

令和 4 年 4 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16973

研究課題名(和文) 関節リウマチの治療反応性予測バイオマーカーの確立と治療抵抗性機序の解明

研究課題名(英文) Mechanism-based biomarker discovery of rheumatoid arthritis treatment response

研究代表者

永淵 泰雄 (Nagafuchi, Yasuo)

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：20792279

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチ(RA)患者の治療反応性を予測する免疫学的な予測因子の同定を試みた。新規治療を開始する高疾患活動性RA患者の末梢血免疫細胞分画の網羅的な遺伝子発現RNA-seqデータを解析し、治療抵抗性と最も強く関連したのは、長期罹患と関わる樹状細胞前駆細胞(pre-DC)遺伝子群であることを同定した。別個の遺伝子発現解析コホート、免疫細胞集団解析コホートでもpre-DC増加と治療抵抗性との関連が再現された。また、pre-DC遺伝子群は治療反応性に関連するインターフェロン経路と負に相関し拮抗的に作用することが示唆された。pre-DCは治療抵抗性RAの病態に関わる可能性があると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物学的製剤やJAK阻害薬の臨床利用によって、関節リウマチ患者の治療は大きな進歩を認めた。しかし、治療反応性には個々の症例による差が大きく、十分な治療効果を認めない難治症例の存在が問題となっている。本研究では、生物学的製剤やJAK阻害薬を使用開始する関節リウマチ患者の治療反応性を予測する免疫学的なバイオマーカーの同定を行った。本成果は、関節リウマチ患者の治療抵抗性の免疫学的な病態解明に貢献するのみならず、関節リウマチ患者の治療の適正化や、いわゆる"precision medicine"の実現にも貢献する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：To identify immunological biomarkers that predict treatment responses of rheumatoid arthritis (RA), we analyzed peripheral blood immune cell subset gene expression RNA-seq data. A gene module reflecting the expansion of precursor dendritic cells (pre-DC) showed the strongest association with treatment resistance. Elevated pre-DC gene module was clinically related to longer disease duration. The association between elevated pre-DC and treatment failure was validated in two independent cohorts of gene expression and immune cell frequency analyses. Pre-DC gene was negatively correlated to interferon gene signaling, suggestive of antagonistic roles between them. In conclusion, we have identified pre-DCs as a candidate immune cells that could be related to treatment resistance in RA.

研究分野：医学、リウマチ膠原病学

キーワード：関節リウマチ 治療反応性 樹状細胞前駆細胞 トランスクリプトーム解析 インターフェロン

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチは国内患者数約 70 万人と推定される代表的なリウマチ性疾患である。炎症性の関節炎とリウマトイド因子や抗 CCP 抗体に代表される自己免疫反応が特徴である。関節リウマチの重症度は症例によって多様であり、無治療でも軽度の炎症にとどまる軽症者が存在する一方、短期間に関節破壊が進行し、ADL や QOL に大きな障害を起こすことも多い。現在、メトトレキサートを治療のアンカードラッグとして治療の基礎に据え、その効果が不十分な場合には生物学的製剤、即ち TNF- α 、IL-6 受容体といった炎症性サイトカインや T 細胞共刺激分子 (CTLA4) を標的とした抗体製剤、また炎症性サイトカイン下流のシグナル伝達を阻害する低分子化合物である JAK 阻害薬を使用する治療が日本リウマチ学会、また欧州および米国リウマチ学会の治療ガイドライン上推奨されている。これらの治療により、関節炎症状や骨破壊の進行は大きく改善するものの、いずれの治療においても臨床症状の 50%改善を示す ACR50 達成率は 40~50%程度にとどまり、約半数の患者では治療効果は十分ではない。更に、個別の患者における治療効果を十分に予測する因子は同定されていない。生物学的製剤や JAK 阻害薬の治療によって感染症などの合併症を起こす症例も多く、関節リウマチの個別化医療の確立に向けて、治療前の段階でその治療効果を予測するバイオマーカー研究の進展が望まれている。

2. 研究の目的

本研究において、生物学的製剤や JAK 阻害薬を使用開始する高疾患活動性関節リウマチ患者の治療反応性を予測する免疫学的なバイオマーカーの同定とその免疫学的機序の解明を目的とする。

3. 研究の方法

55 名の高疾患活動性関節リウマチ患者で生物学的製剤及び JAK 阻害薬を開始する患者において 18 の末梢血免疫細胞サブセットについてフローサイトメトリーによるソートを行い、RNA-seq による網羅的な遺伝子発現解析を実施した既存データを活用し解析した。対象としたのは T 細胞 B 細胞、単球それぞれの分画および、NK 細胞、好中球である。これらの膨大な発現データを WGCNA の手法を用いて次元圧縮することで、治療後の治療抵抗性と最も強く関連し予測能に優れたベースライン時点における遺伝子 module の探索を行った。治療開始後 6 ヶ月の CD4150 未達成を治療抵抗性例として定義した。遺伝子発現解析及びフローサイトメトリーを用いて、着目した遺伝子 module と対応する細胞集団を検討した。1 つ目の再現コホートとして、19 名の高疾患活動性関節リウマチ患者の末梢血免疫細胞サブセットを分取し、治療抵抗性と関連した遺伝子発現を qRT-PCR で測定し再現性を検証した。また別個の生物学的製剤開始前の関節リウマチ患者の末梢血マスサイトメトリーデータを活用し、ベースラインでの免疫細胞分画の比率と治療後の治療抵抗性の関連を検討した。

4. 研究成果

各免疫細胞のトランスクリプトームデータを用いて作成した遺伝子 module のうち、治療抵抗性と最も強く関連し予測能に優れるのは形質芽細胞様樹状細胞 (pDC) 分画に含まれる樹状細胞前駆細胞 (pre-DC) 遺伝子 module であることを同定した。フローサイトメトリーを用いて、CD123 などの細胞表面マーカーを共有する pre-DC が pDC 分画中に含まれることを確認した。Pre-DC module の遺伝子発現は、deconvolution の手法を用いて RNA-seq データから推定された pre-DC 分画の比率と有意な正の相関を認め、pre-DC 分画の比率を反映すると考えられた。Pre-DC module は既存の臨床的な予後マーカーである抗 CCP 抗体よりも、治療予後予測能に優れていた。また別個の遺伝子発現解析 (qRT-PCR) コホートにおいても、pre-DC 関連遺伝子が治療抵抗例で有意に発現上昇していることが確認された。

臨床情報との関連解析を実施することで、pre-DC 遺伝子 module の発現亢進が関節リウマチの長期罹患と関わるものの、疾患活動性や抗 CCP 抗体とは相関を認めないことが分かった。さらに、pre-DC module と遺伝子発現データとの関連解析によって、治療抵抗性と関連する pre-DC 遺伝子 module が治療反応性に関連することが報告されているインターフェロン経路と負に相関し、両者が拮抗的に作用することが示唆された。

マスサイトメトリー免疫細胞集団解析コホートにおいて、治療抵抗群と治療反応群では末梢血の T 細胞や B 細胞などのクラスター比率には有意な差を認めなかった。しかし、治療抵抗群では治療開始前の pre-DC 比率の再現性を持った上昇を認めた。

本成果は、pre-DC が関節リウマチ患者の治療抵抗性の免疫学的な病態に関連することを示唆するものである。関節リウマチ患者を治療予後が良好なインターフェロン経路が亢進した一群

と、治療予後不良の pre-DC 増加に特徴づけられる一群に免疫学的に分類出来る可能性がある。一方で pre-DC の増加がどのような機序で治療抵抗性に関わるかは本データからは明確ではなく、さらなる検討が必要である。また治療前の末梢血 pre-DC の増加がその後の治療予後不良因子であるため、末梢血の pre-DC をバイオマーカーとして用いることで関節リウマチ患者の個別化医療の実現にも貢献する可能性がある。

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 Nagafuchi Y, Yanaoka H, Fujio K.	4. 巻 -
2. 論文標題 Lessons from transcriptome analysis of autoimmune diseases.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Immunol.	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） なし	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6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yamada Saeko, Nagafuchi Yasuo, Ota Mineto, Takeshima Yusuke, Hatano Hiroaki, Iwasaki Yukiko, Sumitomo Shuji, Okamura Tomohisa, Shoda Hirofumi, Yamamoto Kazuhiko, Fujio Keishi
2. 発表標題 Immune cell profiling of rheumatoid arthritis identified plasmablast pathways as key correlates with treatment resistance
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 山田 紗依子, 永淵 泰雄, 太田 峰人, 竹島 雄介, 波多野 裕明, 大久保 麻衣, 小林 聖未, 杉森 祐介, 中野 正博, 吉田 良知, 岩崎 由希子, 住友 秀次, 岡本 僚久, 庄田 宏文, 山本 一彦, 藤尾 圭志
2. 発表標題 関節リウマチの免疫細胞プロファイリングによる治療予後関連遺伝子ネットワークの探索
3. 学会等名 第48回日本臨床免疫学会総会プログラム・抄録集
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamada Saeko, Nagafuchi Yasuo, Ota Mineto, Hatano Hiroaki, Kawamura Akito, Iwasaki Yukiko, Shoda Hirofumi, Kubo Kanae, Shimane Kenichi, Satoguchi Keigo, Azuma Takanori, Yamamoto Kazuhiko, Okamura Tomohisa, Fujio Keishi
2. 発表標題 Immunomics analysis of rheumatoid arthritis identified pre-dendritic cells as a key cell subset of treatment resistance
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田 紗依子, 永淵 泰雄, 太田 峰人, 波多野 裕明, 岩崎 由希子, 庄田 宏文, 久保 かなえ, 島根 謙一, 瀬戸口 京吾, 東 孝典, 山本一彦, 岡村 僚久, 藤尾 圭志
2. 発表標題 関節リウマチの免疫細胞プロファイリングによる治療抵抗性予測因子としての樹状細胞前駆細胞(pre DC)の同定
3. 学会等名 第49回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamada Saeko, Nagafuchi Yasuo, Ota Mineto, Hatano Hiroaki, Shoda Hirofumi, Kubo Kanae, Shimane Kenichi, Satoguchi Keigo, Azuma Takanori, Yamamoto Kazuhiko, Okamura Tomohisa, Fujio Keishi
2. 発表標題 Immunomics analysis of rheumatoid arthritis identified pre-dendritic cells as a key cell subset of treatment resistance.
3. 学会等名 第50回日本免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田紗依子, 永淵泰雄, 太田峰人, 波多野裕明, 土田優美, 庄田宏文, 久保かなえ, 島根謙一, 瀬戸口京吾, 東孝典, 山本一彦, 岡村僚久, 藤尾圭志
2. 発表標題 関節リウマチの免疫細胞の網羅的探索による治療抵抗性予測因子としての樹状細胞前駆細胞(pre-DC)の同定
3. 学会等名 第119回日本内科学会総会・講演会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------