様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科研費 KAKENHI

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　４ 年　６ 月 １０ 日現在

機関番号：２４７０１

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：１９Ｋ０８９１５

研究課題名（和文）関節リウマチの生物学的製剤治療により活性化される抗核抗体の研究

研究課題名（英文）Anti-nuclear antibody development during biological disease-modifying anti rheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis

研究代表者

藤井　隆夫（Fujii, Takao）

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：７０２５５４６２

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,300,000円

研究成果の概要（和文）：関節リウマチ（RA）の治療薬は生物学的および分子標的型低分子抗リウマチ薬（b/tsDMARD）の普及により大きく進歩した。特にbMARDは関節変形を抑えるのみでなく、患者QOLを改善させる薬剤として広く使われている。しかしbDMARD特有の問題点として、この薬剤に対する阻害抗体（有効性を落とす蛋白質）が誘導され、2次無効（初めは効果が認められていてもその後効かなくなること）が報告されている。本研究ではこの阻害抗体の誘導と膠原病患者で高頻度に認められる抗核抗体の出現が相関すること、またその関連にBAFFやIFN-αといった全身性エリテマトーデスで活性化する液性因子が関与していることを明確にした。

研究成果の学術的意義や社会的意義
bDMARDの費用は高額であり、患者負担も大きい。ADAはbDMARDが2次無効になる要因となるが、ADAを直接測定することは日常診療では不可能でそれを知る手立てがない。今回示した抗核抗体は日常診療で測定でき、ADAの予測因子となり得る。今回の研究のみではバイオマーカーとは言い切れないが、参考になる検査データと考えられる。またADAの活性化機序を明確にしたこと、特にADAと同時に上昇する一部の血清中サイトカインを示したことは、bDMARDの2次無効を抑制する方法を考える上で重要である。上記よりRAの中心的薬剤であるbDMARDの活用法に関する知見を示した本研究は学術的意義があると考えている。

研究成果の概要（英文）：The treatments for patients with rheumatoid arthritis (RA) made a great progression by the widespread use of biological and targeted synthetic anti-rheumatic drugs (b/tsDMARD). In particular, bDMARD are widely used because they not only suppress joint deformity but also improve patient QOL. However, as a problem peculiar to bDMARD, it has been reported that an anti-drug antibody (ADA, protein that reduces the efficacy) against bDMARD is induced and secondary failure (even if the effect is initially recognized, it becomes ineffective afterwards). In this study, the induction of ADA is correlated with the appearance of antinuclear antibodies frequently observed in patients with collagen disease, and the association involves humoral factors activated by systemic lupus erythematosus such as BAFF and IFN-α.

研究分野：リウマチ・膠原病

キーワード：関節リウマチ　生物学的抗リウマチ薬　抗核抗体　I型インターフェロン　2次無効

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様 式 Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

（1）近年、関節リウマチ（Rheumatoid Arthritis, RA）治療薬として生物学的製剤（biological disease-modifying antirheumatic drugs, bDMARD）は必須の薬剤となった。TNF 阻害薬（TNF inhibitors, TNFi）は速効性があるが、その副反応として感染症や心不全、また抗核抗体（anti-nuclear antibodies, ANA）産生などループス様症状の誘導が知られている（Atezeni F, *et al. Autoimmun Rev,* 2013;12:703）。申請者らは、全身性エリテマトーデス（systemic lupus erythematosus, SLE）における抗核抗体の産生機序を研究する上で、TNFi を投与することにより ANA の誘導が引き起こされることに興味を持ち、インフリキシマブ（IFX）使用中の患者血清における ANA 発現の RA における臨床的意義を検討した。その結果、ANA 陽性が約 40%に認められ、IFX の 2 次無効との有意な関連があることが判明した（Yukawa N, Fujii T, *et al. Arthritis Res Ther*, 2011;13:R213）。その後海外でも、全身性エリテマトーデス（systemic lupus erythematosus, SLE）や血管炎などの膠原病の発症とは無関係に、ANA の陽転化と IFX の 2 次無効が関連することが確認された（Takase K, *et al. ARD* 2014;73:1695）。

（2）bDMARD 効果不十分のパターンとして１次無効と 2 次無効があるが、後者の場合にはその原因の一部は免疫原性（immunogenicity）、すなわち抗薬剤抗体（anti-drug antibodies, ADA）によるとされ（Vincent FB, *et al. ARD* 2013;72:165）、それが中和抗体であった場合、bDMARD の有効性を著しく減弱させる（Thomas SS, *et al. BioDrugs* ;2015:29:241）。われわれは ANA と ADA 誘導との間に何らかの免疫学的関連がある可能性を考え、IFX 治療中に ANA が陽転化した RA 血清で抗 IFX 抗体を調べたところ、ANA の陽転化が ADA 陽転化と時間的にも相関することが判明した（Ishikawa Y, Fujii T, *et al. PLoS One* 2016;11:e0162896）。しかし IFX 以外の bDMARD で同様の傾向があるのか、また 2 つの全く異なった抗体をリンクさせる免疫学的機序については明確ではない。

２．研究の目的

（1）RA 治療は bDMARD により著しく進化したが、いったん有効であってもその後有効性が減弱すること（２次無効）がしばしば認められる。その原因のひとつが免疫原性であるが、それのみでは説明できないケースも多い。本研究では bDMARD 効果減弱の予測因子としての特異 ANA を抽出することが第一の目的である。

（2）またその特異的な ANA の発現に関わる免疫学的機序を検討するのが第 2 の目的である。

３．研究の方法

（1）bDMARD 治療中に誘導される新規あるいは既存 ANA と治療反応性の相関

われわれの RA データベースより新規にｂDMARD を開始した症例（=730 例）をもとに ANA や DAS28 などの疾患活動性（開始前、3 か月、6 か月、12 か月）のデータが取得できた症例を抽出した。MTX のみで治療した患者を対照とした。ベースラインにおける ANA のレベル（x80 以上を陽性）および ANA の抗体価の上昇（2 倍以上）と、その後の疾患活動性との関連を調べた。またベースラインの ANA と各 bDMARD の治療反応性を MTX と比較して調べた。

（2）ANA 発現のリスク因子の検討

次に、性別、年齢、罹病期間、DAS28-ESR、CRP、RF などを調べ、bDMARD 使用中に ANA の抗

体価が上昇するリスク因子を検討した。

（3）bDMARD 治療中に誘導される ANA と関連する免疫原性と液性因子・他の自己抗体

ANA 陽転化（あるいは bDMARD 使用前から陽性の場合には力価の上昇）が認められ、かつ臨床的に 2 次無効と考えられた場合には、その血清中の ADA と bDMARD 濃度を測定する。測定は、IFX と同様、Sanquin Dignostic Services Institute（Plesmanlaan, Amsterdam）に依頼する。また同じ血清を用いて、サイトカイン濃度を測定した。

4．研究成果

（1）bDMARD 治療中に誘導される新規あるいは既存 ANA と治療反応性の相関（図 1）

ベースラインの ANA 陽性は、3-12 か月後の治療反応性と関連はなかったが、12-24 か月後の治療反応性とは関連を認めた。また 3 か月後の ANA 力価の上昇は 3-12 か月後の治療反応性と関連し、6-12 か月後の力価の上昇は 12-24 か月後の治療反応性と関連した。一方、各ｂDMARD で検討すると、3 か月後の ANA の力価の上昇は 3-12 か月後の治療反応性と関連し、6-12 か月後の ANA 力価の上昇は 12-24 か月後の治療反応性と関連した。興味深いことに、これらはいずれの bDMARD でも同様に認められ、TNF 阻害薬および非 TNF 阻害薬で違いがなかった。

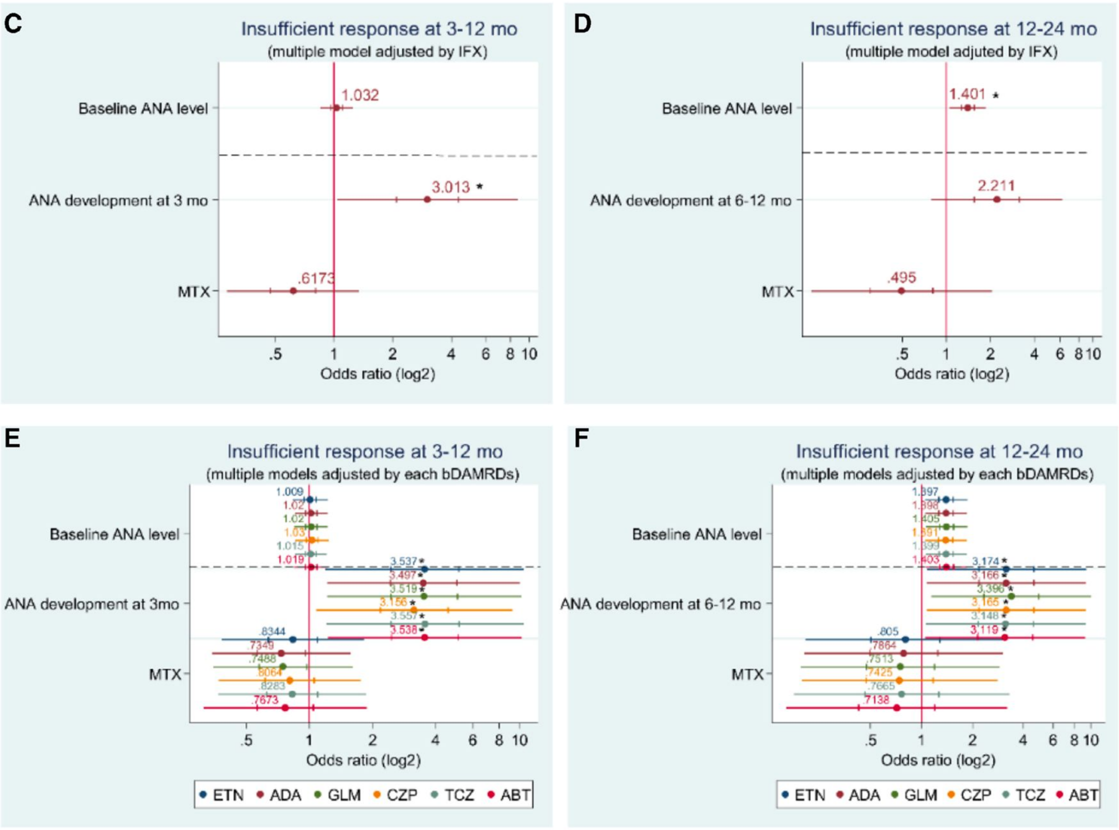

図 1．ANA の誘導と bDMARD の有効性の検討

MTX= methotrexate, ETN=etanercept, ADA=adalimumab, GLM=golimumab, CZP=certolizumab pegol, TCZ=tocilizumab, ABT=abatacept

(Ishikawa Y, Fujii T, *et al*. *Semin Arthritis Rheum* 2019;49:204-210 より引用)

（2）ANA 発現のリスク因子（図 2）

ANA 陽性および力価上昇のリスク因子を調べたところ、女性、年齢、罹病期間、疾患活動性、CRP、RF 陽性、抗 CCP 抗体陽性、MTX 使用、HAQ、PSL 使用の中ではリスク因子は抽出

されなかった。しかし、1年以内の ANA 力価の上昇に関しては bDMARD 使用が明らかに関連し、特に TNFi が強く関連した。さらに TNFi のなかでも IFX が有意であり、他の TNFi はリスクにならなかった。

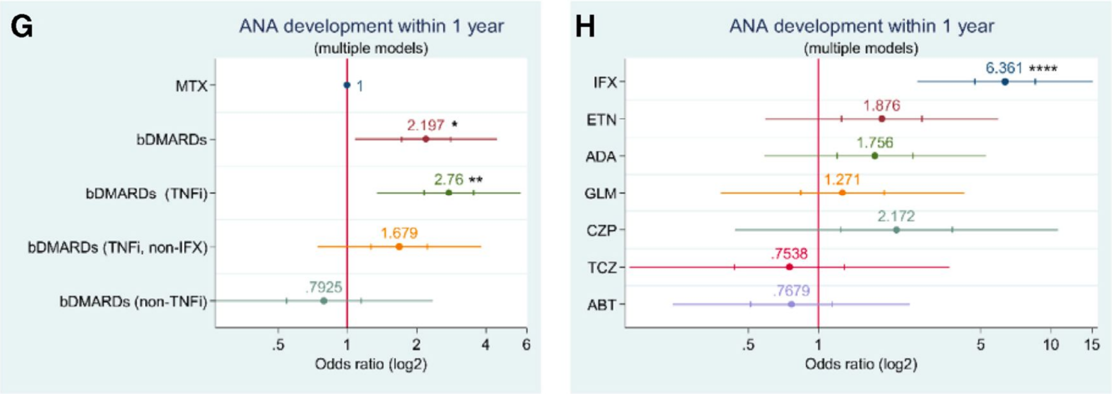

図 2．ANA の誘導と薬剤との関連

MTX= methotrexate，ETN=etanercept，ADA=adalimumab，GLM=golimumab，CZP=certolizumab pegol，TCZ=tocilizumab，ABT=abatacept

(Ishikawa Y，Fujii T，*et al. Semin Arthritis Rheum* 2019;49:204-210 より引用)

（3）bDMARD 治療中に誘導される ANA と関連する免疫原性と液性因子・他の自己抗体

当院における新規のコホートで 2017 年～2019 年の検体で ANA が陽転化および力価が上昇した症例を調べたところ、陽転化した症例は 102 例中 11 例（10.8%）、力価が上昇した症例は 119 例中 9 例（7.6%）であり、これらを合わせて ANA の力価が上昇した症例は 20/221 例（9.0%）であった。これらの症例のうち、bDMARD 使用中の症例は 14 例（70%）であり、現在同血清におけるサイトカインを測定中である。興味深いことに、抗 CCP 抗体は ANA 上昇症例で力価が上昇していたのに対し、抗シトルリン化蛋白抗体の中でも病因的意義を有するとされる抗変異シトルリン化ビメンチン抗体（抗 MCV 抗体）は有意に低下していた。同じ ACPA でもその変動の仕方が異なっているため、現在免疫原性との関連も含め検討中である。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計4件（うち査読付論文　4件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　0件）

1．著者名 Ishigooka N, Fujii T, Abe H, Murakami K, Nakashima R, Hashimoto M, Yoshifuji H, Tanaka M, Ito H, Ohmura K, Morita S, and Mimori T	4．巻 30
2．論文標題 Predicting factors for disappearance of anti-mutated citrullinated vimentin antibodies in sera of patients with rheumatoid arthritis	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Mod Rheumatol	6．最初と最後の頁 450-457
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2019.1621439	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 Tabata K, Mikita N, Yasutake M, Matsumiya R, Tanaka K, Tani S, Okuhira H, Jinnin M, and Fujii T	4．巻 31
2．論文標題 Up-regulation of IGF-1, RANTES and VEGF in patients with anti-centromere antibody-positive early/mild systemic sclerosis	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Mod Rheumatol	6．最初と最後の頁 171-176
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2020.1726599	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 Ishikawa Y, Hashimoto M, Ito H, Tanaka M, Yukawa N, Fuji T, Yamamoto W, Mimori T, Terao C	4．巻 49
2．論文標題 Anti-nuclear antibody development is associated with poor treatment response to biological disease-modifying anti-rheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Semin Arthritis Rheum	6．最初と最後の頁 204-210
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.semarthrit.2019.02.003	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 Kuramoto N, Saito S, Fujii T, Kaneko Y, Saito R, Tanaka M, Takada H, Nakano K, Saito K, Sugimoto N, Sasaki S, Harigai M, and Suzuki Y	4．巻 -
2．論文標題 Characteristics of rheumatoid arthritis with immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders to regress spontaneously by the withdrawal of methotrexate and their clinical course: A retrospective, multicenter, case control study	5．発行年 2022年
3．雑誌名 Mod Rheumatol	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） 10.1080/14397595.2021.1879362	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 －

〔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
研究分担者	松宮　遼 (Matsumiya Ryo) (20795372)	和歌山県立医科大学・医学部・助教 (24701)	
研究分担者	藏本　伸生 (Kuramoto Nobuo) (70444461)	和歌山県立医科大学・医学部・講師 (24701)	

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