

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19646

研究課題名(和文)小児リウマチ性疾患の活動性評価に有用なバイオマーカーの検索

研究課題名(英文)Development of biomarkers useful for evaluation of disease activity of pediatric rheumatic diseases

研究代表者

八代 将登(Yashiro, Masato)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：80585943

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：小児リウマチ性疾患における各種酸化ストレスマーカー(thioredoxin(TRX), High Mobility Group Box 1(HMGB-1), d-ROMs)の測定系を確立した。TRXは全身型以外の若年性特発性関節炎(JIA)では、急性期に血清中で上昇し回復期に有意に低下した。TRXはd-ROMsやフェリチンと相関を認めたがMMP3とは相関しなかった。HMGB-1は一定の傾向は認めなかった。TRXとd-ROMsはJIAにおいて局所炎症(関節滑膜炎)ではなく全身炎症と相関しており、小児リウマチ性疾患の活動性のモニタリングに有用なバイオマーカーである可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児リウマチ性疾患は成人リウマチ性疾患と異なり、特異的自己抗体の検出率が低く臓器症状より全身症状が強い傾向があるため、疾患活動性の正確な評価が困難である。Thioredoxin(TRX)やd-ROMsは生体内の酸化ストレスを正確かつ鋭敏に評価できるバイオマーカーである。本研究ではTRXとd-ROMsは若年性特発性関節炎(JIA)において、急性期に血清中で上昇し回復期に低下しており、局所炎症(関節滑膜炎)ではなく全身炎症と相関することが明らかになった。本研究により、小児リウマチ性疾患の活動性が正確に評価され、適切なタイミングで必要な治療を開始することが期待される。

研究成果の概要(英文)： We established a measurement system for various oxidative stress markers (thioredoxin (TRX), High Mobility Group Box 1 (HMGB-1), d-ROMs) in pediatric rheumatic diseases.

In juvenile idiopathic arthritis (JIA) other than systemic type, serum TRX increased during the acute phase and significantly decreased during the recovery phase. TRX was associated with d-ROMs and ferritin but not with MMP3. HMGB-1 did not show a certain tendency.

TRX and d-ROMs were correlated with systemic inflammation in JIA but not with local inflammation (joint synovitis), suggesting that they may be useful biomarkers for monitoring the activity of pediatric rheumatic diseases.

研究分野：膠原病

キーワード：酸化ストレス バイオマーカー 小児リウマチ性疾患 チオレドキシン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小児期のリウマチ性疾患は、現代でも不治の病とされている。若年性特発性関節炎(JIA)、全身性エリテマトーデス(SLE)、若年性皮膚筋炎(JDM)をはじめ、成人で見られるリウマチ性疾患の全てが小児でも認められる。しかし、小児リウマチ性疾患は、その病態の表現型が成人と大きく異なり、決して成人疾患の「小型化」ではない。いずれの疾患も全身性慢性炎症の特徴を有しており、特に年少児では全身症状(発熱、倦怠感、皮疹など)が強い傾向にある。

成人リウマチ性疾患の多くは、疾患ごとに特異的自己抗体を認め、自己抗体に対応した臓器症状を呈する。そのため臓器特異的マーカーが疾患活動性マーカーとして用いられる。しかし小児では全身症状を呈しやすいため臓器特異的マーカーの有用性が低い。全身炎症が主体の小児リウマチ性疾患の病態は未だ不明であり、各疾患毎の病態を反映するバイオマーカーが存在しない

「酸化ストレス」とは内因性・外因性の活性酸素やフリーラジカルを生体が十分に処理できない状態である。過度の酸化ストレスは細胞・組織・臓器機能を障害する。近年酸化ストレスが、様々な病態(感染・炎症・変性・老化・癌化・移植・虚血・再灌流障害・放射線障害など)に関与していることが明らかになっている。酸化ストレスマーカーは様々な疾患で病態を反映するバイオマーカーである。

2. 研究の目的

酸化ストレスマーカーは生体内の酸化ストレスを鋭敏かつ正確に評価することができ、高齢者における疾病予防や未病診断に用いられている。小児リウマチ性疾患において既存の炎症マーカーでは評価できない微細な炎症の活性化を捉えることができないだろうか。小児リウマチ性疾患と酸化ストレスを評価した報告はまだない。この変化を把握できれば、疾患活動性はもちろん薬剤の有効性や再燃前の炎症状態をも評価することが可能となる。以上より私たちは、小児リウマチ性疾患の活動性のモニタリングに有用なバイオマーカーの検索への取り組みを開始した。

小児リウマチ性疾患では一見よく似た全身症状(発熱、倦怠感、皮疹など)を呈していても、病態は必ずしも同じではない。炎症病態の中心となる炎症性サイトカインの違いにより病態が異なることがこれまでに証明されてきた(全身型 JIA と IL-6,関節型 JIA と TNF α ,マクロファージ活性化症候群を合併する全身型 JIA と IL-18 など)。

しかし、病態が判明している小児リウマチ性疾患はまだごく一部である。以下の各種バイオマーカーと疾患活動性との相関は病態解明のための有用な情報になる。

3. 研究の方法

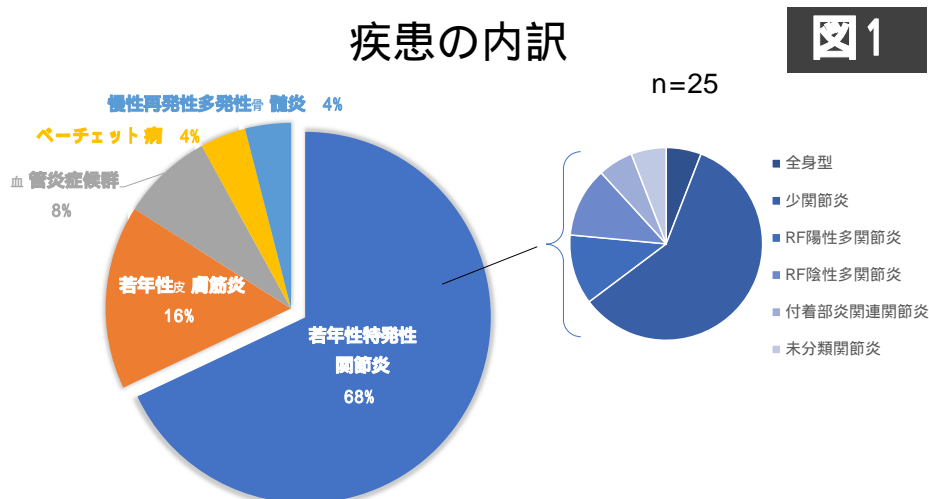
臨床検体を用いた検討については、岡山大学病院で加療を行った患児を対象とする。検体は急性期と寛解期に採取する。急性期の加療を前医で行った場合は、当院への初診時の検体を使用する。寛解を達成しなかった症例においては症状が軽快し安定した時期（安定期）の検体を使用する。

各種酸化ストレスマーカー(thioredoxin(TRX),HMGB-1,d-ROMs)の測定系を確立する。臨床検体は血清を用いる。TRX:は TRX ELISA Kit(レドックス・バイオサイエンス社、京都)を用い HMGB-1 は HMGB1 ELISA Kit II(シノテスト、神奈川)を用いる。d-ROMs は FREE(Diacron International, Grosseto, Italy)を用いる。

4. 研究成果

小児リウマチ性疾患における各種酸化ストレスマーカー(TRX,HMGB-1,d-ROMs)の測定系の確立を行った。数例の検体を用いて上記マーカーを測定し測定系が確立できたことを確認した。

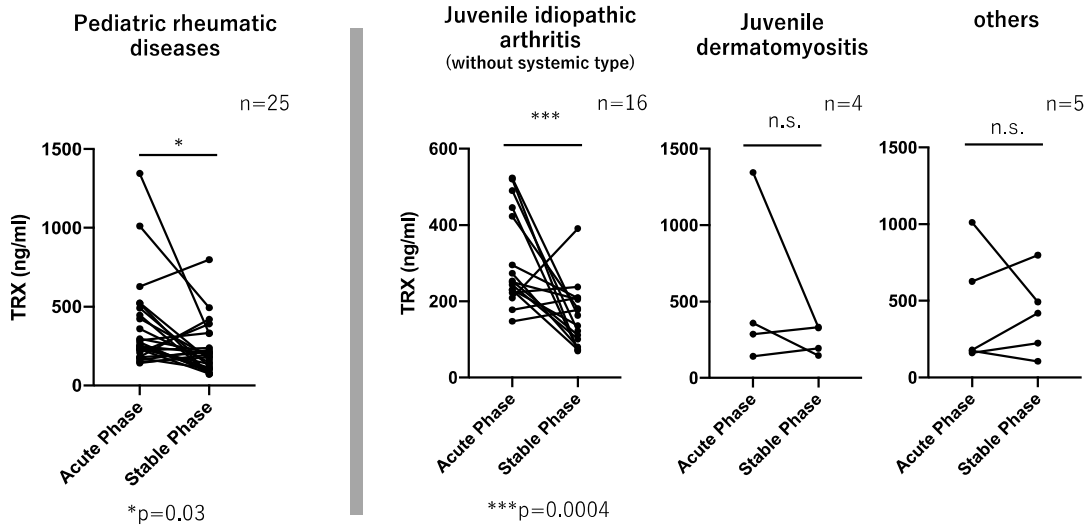
酸化ストレスマーカーを評価した小児リウマチ性疾患は25症例であった。内訳は若年性特発性関節炎17例、若年性皮膚筋炎4例、血管炎2例（高安動脈炎、Livedo血管炎）、ベーチェット病1例、慢性再発性多発性骨髄炎（CRMO）1例であった。若年性特発性関節炎の分類は、全身型1例、少関節炎10例、RF陰性多関節炎2例、RF陽性多関節炎2例、付着部炎関連関節炎1例、未分類関節炎1例であった（図1）。既存の炎症マーカーとしてCRP,血清アミロイドA,プロカルシトニン(PCT),ferritinを測定した。



小児リウマチ性疾患25例の急性期と安定期にTRXを測定した。急性期にTRXは上昇し安定期には有意に低下した。疾患ごとに評価を行ったところ、全身型以外のJIAでは安定期には顕著に低下した。その他の疾患では有意差を認めなかった（図2）。細胞内に存在するTRXは軽度の溶血でも血清中に上昇する事が確認されたため溶血が確認された検体は除外した。

TRXの変化（急性期、安定期）

図2



関節型 JIA において TRX はフェリチンと同様の推移を示した。d-ROMs も TRX 同様にフェリチンと同様の推移を示した。いずれもマーカーも MMP3 との強い相関は認めなかった。TRX や d-ROMs などの酸化ストレスマーカーは JIA の関節滑膜炎を反映するのではなく関節型の JIA における全身炎症と相関していると考えられた。経時的に経過を追った症例を示す（図 3）。HMGB-1 は症例ごとに測定項目に変動があり、一定の傾向を認めなかった。各症例ごとの細胞障害及び全身炎症の程度に相関すると考えた。

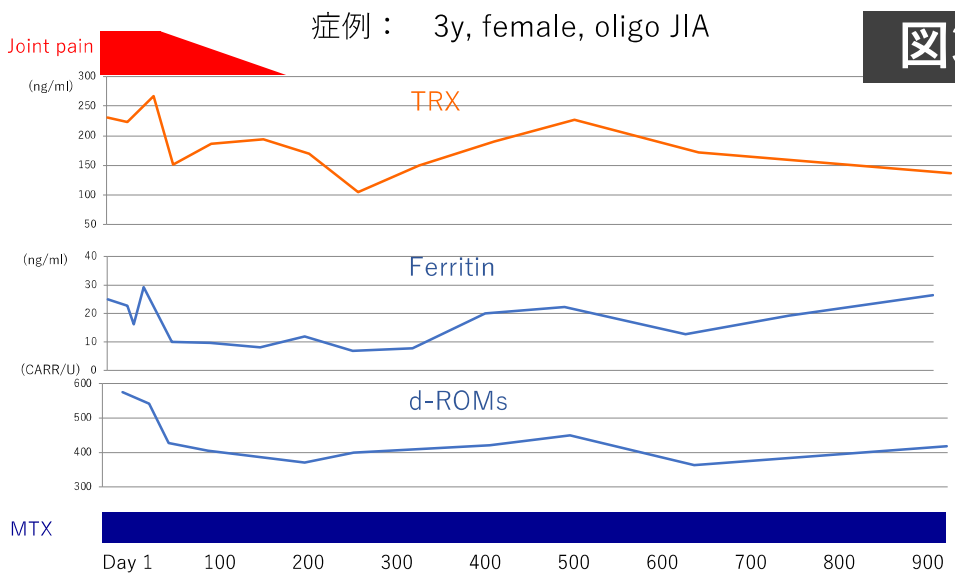


図3

本研究の検討中に、小児リウマチ性疾患を含めた小児のさまざまな慢性および急性炎症性疾患のバイオマーカーの検討を行った。原因不明の中樞神経炎症疾患であるけいれん重積型急性脳症の予後予測に PCT が有用であることが判明したため報告を行った（図 4）。けいれん重積型急性脳症 9 例と複雑型熱性けいれん 10 例を比較した（図 4-a）。PCT 値は脳症群で有意に上昇した（平均 12.8ng/ml(0.26-24.2)）。9 例中 7 例で 2.0ng/ml 以上（敗血症のカットオフ値）であったが、熱性けいれん群では PCT 2.0ng/ml 以上の症例は認めなかった。一方 CRP 値

は両群間で有意差を認めなかった（図 4-b）。けいれん重積型脳症 5 例を経時的に検討したところ急性期の PCT は CRP と比して著明な上昇を認めた。PCT はけいれん重積型脳症の発症予測因子としての可能性が示された。

急性脳症（けいれん重積型脳症）
における血清プロカルシトニン
値の検討

(a)

	痙攣重積脳症群	複雑型熱性痙攣群
年齢	13.9か月 (10-29m)	26.6か月 (11-40m)
性別 (M/F)	4/5	3/7
原因 病原体	HHV-6：7例 インフルエンザ：2 例 (血液培養：陰 性)	HHV-6：2例 アデノウイルス：1例 hMPV：1例 溶連菌：1例 不明：6例
予後	後遺症なし：5例 軽度後遺症：2例 重度後遺症：2例	後遺症なし：10例

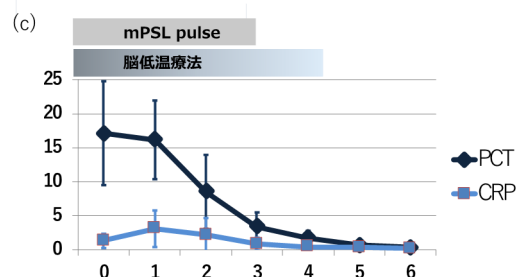
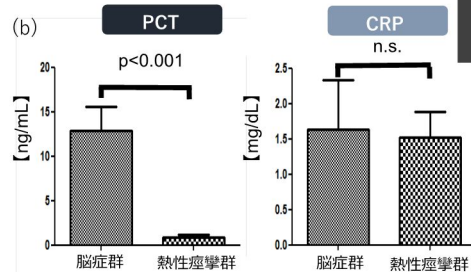


図4

本研究では TRX や d-ROMs などの酸化ストレスマーカーは JIA において局所炎症（関節滑膜炎）ではなく全身炎症と関連していた。酸化ストレスマーカーは小児リウマチ性疾患の活動性のモニタリングに有用なバイオマーカーである可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yosuke Fujii, Masato Yashiro, Mutsuko Yamada, Tomonobu Kikkawa, Nobuyuki Nosaka, Yukie Saito, Kohei Tsukahara, Masanori Ikeda, Tsuneo Morishima, and Hirokazu Tsukahara	4. 巻 -
2. 論文標題 Serum Procalcitonin Levels in Acute Encephalopathy with Biphasic Seizures and Late Reduced Diffusion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Disease Markers	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1155/2018/2380179.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 八代将登
2. 発表標題 小児リウマチ性疾患における酸化ストレスマーカーの有用性について
3. 学会等名 第50回 岡山リウマチ研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----