

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09524

研究課題名(和文) 関節リウマチの治療前に患者個別に有効なバイオ製剤を選択し得るマーカーの探索

研究課題名(英文) Detection of biomarkers in pre-treatment serum which predict the clinical remission on the treatment with biologics in rheumatoid arthritis.

研究代表者

吉崎 和幸 (Yoshizaki, Kazuyuki)

大阪大学・産業科学研究所・特任教授

研究者番号：90144485

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチの治療は、生物学的製剤によって飛躍的に改善した。しかしながら、開発薬が増加したがゆえに、各患者毎に最も適した薬を選択することが困難となった。そこで、治療開始の血清中のサイトカイン等のマーカーを測定することにより、治療結果を予測するマーカー群を選別し、その選択したマーカー群を用いて、個人毎に寛解、非寛解を予測することを試みた。その結果、LASSO法による統計解析を行い、TNF阻害剤(インフリキシマブ)の場合は予測可能であったが、IL-6阻害(トシリズマブ)の場合は患者数が少なく不明であった。

研究成果の概要(英文)：Rapid progress of RA therapy has been made with molecular inhibitors. However simultaneously, many kinds of biologics were developed, then it has been difficult to select the adequate biologic by both physicians and patients. Therefore we try to detect the makers in serum before starting therapy which can predict the actual efficacy of biologics. In result, in the case of anti TNF- inhibitor therapy, the efficacy has been able to predicted on the statistical analysis using Lasso method. Now we know the individual efficacy by selected biologic.

研究分野：医歯薬学

キーワード：バイオマーカー 治療効果予測 関節リウマチ トシリズマブ インフリキシマム

1. 研究開始当初の背景

RAの病態発現にTNF- α やIL-6などのサイトカインが中心的に作用していることを反映し、これらサイトカインの病態意義への解析がRA病態の本質に迫る可能性を示唆している。並びに担当医は患者が改善、寛解になることを期待して治療薬を選択したいと考えているが、多数のバイオ製剤が次々と開発されると治療薬の選択が困難になってきている。従って、患者と担当医はバイオ製剤治療開始前に個々に治療効果が予測できる判断マーカーの存在を切望している。

2. 研究の目的

RAの発症と病態に關与するサイトカインやケモカイン、及びその可溶性レセプター等がサイトカイン阻害治療の治療効果判定に適切なバイオマーカーになると考え、治療前の患者血清を用い、多項目同時測定ビーズアレイ法により、前述の因子を含む項目を治療前に測定し、TNF- α 阻害治療、またはIL-6阻害治療を行った患者の24週後のDAS-28値、CDAI、SDAIと寛解確率を予測するマーカーを探索することを目的とした。

3. 研究の方法

RA病態關連バイオマーカー、IL-6/TNF- α 産生機序、ならびに機序關連バイオマーカーを含むキット(Bio-plex Group I、Th17 cytokine、Millipore cytokine receptor等)を用いて治療前の血中マーカーを測定する。まず、アクテムラ治療を対象者(100名)とし、後向き研究を行う。治療前の測定値と、24週後の結果との関係から、治療後の状態を予測する項目を抽出する。これをもとに、異なるコホートでも同様の結果が得られるか検討し、再現性のある予測マーカーを特定する。その後、TNF- α 阻害治療(レミケード)の患者についても、同様の方法を用いて予測するマーカーを特定し、IL-6とTNF- α 阻害薬の作用の特性を検討する。

4. 研究成果

1) 予備研究(測定終了、データ解析中)
候補予測マーカーの選択(終了)
RAの病態に關与するIL-6、IL-1やTNF- α 、また慢性炎症性疾患に關与するケモカイン、例えばIL-8、IP-10、Eotaxin等も候補とした。更にIL-6、TNF- α の作用を裝飾するそれらの可溶性レセプターは、RAの自然増強分子であり、あるいは阻害分子になり得る。上記サイトカインやケモカイン、可溶性レセプターを含む既存のマーカーキットを選別し、下記のパネルキットを用いた。
測定方法(終了)
申請者等は、患者血清で検討することにこだわった。測定方法は、Beads array systemを用いて行う。Bio-Rad社のGroup 27-Plex array(IL-1、IL-1Ra、IL-2、IL-4、IL-5、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12(P70)、

IL-13、IL-15、IL-17、basicFGF、eotaxin、G-CSF、GM-CSF、IFN- γ 、IP-10、MCP-1、MIP-1 α 、MIP-1 β 、PDGF、RANTES、TNF- α 、VEGF)やTh17kit(IL-17A、IL-17F、IL-21、IL-22、IL-23、IL-25、IL-31、IL-33、IFN- γ 、sCD40L)更にMillipore社の可溶性ヒトサイトカイン受容体パネルキット(sIL-1R α 、sIL-1R β 、sIL-6R、sgp130、sTNF-RI、sTNF-R α)を使用した。

患者選出(終了)

予備研究には、東広島記念病院で治療をうけている患者を対象とした。MTX無効のアクテムラ初回治療群約50名とTNF- α 阻害薬無効のアクテムラ治療スイッチ群約50名、比較としてエンブレル初回治療群約50名を対象とした。

患者關節状態をDAS-28(CRP)で評価(終了)

關節症状を治療前と効果判定可能な治療後16週のDAS-28(CRP)で評価する。アクテムラ治療群内の相対評価であるので、DAS28(CRP)も評価項目として使用可能である。16週後のDAS-28<2.3を寛解(remission)、DAS-28>2.3を非寛解(non-remission)とした。

統計学的解析

得られた結果の解析には、統計学者である(独)ルイ・パストゥール医学研究センターの八木克巳があたる。16週後の結果を予測するマーカーの選択を行う。まず、16週後のDAS28値を推定するため、各項目のSingle Linear Analysisを行った後、Multi Linear Analysisを行い実測DAS28に近接する推定DAS28が得られるマーカー群を特定する。続いて、寛解群と非寛解群を有意に区別できるマーカーをSingle Logistic Analysisを使い、次にMulti Logistic Analysisを行う。予備的に検討した結果、Multi Linearで $R^2=0.64$ 、 $P<0.002$ 、Multi LogisticでROCカーブAUC=0.85、 $P=0.0004$ を得るマーカー群を見出した。

2) 予備研究患者群とは異なるコホート患者群を用いた後向き研究により確認
慶應義塾大学膠原病リウマチ内科の異なった患者群(コホート)を用いて同じ研究方法で行った。アクテムラ治療群100名を対象とし、予備研究では不十分であったので、その3倍の約100項目について解析した。

3) TNF- α 阻害バイオ製剤治療における、治療前での効果予測バイオマーカーの特定
前述のアクテムラ治療で行った研究方法と同様に、TNF- α 阻害治療における予測マーカーの特定を行った。即ち、慶應義塾大学膠原病リウマチ内科及び医療法人(独)ヤマナ会東広島記念病院にて、レミケード、エンブレル、TNF- α 阻害治療を行った患者、各々50例を対象とする。まず、後向き研究を行い、候補バイオマーカー群を予測した。

その結果、TNF- 阻害のレミケード使用患者の場合、9 種のバイオマーカーの個人毎の測定値を用いることにより AUC 0.95 の確立で寛解、非寛解を予測することが可能であることが示された。IL-6 阻害のアクテムラ使用患者の場合は寛解導入者が多く非寛解との予測が困難であった。

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 8 件)

Yoshizaki K, Murayama S, Ito H, Koga T. The Role of Interleukin-6 in Castleman Disease. *Castleman Disease. Hematology/Oncology Clinics of North America*. Feb 2018; 32(1):23-36. 査読有

吉崎和幸, 宇野賀津子, 岩橋充啓, 山名二郎, 山名征三, 八木克巳 「RA 治療効果予測マーカーの探索 (Detection of Prediction markers on the onset for RA therapy)」, *アレルギーの臨床(The Allergy in Practice)*. 2017;35(5)No.499: 74 - 77.

Fujimoto S, Yoshizaki K, et al. Tentative diagnostic criteria and disease severity classification for Castleman disease: A report of the research group on Castleman disease in Japan. *Mod Rheumatol*. Sep 2017; 7:1-7. 査読有.

Koga T, Yoshizaki K, et al. Therapeutic outlook for Castleman ' s disease: prospects for the next decade. *Expert Opinion on Orphan Drugs*. 2017 Jul : 5(8):633-640. 査読有.

Fajgenbaum DC, Yoshizaki K, et al. International, evidence-based consensus diagnostic criteria for HHV-8-negative/idiopathic multicentric Castleman disease. *Blood*. 2017 Mar 23; 129(12): 1646-1657. Prepublished online 2017 Jan 13. doi: 10.1182/blood-2016-10-746933.

吉崎和幸他: キャッスルマン病診療の参照ガイド. *臨床血液*. 2017 58: 97-107.

Soken-Nakazawa J. Song and Kazuyuki Yoshizaki. Mechanism and Clinical Significance of IL-6 Combined with TNF- or IL-1 for the Induction of Acute Phase Proteins SAA and CRP in Chronic Inflammatory Diseases. *J Alcohol Drug Depend*, Vol. 4. Issue 3, 2016.5 1- 4 10.4172/2329-6488.1000239. 査読有.

Uno K, Yoshizaki K, et al. Pretreatment Prediction of Individual Rheumatoid Arthritis Patients' Response to Anti-Cytokine Therapy Using Serum Cytokine/Chemokine/Soluble Receptor Biomarkers. *PLoS One*. 2015 Jul 15;10(7):e0132055. doi: 10.1371/journal.

pone.0132055. PubMed PMID: 26176225; PubMed Central PMCID: PMC4503565.

〔学会発表〕(計 4 件)

吉崎 和幸, 宇野 賀津子 関節リウマチ治療前バイオマーカーによる個別化医療の開発 第44回 日本臨床免疫学会 ランチョンセミナー3 2016.9.8 京王プラザホテル
Kazuyuki Yoshizaki The role of soluble forms of IL-6 receptor (sIL-6R) and soluble form of gp130 (sgp130) on the regulation of IL-6 signaling in rheumatoid arthritis. ICI2016 2016年8月21日～2016年8月26日 Melbourne (Australia)

Kazuyuki Yoshizaki, Soken-Nakazawa J. Song, Hiroki Itoh, Mitsuhiro Iwahashi, Katsumi Yagi, and Kazuko Uno Soluble form of Gp130 molecule, an IL-6 Inhibitor, Contributes the Efficacy on RA to Tocilizumab (an Anti IL-6 Receptor Antibody) Therapy. EULAR2016 2016.6.11 London, UK.

Kazuyuki Yoshizaki Two soluble forms of IL-6 receptor, sIL-6R and sgp130, regulate physiological status and affect inflammatory status pathologically. (Pretreatment prediction for outcome to anti IL-6 therapy for RA by sgp130 including biomarkers) FOCIS2015 2015.6.24-27, San Diego, California, USA

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等
特になし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

吉崎 和幸 (YOSHIZAKI Kazuyuki)

大阪大学・産業科学研究所・特任教授
研究者番号：90144485