

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09433

研究課題名(和文) CD30阻害療法による実験的関節炎モデルマウスの関節破壊抑制効果の検討

研究課題名(英文) CD30 targeted therapy induces apoptosis of inflammatory cytokine-stimulated synovial fibroblasts and ameliorates collagen antibody-induced arthritis in mice

研究代表者

西田 圭一郎 (Nishida, Keiichiro)

岡山大学・医歯薬学域・准教授

研究者番号：80284058

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)：変形性関節症患者および関節リウマチ患者の滑膜組織に対し免疫染色にてCD30の発現を検討し、RA患者滑膜で、CD30の高発現を認めた。蛍光二重免疫染色ではCD30は形質細胞、B細胞、滑膜線維芽細胞(FLS)での発現を認めた。FLSをTNF及びIL-1で刺激すると、CD30の発現の増加が確認された。コラーゲン抗体誘導関節炎マウスにブレンツキシマブ・ベドチン(BV)の投与を行ったところ、高濃度投与群で関節炎が抑制された。RAの炎症性滑膜組織では形質細胞や滑膜線維芽細胞にCD30が発現しており、BV投与によりCD30発現細胞にアポトーシスが誘導され、滑膜増殖を抑制す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

関節リウマチの滑膜組織において、CD30が高発現していることを初めて示した。特に滑膜線維芽細胞は炎症性サイトカイン刺激によってCD30を高発現することがわかった。リンパ腫の治療に用いられるブレンツキシマブ・ベドチンは、コラーゲン誘導関節炎モデルマウスの関節炎を高用量で抑制した。従来の抗リウマチ薬で効果不十分な患者や、医原性リンパ増殖性疾患を併発して治療手段の限られる患者において、CD30を標的とした治療が有効である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：CD30 expression was significantly higher in samples from patients with rheumatoid arthritis (RA) than from those with osteoarthritis (OA). Double immunofluorescence showed a low rate of co-localization of CD30 with CD20 or CD90, but a high rate of co-localization of CD30 and CD138. CD30 mRNA expression was upregulated 11.7-fold in fibroblast-like synoviocytes (FLS) following stimulation by inflammatory cytokines. The clinical scores of CAIA mice were significantly lower following both BV treatments, however, the histological scores of CAIA mice were significantly lower only following treatment with high dose BV (70 mg/kg).

研究分野：整形外科学

キーワード：関節リウマチ CD30 ブレンツキシマブ・ベドチン アポトーシス コラーゲン抗体誘導関節炎モデル滑膜線維芽細胞

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。

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ (RA) は、人口の約 1%が罹患する全身性の自己免疫疾患であり、滑膜組織の慢性炎症と進行性の骨・関節破壊を特徴とする。過去 20 年間、RA の治療法は大きく進歩し、疾患活動を効果的に抑制する生物学的小および標的型疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARD) が臨床応用され、患者の QOL は劇的に改善した。しかし、従来の DMARD 治療に反応しない RA 患者のうち、約 3 分の 1 は腫瘍壊死因子 (TNF) 阻害剤に対する反応も不十分であることが分かっている [3]。TNF 阻害剤以外の生物学的小 DMARD には、IL-6 受容体阻害剤、T 細胞共刺激シグナル阻害剤などがあるが、最初の TNF 阻害剤で十分な効果が得られなかった後、2 剤目の非 TNF 阻害剤で良好または中程度の EULAR 反応を示す患者は 69%にとどまる。従って異なる作用機序を持つ新規の有効な薬剤の開発が依然として必要である。

一方、関節リウマチ (RA) 治療中に発生する医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患 (LPD) に関して、発現数の増加や RA 治療薬の影響が注目されている。本邦におけるその患者数、発症率、背景因子、は未だ不明で調査が始まったばかりである。医原性 LPD の発症機序は明らかでないが、加齢あるいは免疫老化、RA に伴う免疫異常、EBV 感染、MTX をはじめとする治療薬の免疫抑制効果など T 細胞機能低下が引き金であると考えられている。

そこで我々はリンパ腫の治療ターゲットとなっている CD30 に着目した。CD30 は TNF receptor super family member の属する 1 型膜貫通型受容体の一つでありシグナル伝達によって I- κ B のリン酸化によって NF- κ B を活性化し、サイトカイン分泌とともに炎症の調整、細胞の生存や増殖の促進など幅広い生物学的小効果を持つ (CA van der Weyde, et al.2017)。一般に CD30 は EBV, HCV, HTLV-1 などウイルスに感染した細胞、活性化したリンパ球や組織球、血液系悪性腫瘍に発現している他、一部の自己免疫疾患との関連も指摘されている。過去の報告で、RA 患者の関節液及び血清中の可溶性 CD30 が高値であったことが判明しているが、CD30 がどの細胞に発現しているのか、RA の病態との関連性があるかなど詳細はわかっていない。もし CD30 が RA の病態に関与し、反応性 B 細胞や形質細胞に CD30 の発現が増加しているのであれば、CD30 に対する治療は、これらの細胞の活性化抑制により自己抗体産生を抑制し、抗原抗体複合体によって活性化されるマクロファージおよび炎症性サイトカイン発現を抑制することで RA 疾患活動性をコントロールできる可能性がある。

ブレンツキシマブベドチン (BV) は CD30 を標的とした抗体薬物複合体であり、ホジキンリンパ腫、未分化大細胞リンパ腫に対して本邦でも承認されすでに臨床使用されている。BV が RA の関節炎・関節破壊に有効であることが示されれば、B 細胞をターゲットとした RA に対する新しい治療薬開発の一助となるばかりでなく、医原性 LPD を発症した後の難治性 RA 患者に対する有効な治療法としての選択肢を与えることが可能となる。

2. 研究の目的

関節リウマチ (RA) の病態を形成する可能性のある分子の一つとして CD30 に着目した。まず、RA 患者から手術中に得られた滑膜組織を用いて、CD30 の発現細胞・発現率を検討する。次いですでにリンパ腫治療に用いられており、CD30 を標的とした抗体薬物複合体であるブレンツキシマブベドチン (BV) を用いて、実験的関節炎モデルマウスに対する BV の効果を検討する。最後に *in vitro* で、BV が CD30 発現細胞に与える影響を調べ、BV による関節炎抑制機序を検討する。BV が実験的モデルマウスの関節炎・関節破壊抑制に有効であることが示されれば、B 細胞をターゲットとした RA に対する新しい治療薬開発の一助となるばかりでなく、現在臨床現場で問題となっている医原性リンパ増殖性疾患発症後の RA 治療としても有用な選択肢となる可能性がある。

3. 研究の方法

RA または変形性関節症 (OA) の患者から手術中に採取した滑膜組織サンプルを用いて、CD30 の発現と局在を免疫組織化学的および二重免疫蛍光法により検討した。TNF α および IL-1 β 刺激による、RA 患者の線維芽細胞様滑膜細胞 (FLS) の CD30 発現の変化をポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) およびフローサイトメトリーにより検討した。コラーゲン抗体誘発関節炎 (CAIA) を DBA/1 マウスで作成し、臨床スコア、組織学的所見、血清中の SAA、IL-6、TNF α レベルの測定により、brentuximab vedotin (BV) の治療効果を調べた。

4. 研究成果

CD30 発現量は OA 患者より RA 患者のサンプルで有意に高かった。二重免疫蛍光法では、滑膜組織で CD30 は形質細胞、B 細胞、滑膜線維芽細胞での発現を認めた。CD30 と CD20、CD90 の共局在率は低い、CD30 と CD138 の共局在率は高かった。FLS における CD30 の mRNA 発現は、炎症性サイトカインによる刺激により 11.7 倍に上昇し、フローサイトメトリーでは CD90 でゲーティングした細胞において、サイトカイン刺激により CD30 陽性率が増加した。CD30 発現細胞をアポトーシスへ誘導することのできる抗 CD30 抗体薬物複合体であるプレントキシマブベドチン (BV) を FLS に投与しカスパーゼアッセイを行うと、サイトカイン刺激のないものではアポトーシスはほとんど誘導されなかったが、サイトカイン刺激を行なった FLS ではアポトーシスを認めた。CAIA マウスの組織学的炎症・関節破壊スコアは、高用量 BV (70mg/kg) 投与後のみ有意に低下した。高濃度投与群では関節破壊の臨床スコアが有意に低下し、血清中の SAA も低値であり炎症が抑制されていることを示していた。

CD30 は、RA 患者の滑膜組織および *in vitro* のサイトカイン刺激後の形質細胞や滑膜線維芽細胞といった免疫担当細胞上に発現した。これらの細胞に発現する CD30 および sCD30 は、抗 CD30 療法のターゲットとなる可能性がある。BV 投与により CD30 発現細胞にはアポトーシスが誘導され、滑膜増殖による関節破壊を抑制する可能性があることを示唆した。一方、高用量の BV (70 mg/kg) は CAIA マウスの関節炎の重症度を有意に抑制し、組織学的所見を改善したが、ヒト臨床用と同等の低用量 BV (30 mg/kg) の効果は十分でなかった。RA 実験モデルにおける CDL/CD30 標的療法の有効性を検討するためには、さらなる研究が必要である。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsuhashi M, Nishida K, Sakamoto M, Gion Y, Yoshida A, Katsuyama T, Nakahara R, Nasu Y, Matsumoto Y, Sato Y, Ozaki T.	4. 巻 71
2. 論文標題 CD30-targeted therapy induces apoptosis of inflammatory cytokine-stimulated synovial fibroblasts and ameliorates collagen antibody-induced arthritis in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Inflammation Research	6. 最初と最後の頁 215, 226
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00011-021-01537-z	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松橋 美波、西田 圭一郎、渡辺 雅仁、木曾 洋平、中原 龍一、那須 義久、尾崎 敏文
2. 発表標題 CD 30 をターゲットとした新規リウマチ治療の検討
3. 学会等名 第93回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松橋 美波、西田 圭一郎、渡辺 雅仁、木曾 洋平、中原 龍一、那須 義久、尾崎 敏文
2. 発表標題 CD 30をターゲットとした関節リウマチ新規治療の検討
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 Matsuhashi M, Nishida K, Nasu Y, Nakahara R, Watanabe M, Hotta Y, Ozaki T
2. 発表標題 Anti-CD30 immunotherapy ameliorates bone and cartilage destruction in experimental model of rheumatoid arthritis in mice
3. 学会等名 EULAR 2020
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Scientific Abstracts Poster Presentations
https://ard.bmj.com/content/79/Suppl_1/935.1

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	佐藤 康晴 (Sato Yasuharu) (00579831)	岡山大学・保健学域・教授 (15301)	

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