

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09608

研究課題名(和文) リウマチ性多発筋痛症における発症分子経路の解明及び診断マーカーの開発

研究課題名(英文) Elucidation of pathogenetic molecular pathway and development of diagnostic marker in polymyalgia rheumatica

研究代表者

池田 圭吾 (Ikeda, Keigo)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：40465068

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)：我々が関節リウマチや全身性エリテマトーデスのこれまでの研究で確立した方法によって、病態や診断、治療に関する研究が世界的にみても進んでいないリウマチ性多発筋痛症に着目し、末梢血サンプルを用いたトランスクリプトーム解析を実施。炎症性疾患の側面のみならず、従来指摘されることがない免疫代謝(イムノメタボリズム)や免疫担当細胞の加齢による影響がリウマチ性多発筋痛症の病態や疾患活動性に関係している可能性が見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

元々患者数が少ないために、リウマチ性多発筋痛症は世界的にも十分な研究がなされてきたとは言い難い状況にある。しかし本邦は超高齢化社会に変化したことで、高齢発症の代表的な疾患であるリウマチ性多発筋痛症の患者数が増加傾向にあり、同疾患の詳細な研究を行う機会が到来している。当研究で得られた成果は、炎症性疾患の側面でのみ理解されていたリウマチ性多発筋痛症が、その病態や疾患活動性が免疫代謝や免疫担当細胞の老化に関係していることが見出され、今後同疾患のバイオマーカーや新たな治療方法の開発への糸口として期待される。

研究成果の概要(英文)：By using methods established through our previous research of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus, we focused on polymyalgia rheumatica that the research of pathophysiology, diagnosis, and treatment have not been progressed worldwide, and performed the transcriptome analysis using peripheral blood samples from patients with polymyalgia rheumatica. We found that not only the aspect of inflammatory disease but also immunometabolism and aging immunocompetent cell, which have not been pointed out in the past, may be related to the pathophysiology and disease activity of polymyalgia rheumatica.

研究分野：リウマチ性疾患、膠原病

キーワード：リウマチ性多発筋痛症 トランスクリプトーム解析 バイオマーカー

## 1. 研究開始当初の背景

リウマチ性疾患もしくは膠原病といわれる自己免疫疾患の多くは、20 から 50 歳代の若年を中心とする一方、リウマチ性多発筋痛症 (PMR) は、60 歳以降の高齢者に好発する疾患であり、近年、増加の一途を辿っている。その中で、現行の治療手段であるステロイド治療に抵抗性のある難治症例が多く認められることが明らかになり、加えて、高齢発症関節リウマチ (EORA) との鑑別困難もしくは合併例も認められ、診断・治療の側面で苦慮する。超高齢社会に突入した本邦では新たな診断と治療法が喫緊の課題であるが、元来 PMR の症例数は 10 万人あたり約 1.5 人と少なく、診断や治療の手がかりを求めようにも研究に十分な情報を集約できない状況が続いていたが、本邦の高齢化社会の急速な進展で研究を行う好機が到来していると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、申請者独自手法である「10 名程度の少ない症例数でも有意な結果が得られる、治療前後の血液由来の末梢血単核球を用いたトランスクリプトーム解析 (プロテオーム解析、DNA アレイ解析、マイクロ RNA アレイ解析)」(Ikeda K, BMC Immunol 2017 等) を PMR に適用し、疾患および治療で特異的に変動している遺伝子や免疫担当細胞を同定し、PMR と EORA を区別して診断を講じるとともに、発症の分子経路モデルを提案する。

## 3. 研究の方法

申請者がこれまで行ってきた解析手法・アルゴリズムに則り解析を実施。まず治療前後のデータの比較により、サンプル毎の治療に特異的に変動するタンパク質及び遺伝子群の抽出を行う。続いて同一サンプル結果を用いて、すでに研究室内にストックされている関節リウマチ患者の治療前後のサンプル解析から得られたデータと比較し、PMR 特異的に変動しているタンパク質及び遺伝子群の同定を行った。

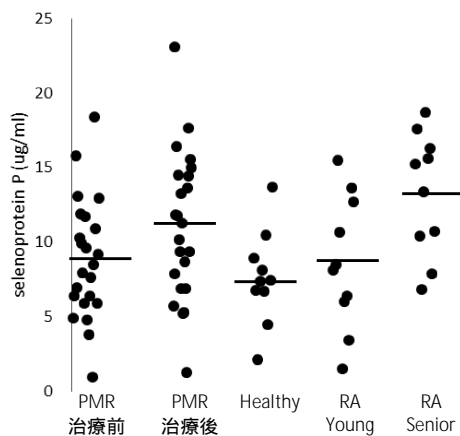
血清を用いたプロテオーム解析において、疾患活動性に相関して、治療前後で増加もしくは減少しているタンパク質を同定。その際、各サンプルが治療前後で同様の変動をしているものを有意な変動と定義した。同定され、変動に有意差を認めた分子に関してプロテオーム解析時と同一の血清を含めて治療前後の PMR 患者血清を用いた ELISA 法で同様の結果が得られるか、そして EORA や比較対象として正常人血清を用いて同様に測定を行った。

PMR 患者の末梢血単核球 (PBMC) から精製抽出した RNA を、DNA マイクロアレイ法及びマイクロ RNA アレイ法で解析し、有意に変動している遺伝子を同定。プロテオーム解析と同様に治療前後で変動している遺伝子の絞り込みを行った。また正常人との比較も同時に行い、有意に変動している遺伝子を同定した。

## 4. 研究成果

(1) 治療前後で炎症に関連した分子が低下していたが、他方代謝制御に関連した分子は増加していることが判明した

治療前後の PMR 患者血清を用いたプロテオーム解析を実施し、治療前後で減少及び増加したタンパク分子を解析した。治療により有意に低下した分子は、CRP や様々な補体など炎症に関連するものがほとんどで、新たに着目すべきものは少なかったが、解析結果が臨床経過と相関していることが示唆され、プロテオーム解析の結果の正しさの裏付けと考えられた。一方、治療後に増加していた分子は様々であったが、その中でも体内の代謝制御に関連し、動脈硬化や糖尿病で着目されているセレン代謝関連タンパク質関連のものが複数認められた。これら代謝に関連した分子は、炎症制御や老化にも関連していることが最近の研究で明らかになってきていることから、PMR の病態や疾患活動性との関連性が考えられた。そこで治療前後での増加変動が有意差をもって認められた分子を ELISA 法で測定したところ、いずれにおいても疾患活動性と相関する変動を認めた。また EORA と異なる傾向を示した（下図）。



以上の結果から、これらセレン代謝に関連したタンパク質が PMR の病態に関与している可能性や、これら分子の測定により PMR の疾患活動性や PMR と EORA との鑑別に有用である可能性が示唆された。

### (2) インターフェロン関連遺伝子群の変動が認められた

PBMC を用いた DNA アレイ法による解析では、PMR と正常人との比較においては特徴的な変動は認められなかったが、治療前後の比較では当初想定と異なり炎症関連のものではなく、*ISG15* などのインターフェロン関連遺伝子群が有意差をもって変動していることが判明した。最近の細胞老化の研究において、老化の終末期に細胞でインターフェロン関連遺伝子群の活性化とインターフェロンの分泌が増加することが明らかとなっていることから (Nakao M, Trends in Cell Biology 2020)、免疫制御としての役割とともに老化に伴う変動が考えられた。

### (3) マイクロ RNA においても疾患活動性と相関する変動を認めた

DNA アレイ法と同様に PBMC を用いた実施したマイクロ RNA 法では、治療前後の変動比較で有意差を認めた *let-7e* 等の複数のマイクロ RNA が明らかになった。いずれも癌関連での解析報告が多いが、その他アルツハイマー病等の神経変性疾患での報告も多く、いずれのマイクロ RNA も加齢に伴う変化に影響されたものである可能性が考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Suzuki S, Ikeda K, Yamaji K, Tamura N, Morimoto S.	4. 巻 Feb 25
2. 論文標題 Recurrence in long-term survivor of anti-MDA5 antibody-positive clinically amyopathic dermatomyositis: case series and literature review.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol Case Rep.	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） 10.1080/24725625.2021.1886666.	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 Kogami M, Suzuki S, Nanjo Y, Ikeda K, Tamura N, Sasaki S, Morimoto S.	4. 巻 4(2)
2. 論文標題 Complication of COVID-19 during remission induction therapy against anti-MDA5 antibody positive dermatomyositis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatol Adv Pract.	6. 最初と最後の頁 rkaa068
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rap/rkaa068.	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 Yoshida Y, Hayakawa K, Fujishiro M, Ikeda K, Tsushima H, Hirai T, Kawasaki M, Tominaga M, Suga Y, Takamori K, Sekigawa I, Morimoto S.	4. 巻 529(4)
2. 論文標題 Social defeat stress exacerbates atopic dermatitis through downregulation of DNA methyltransferase 1 and upregulation of CC motif chemokine receptor 7 in skin dendritic cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 1073-1079
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.06.157.	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 Matsuoka Y, Morimoto S, Fujishiro M, Hayakawa K, Kataoka Y, Suzuki S, Ikeda K, Takamori K, Yamaji K, Tamura N.	4. 巻 Aug 5
2. 論文標題 Metformin repositioning in rheumatoid arthritis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Exp Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Hayakawa K, Kawasaki M, Hirai T, Yoshida Y, Tsushima H, Fujishiro M, Ikeda K, Morimoto S, Takamori K, Sekigawa I.	4. 巻 20
2. 論文標題 MicroRNA-766-3p Contributes to Anti-Inflammatory Responses through the Indirect Inhibition of NF- B Signaling.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 809
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20040809	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 Suzuki S, Ogiwara K, Nishi T, Sakuma S, Akira M, Iwasaki M, Honda D, Takahara H, Ikeda K, Yamaji K, Tamura N, Rinno H, Morimoto S.	4. 巻 3
2. 論文標題 A Case of MPO-ANCA Positive Systemic Lupus Erythematosus Developed into Acute Kidney Injury.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arch Clin Med Case Rep.	6. 最初と最後の頁 560-566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26502/ACMCR.96550134	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8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小神昌寛、篠浦まりな、鈴木 智、大熊智子、南條友央太、池田圭吾、佐々木信一、森本真司
2. 発表標題 抗MDA5抗体陽性間質性肺炎合併皮膚筋炎の寛解導入療法中に新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) を併発した一例
3. 学会等名 第48回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 芳田祐子、早川国宏、藤城真樹、池田圭吾、森本真司、渡辺恵史、関川巖
2. 発表標題 アトピー性皮膚炎における樹状細胞のDNAメチル化変動
3. 学会等名 第64回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松岡遊貴、藤城真樹、早川国宏、鈴木智、池田圭吾、森本真司、山路健、田村直人
2. 発表標題 関節リウマチにおけるメトホルミンのdrug repositioningの可能性の検討
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 芳田祐子、早川国宏、藤城真樹、池田圭吾、森本真司、渡辺恵史、関川巖
2. 発表標題 皮膚樹状細胞におけるDNAのメチル化機能不全による炎症誘導機構の解析
3. 学会等名 日本薬学会第104年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤岡進也、浅沼優子、鈴木智、池田圭吾、森本真司
2. 発表標題 膀胱直腸障害を呈した好酸球性多発血管炎性肉芽腫症の1例
3. 学会等名 第658回日本内科学会関東地方会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 早川国宏、藤城真樹、芳田祐子、片岡裕子、松岡遊貴、作間渉太、西卓也、池田圭吾、森本真司、関川巖
2. 発表標題 Continuous transcutaneous sensitization of TLR7 agonists induce dominantly.
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 早川国宏、川崎美紀子、藤城真樹、芳田祐子、池田圭吾、森本真司、関川巖
2. 発表標題 関節リウマチ治療前後で変動する血液循環miRNAの一つであるmiR-766-3pは、滑膜細胞において抗炎症作用を示す
3. 学会等名 第6回JCRベーシックリサーチカンファレンス
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部晃三、池田圭吾、森本真司、関川巖、田村直人
2. 発表標題 関節リウマチ患者におけるメトトレキサート効果不十分症例に対する新たな3剤および2剤併用療法についての検討：インピトロ及び臨床試験による検討
3. 学会等名 第40回日本炎症・再生医学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

researchmap <a href="https://researchmap.jp/read0162212">https://researchmap.jp/read0162212</a> 順天堂大学研究者情報データベース <a href="https://www.juntendo.ac.jp/graduate/kenkyudb/search/researcher.php?MID=1408">https://www.juntendo.ac.jp/graduate/kenkyudb/search/researcher.php?MID=1408</a> 順天堂大学大学院医学研究科環境医学研究所 自己免疫疾患の研究 <a href="https://research-center.juntendo.ac.jp/kankyo_igaku/result/g6/">https://research-center.juntendo.ac.jp/kankyo_igaku/result/g6/</a> 順天堂大学大学院環境医学研究所関川グループ <a href="https://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labokankyo_igaku/k4_sekigawa.html">https://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labokankyo_igaku/k4_sekigawa.html</a>
--

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	柳田 光昭  (Yanagida Mitsuaki)  (80365569)	順天堂大学・大学院医学研究科・准教授    (32620)	

6. 研究組織（つづき）

	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	佐藤 実  (Sato Minoru)  (90162487)	産業医科大学・産業保健学部・教授    (37116)	

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