

令和 3 年 5 月 18 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10002

研究課題名（和文）関節リウマチの病態と腸内細菌叢との関連性の解析

研究課題名（英文）Analysis of the relationship between the pathology of rheumatoid arthritis and the intestinal flora.

研究代表者

榎崎 雅司（Narazaki, Masashi）

大阪大学・医学系研究科・特任教授（常勤）

研究者番号：00467573

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）：腸内細菌叢や腸内細菌による代謝物の変化は人体に様々な影響を及ぼす。学内の岡田随象教授らと共同研究で、腸内細菌叢の全ゲノムショットガンシーケンス解析にて、関節リウマチ患者ではP. copri以外にもPrevotella denticolaなどのPrevotella属に属する複数の菌種が豊富に存在し、レドックス反応関連遺伝子が大きく減少していることを報告した。また、血清のメタボローム分析では、関節リウマチ患者ではUTP、ATP、GDP、ADPなどの核酸の濃度が高く、治療後では低下しこれら核酸が疾患特異的な代謝物であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関節リウマチは免疫異常と慢性関節炎を特徴とし、関節機能障害に至る免疫疾患である。生物製剤の普及により予後は改善されてきたが、疾患の根本的原因は不明である。研究代表者らは過去に関節リウマチ患者から得られた腸内細菌P. copri菌をマウスへ投与すると関節炎が誘導されることを示した。本研究ではP. copri以外にもPrevotella属に属する複数の菌種が豊富に存在することを報告し、これらの菌株も関節リウマチの病態形成要因である可能性が示唆された。関節リウマチ血清では核酸濃度変化を指摘し、これまで臨床現場で測定されている炎症マーカー以外の新規疾患フォローマーカーとなる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Changes in the intestinal flora and metabolites caused by the intestinal bacteria have various effects on the human body. In collaboration with Dr. Okada Y and others on campus, a whole-genome shotgun sequence analysis of the intestinal flora revealed that patients with rheumatoid arthritis are rich in multiple species belonging to the genus Prevotella, such as Prevotella denticola, in addition to P. copri. The genes related to the redox reaction were significantly reduced in patients with rheumatoid arthritis. In addition, serum metabolome analysis showed that the concentrations of nucleic acids such as UTP, ATP, GDP, and ADP were high and decreased after treatment, and these nucleic acids were disease-specific metabolites in patients with rheumatoid arthritis.

研究分野：リウマチ学

キーワード：関節リウマチ 腸内細菌叢 炎症

## 1. 研究開始当初の背景

関節リウマチは関節炎から関節破壊をきたし関節機能障害に至る慢性炎症性疾患である。近年の炎症性サイトカインに対する生物製剤の普及、治療戦略の確立から内科的治療により高い効果が得られるようになった。次世代の関節リウマチの診療においては、発症リスク予測とともに発症予防を目標とした予防的介入が模索される時期に来ている。

関節リウマチの発症や増悪因子に関しては遺伝背景とともに環境因子が重要と考えられており、介入可能な環境因子を同定することは重要である。例えば、関節リウマチ発症の21%は喫煙によるとされ予防や治療において禁煙が強く指導される。さらに、歯周病菌の *Porphyromonas gingivalis* 菌はシトルリン化酵素を持ち関節リウマチに特異性の高い抗シトルリン化ペプチド抗体の誘導に関与し、発症リスクや重症化と関連し、歯周病の治療が勧められている。こうした改変可能な環境因子を同定することは関節リウマチの予防や新規治療法につながる。

## 2. 研究の目的

ピロリ菌の胃・十二指腸潰瘍への関与から、これらの疾患は除菌で予防できるようになった。同様に特定の菌種が関節リウマチをはじめとする炎症性免疫疾患の病態に関与しているという仮説は興味深い。関節リウマチの病態への細菌の関与は以前から推測されており、サラゾスルファピリジンやミノサイクリンが関節リウマチに効果があることはよく知られている。いくつかの関節炎モデルマウスでは無菌状態では関節炎を発症しないが、特定の菌を腸内に定着させると関節炎を発症することが知られている。こうしたマウスでの観察は腸内細菌叢の変化が場所と臓器を変えて関節の炎症と関連していることを示す。これまで関節リウマチ患者の腸内細菌叢に *Prevotella copri* (*P. copri*) 菌の増加が見られ、*P. copri* 菌を関節リウマチ感受性マウスに経口投与して腸内に定着させることにより関節炎を発症させることを示して、特定の菌が関節リウマチの原因となる可能性を報告した。本研究では関節リウマチの腸内細菌叢の解析をさらに詳細に進め、関節リウマチ患者の腸内細菌叢の全貌を解析する。

## 3. 研究の方法

従来の16SリボソーマルRNAによる解析では種レベルでの腸内細菌の同定は困難であり、より詳細に解析するため、学内の岡田随象教授らと共同研究を行い日本人(関節リウマチ患者82人、コントロール42人)での便検体を収集し、サンプルあたり平均13Gbの腸内細菌叢の全ゲノムショットガンシーケンスを実施し系統発生分析、機能遺伝子分析、経路分析からなる包括的メタゲノムワイド関連研究を実施した。また、日本人関節リウマチ患者92人、健康人コントロール181人でキャピラリー電気泳動飛行時間型質量分析と液体クロマトグラフィーを組み合わせて患者血清を用いてメタボロミクス解析を行なった。SLE患者血清と乾癬性関節炎患者血清と比較し関節リウマチ疾患特異的な代謝マーカーを解析した。

## 4. 研究成果

(1) 関節リウマチ患者の腸内細菌叢では16SリボソーマルRNAによる解析で従来報告した *P. copri* 以外にも全ゲノムショットガンシーケンスにより *P. denticola*, *P. marshii*, *P. disiens*, *P. corporis* and *P. amnii*) などの *Prevotella* 属に属する複数の菌種が豊富に存在

していた。腸内細菌の遺伝子機能評価では、関節リウマチ患者ではコントロールと比較して酸化還元反応関連遺伝子（R6FCZ7）が減少していた。R6FCZ7は *Bacteroides uniformis*, *B. rodentium* and *B. fragilis*, as well as *Bacteroides sp.*と関連しており *Bacteroides* 属の酸化還元機能が関節リウマチの病因に関与している可能性が上がった。*Prevotella* 属と R6FCZ7 を有する *Bacteroides* 属は反比例関係にあって、これらの菌が関節リウマチの病態に関与する可能性が考えられた。

（2）関節リウマチ患者では健常人と比較してエタノールアミンリン酸、6-アミノヘキサン酸、タウリン、ヌクレオチドである UTP、ATP、GDP、ADP の濃度が有意に高く、キサンチンの濃度は低下していた。UTP、ATP、GDP、ADP などの核酸は治療を受けていない患者では治療後の患者と比べて有意に高く、健常人と SLE や乾癬性関節炎などとの比較から、核酸濃度の上昇は関節リウマチに疾患特異性があることが明らかとなった。

（3）関節リウマチにおいて関節局所からの炎症を全身に伝え、様々な炎症性疾患の病態にも関与する代表的な炎症性サイトカイン IL-6 の生理作用と各種病態への関与をまとめた。IL-6 阻害薬は関節リウマチをはじめとしいくつかの炎症性疾患へ臨床使用が承認されているが、これまでの治療成績や有害事象、さらに、症例報告やケーススタディで有効性が報告されている疾患を俯瞰することによって、今後 IL-6 阻害戦略で治療効果が期待できる疾患を網羅した総説を 5 報まとめた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kishikawa T, Maeda Y, Nii T, Arase N, Hirata J, Suzuki K, Yamamoto K, Masuda T, Ogawa K, Tsuji S, Matsushita M, Matsuoka H, Yoshimura M, Tsunoda S, Ohshima S, Narazaki M, Ogata A, Saeki Y, Inohara H, Kumanogoh A, Takeda K, Okada Y	4. 巻 33
2. 論文標題 Increased levels of plasma nucleotides in patients with rheumatoid arthritis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 119 ~ 124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxaa059	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 -

1. 著者名 Kishikawa T, Maeda Y, Nii T, Motooka D, Matsumoto Y, Matsushita M, Matsuoka H, Yoshimura M, Kawada S, Teshigawara S, Oguro E, Okita Y, Kawamoto K, Higa S, Hirano T, Narazaki M, Ogata A, Saeki Y, Nakamura S, Inohara H, Kumanogoh A, Takeda K, Okada Y.	4. 巻 79(1)
2. 論文標題 Metagenome-wide association study of gut microbiome revealed novel aetiology of rheumatoid arthritis in the Japanese population	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of the Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 103 ~ 111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2019-215743	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 -

1. 著者名 Narazaki M, Tanaka T, Kishimoto T	4. 巻 13
2. 論文標題 The role and therapeutic targeting of IL-6 in rheumatoid arthritis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Expert Review of Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 535 ~ 551
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/1744666X.2017.1295850	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Narazaki M, Kishimoto T	4. 巻 19(11)
2. 論文標題 The Two-Faced Cytokine IL-6 in Host Defense and Diseases	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 3528
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19113528	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 -

1. 著者名 Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T	4. 巻 10(8)
2. 論文標題 Interleukin (IL-6) Immunotherapy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cold Spring Harb Perspect Biol.	6. 最初と最後の頁 a028456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/cshperspect.a028456.	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 -

1. 著者名 Kang S, Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T	4. 巻 50
2. 論文標題 Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immunity	6. 最初と最後の頁 1007 ~ 1023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.immuni.2019.03.026	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 -

1. 著者名 Kang S, Narazaki M, Metwally H, Kishimoto T	4. 巻 217
2. 論文標題 Historical overview of the interleukin-6 family cytokine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 1 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20190347	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------