った。QC は次の手順で行っ

た：1.Call rate < 95% のサンプルを除去、2.Call rate < 98%、non-autosomal、monomorphic、rsID 以外の SNP を除去、3.MAF < 0.05 の SNP を除去。QC 後に機能障害進行 (HAQ slope) を従属変数とし、各 SNP を説明変数とする回帰分析を行った。その際、前述の調整因子解析で優位となった調整因子を加えた重回帰分析とした。

一次スクリーニングでゲノムワイド有意水準 ($P=5 \times 10^{-8}$) を超える SNP が得られなかった場合には、 $P < 1 \times 10^{-5}$ をクリアした SNP までをバリデーションの対象とすることにした (n=1,038)。バリデーションには多検体同時タイピングに適した TaqMan 法を用いた。一次スクリーニング同様に各調整因子で調整の上で、重回帰分析を行う。統計解析にはフリーソフトウェアである R v.2.13.2 を使用した。Coefficient () を用いて一次スクリーニングの結果とあわせてメタ解析を行い、ゲノムワイド有意水準をクリアした SNP を機能障害進行 (HAQ slope) と関連ありと判断した。

(2) RA 患者における骨折の特徴

IORRA コホート第 1 回 (2000 年 10 月) ~ 23 回 (2010 年 10 月) に参加した 9,720 名の RA 患者 (女性 82%、平均年齢 56 才) を対象に、この期間中に新鮮骨折を自己申告された骨折の特徴を解析した。統計学的解析は二乗検定を用いて行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

(3) RA 患者の骨折頻度の推移

IORRA コホートに参加した RA 患者によって自己申告された非椎体骨折の頻度とその推移を前向きに検討した。統計学的解析は二乗検定を用いて行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

(4) 橈骨遠位端骨折の危険因子解析

IORRA コホートに参加した RA 患者を対象に、橈骨遠位端骨折の危険因子を前向きに検討した。調査期間中に自己報告された橈骨遠位端骨折のうち、診療録により実際の骨折を確認できた症例を対象とした。高エネルギー外傷による骨折は除外した。Cox 比例ハザードモデルを用いて橈骨遠位端骨折と有意に相関する因子を解析した ($p < 0.05$)。

(5) 上腕骨近位端骨折の危険因子解析

IORRA コホート第に参加した RA 患者を対象に、上腕骨近位端骨折の危険因子を前向きに検討した。調査期間中に自己報告された上腕骨近位端骨折のうち、診療録により実際の骨折を確認できた症例を対象とした。高エネルギー外傷による骨折は除外した。Cox 比例ハザードモデルを用いて上腕骨近位端骨折と有意に相関する因子を解析した ($p < 0.05$)。

4. 研究成果

(1) ゲノムワイド関連解析

初回登録時と登録 5 年後の J-HAQ データが得られた 4,408 名における J-HAQ 進行に関連する因子を検索した。5 年間の経時的 J-HAQ の変化から算出した HAQ slope を従属変数とし、重回帰分析により機能障害進行と関連する遺伝要因以外の因子を検討したところ、関節リウマチ (RA) の疾患活動性、女性、発症時年代、発症時年齢が J-HAQ の進行に関与していることが明らかとなった (2012 年米国リウマチ学会発表)。次にこのプロジェクトでの DNA 利用について同意が得られている患者 1,384 名の遺伝子を解析した。前記項目を調整因子、HAQ slope を従属変数とし、各 SNP を説明変数とする重回帰分析を行ったところ $P < 1 \times 10^{-5}$ をクリアした SNP は存在しなかった。

(2) RA 患者における骨折の特徴

観察期間中に、1,357 名の患者 (14%) が合

計 2,323 骨折を自己報告していた。内訳は臨床椎体骨折が 24.2%、非椎体骨折が 75.8%であった。骨折の部位は男性では肋骨、臨床椎体、股関節の順に多く、女性では臨床椎体、肋骨、股関節の順に多かった。男女の間で頻度に有意な差があった骨折部位は肋骨、鎖骨、肩関節、足関節であった。転倒に起因した骨折は上肢 (76%)、ついで下肢 (57%) に多く、臨床椎体骨折では不顕性骨折が多かった (63.5%)。年齢とともに増加した骨折部位は臨床椎体と股関節であり、減少したのは肋骨と足部であった (Ochi et al., Arch Osteoporosis, 2013)。

(3) RA 患者の骨折頻度の推移

調査対象とした 10 年間に、Disease activity score using 28 joint count (DAS28) 寛解症例は 7.8% から 39.7% に増加し、J-HAQ 値は平均 0.82 から平均 0.65 に改善していた。ステロイド服用率は 51.4% (平均 4.7mg/日) から 41.3% (平均 4.1mg/日) に減少し、ビスフォスフォネート剤服用率は 5.0% から 23.4% に増加していた。1,357 の患者から、のべ 2,076 の非椎体骨折が自己申告されていた。2001 年における非椎体骨折頻度は 1.19%、2010 年における非椎体骨折頻度は 1.79% であり、大きな推移はなかった (平均 1.78 (0.23)%)。各非椎体骨折の平均発症時年齢と平均頻度はそれぞれ肋骨で 61.8 (12.7) 歳と 0.36 (0.05)%、骨盤で 65.9 (11.1) 歳と 0.07 (0.03)%、肩関節で 66.8 (10.4) 歳と 0.11 (0.04)%、手関節で 67.4 (10.4) 歳と 0.12 (0.04)%、股関節で 68.4 (9.4) 歳と 0.18 (0.06)%、足関節で 62.5 (10.6) 歳と 0.13 (0.04)% であった。非椎体骨折全体では、春夏に比べて秋冬の骨折が有意に多かった ($p = 0.02$) (現在投稿中)。

(4) 橈骨遠位端骨折の危険因子解析

経過観察期間に、139 患者が 153 橈骨遠位

端骨折を自己報告していた。そのうち、診療録で骨折が確認できたのは85患者の85骨折であった。多変量解析で橈骨遠位端骨折と有意に相関したものは女性 (hazard ratio [HR], 2.96; 95% confidence interval [CI], 1.18-7.45; $P = 0.021$), 年齢 (10 年毎, HR 1.55; 95% CI, 1.24-1.95, $P = 0.00016$), body mass index (BMI) (1 kg/m² 毎, HR, 1.11; 95% CI, 1.03-1.19; $P = 0.0034$), ステロイド一日摂取量 (mg/day 毎, HR, 1.10; 95% CI, 1.05-1.16; $P = 0.00015$)、そして医師による全般評価 (0-10 cm, HR, 0.98; 95% CI, 0.96-1.00; $P = 0.034$)であった (Ochi et al., Clin Rheumatol., 2014)。

(5) 上腕骨近位端骨折の危険因子解析

経過観察期間に、199 患者が 210 上腕骨近位端骨折を自己報告していた。そのうち、診療録で骨折が確認できたのは 91 患者の 92 骨折であった。多変量解析で上腕骨近位端骨折と有意に相関したものは年齢 (10 年毎, HR 1.37; 95%CI, 1.10-1.70; $P < 0.01$)、血清中の C 反応性蛋白 (mg/100 mL, HR 1.95; 95% CI, 1.15-3.34; $P < 0.05$)、骨折の既往 (HR 2.13; 95% CI, 1.34-3.40; $P < 0.01$)、ステロイド一日摂取量 (per mg, HR 1.07; 95% CI, 1.01-1.13; $P < 0.05$)、そしてビスフォスフォネート製剤不使用 (HR 1.97; 95% CI, 1.20-3.23; $P < 0.01$)であった (現在投稿中)。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

Ochi K, Go Y, Furuya T, et al., Risk factors associated with the occurrence of distal radius fracture in Japanese patients with rheumatoid arthritis: a prospective observational cohort

study. Clin Rheumatol. 査読有. 33, 2014, pp477-483

DOI: 10.1007/s10067-013-2415-z

Sakuma Y, Ochi K, Iwamoto T, et al. Number of ruptured tendons and surgical delay as prognostic factors for the surgical repair of extensor tendon ruptures in the rheumatoid wrist. J Rheumatol. 査読有. 41, 2014, pp265-269

DOI: 10.3899/jrheum.130861

Ochi K, Furuya T, Ikari K et al., Sites, frequencies, and causes of self-reported fractures in 9720 rheumatoid arthritis patients: A large prospective observational study in Japan. Arch Osteoporos. 査読有. 8, 2013, pp130

DOI: 10.1007/s11657-013-0130-7

Ochi K, Ikari K, Naomi A, et al. Administration of Teriparatide treatment for a challenging case of nonunion of a periprosthetic fracture after total knee arthroplasty. Arch Osteoporos. 査読有. 8, 2013, pp159

DOI: 10.1007/s11657-013-0159-7

[学会発表](計5件)

Ishibashi M, Watanabe M, Ochi K et al., Risk factors for proximal humerus fracture in Japanese patients with rheumatoid arthritis: A prospective observational cohort study. Annual European Congress of Rheumatology Meeting. Paris, France. 2014.6.

Ochi K, Furuya T, Inoue E et al., Risk Factors Associated With Fracture Occurrence Appear to Differ Between Distal Radius, Clinical Vertebral, and Hip Fractures in Japanese Patients

With Rheumatoid Arthritis: A Prospective Observational Cohort Study. American College of Rheumatology Annual scientific meeting. San Diego, USA. 2013.10.

Ochi K, Furuya T, Inoue E et al., Ten-Year Incidence of Self-Reported Nonvertebral Fractures in 9,720 Japanese Patients With Rheumatoid Arthritis: A Prospective Observational Cohort Study. American College of Rheumatology Annual scientific meeting. San Diego, USA. 2013.10.

Ochi K, Tanaka E, Shidara K, et al., Clinical factors associated with the progression of functional impairment in rheumatoid arthritis patients who maintained the remission criteria defined by the new ACR/EULAR criteria. Annual European Congress of Rheumatology Meeting. Madrid, Spain. 2013.6.

Ochi K, Furuya T, Inoue E et al., Sites, frequencies, and causes of fractures in patients with rheumatoid arthritis: a large prospective observational cohort study in Japan. Annual European Congress of Rheumatology Meeting. Madrid, Spain. 2013.6.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

越智 健介 (OCHI, Kensuke)

東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター・整形外科・講師

研究者番号：70445203

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：