

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06667

研究課題名（和文）バセドウ病眼症ステロイド治療向上のための新しい病態マーカーの確立

研究課題名（英文）Establishment of new biomarker for improving steroid treatment of Graves' ophthalmopathy

研究代表者

松澤 和彦（MATSUZAWA, Kazuhiko）

鳥取大学・医学部・助教

研究者番号：50631321

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：バセドウ病眼症の活動性を正確に反映する血清バイオマーカーを検索するために、ステロイド治療を実施に行った症例の治療前血清を保存し、高深度DIAプロテオーム解析をresponder6例、Non-responder4例を用いて行い、TGF $\beta$ 、VTN、GRN、inhibin beta、HPSE、CAH1、CAH2、FGL2を新たなBiomarker候補に同定した。

さらにステロイドを実施した症例の治療前血清で検証し、CAH1、FGL2はBiomarkerとして再現性、精度ともに良好な結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で同定された新しいBiomarker候補により治療前にステロイド治療の奏功性を予測することができる可能性が示唆された。診療上の問題点であった低い奏功率、高頻度の副作用を低減でき、診療の質向上につながる可能性がある。血清を検体とすることで安定した検体採取ができることも有用である。

さらに、昨今バセドウ病眼症に対して新たな治療が次々と出現しており、近日中にも保険診療で投薬可能な薬剤がある。本研究でのBiomarkerでステロイド奏功性が低いことが予想される場合には他の薬剤を使用するなど治療方針決定の一助となり得る可能性もあり、学術的、社会的意義は高いものとする。

研究成果の概要（英文）：To search for serum biomarkers that accurately reflect the activity of Graves' ophthalmopathy, pre-treatment sera from steroid-treated patients were stored, and high-depth DIA proteome analysis was performed using 6 responder and 4 non-responder cases, VTN, GRN, inhibin beta, HPSE, CAH1, CAH2, and FGL2 were identified as new Biomarker candidates.

The results were further validated in pretreatment serum of steroid-treated patients, and CAH1 and FGL2 were identified as Biomarker candidates with good reproducibility and accuracy.

研究分野：内分泌代謝内科

キーワード：バセドウ病眼症 血清バイオマーカー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

バセドウ病眼症はバセドウ病に合併する。重症例では眼球突出による角膜潰瘍や視神経圧迫による視力低下・失明に至ることがある病態である。他にも外眼筋障害による複視では生活の質を著しく障害し、整容上の問題も大きい。治療は活動期にステロイドパルスが効果的であるが、診療上の問題点として奏効率は不十分で副作用を高頻度に認める。バセドウ病眼症の活動期を評価する指標としては主観的で定性的な臨床スコア (CAS) のみであるため、活動性の評価が正確にできていないこと、奏効率が低くかつ、不要な副作用を生じていると考えられる。

### 2. 研究の目的

バセドウ病眼症に対するステロイドパルス奏効率の上昇、不要な副作用回避を最終的な目的とした。そのためには、正確な活動性評価が必要である。従来 CAS に代わり、客観的かつ定量的な、バセドウ病眼症活動性の Biomarker の確立を本研究の目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 研究開始時の取り組み

本研究開始前にすでに Biomarker 候補としていた涙液の核酸代謝物 (Guanosine, Inosine, Uridine, Uric Acid) の測定及び甲状腺自己抗体を実施する予定であったが、バセドウ病眼症患者の涙液採取について、下眼瞼からマイクロキャピラリーを用いて採取したが、眼球突出が強い症例や涙液低下症例からは十分な検体を確保できなかった。またシルマー試験紙に涙液をしみこませ採取を試みるもやはり安定した検体確保ができず、断念した。

#### (2) 研究成果に結びついた取り組み

従来の活動性評価にて活動期バセドウ病眼症と診断し、ステロイドパルス療法を実施した症例を対象として半年後の治療反応性に応じて Responder (6 例), non-Responder (4 例) に群分けした。両群の治療開始前血清を用いて高深度 DIA プロテオーム解析を実施し、発現に差のあったタンパク (DEPs) を Biomarker 候補と特定した。Biomarker 候補について解析対象を Responder (10 例), non-Responder (15 例) に増やし、治療前血清を用いて Elisa 法にて検証した。

### 4. 研究成果

#### (1) 高深度 DIA プロテオーム解析

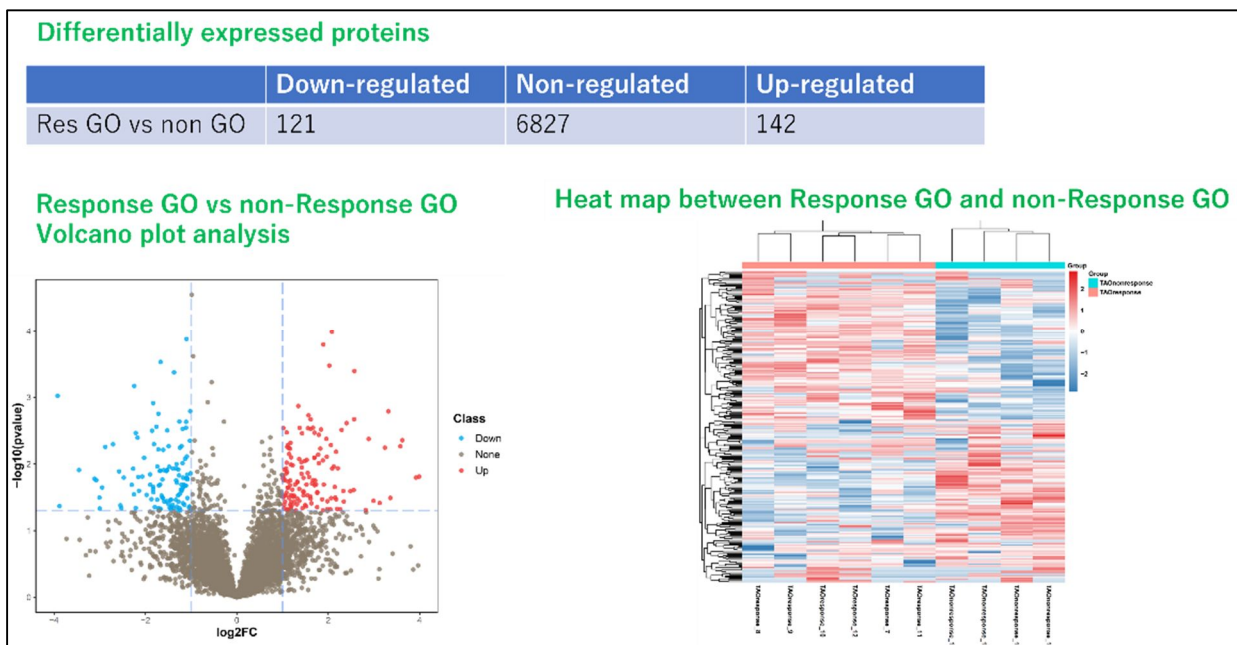


図 1. 高深度 DIA プロテオーム解析. Responder、non-Responder で発現の異なったタンパク数 (上段). Volcano plot (下段左) Heat map (下段右).

DEPs は Responder 群で Down-regulate されたものが 121、Up-regulate されたものが 142 同定された。そのうち、免疫グロブリンを除外した。また、もともと症例数が少ないため、対象 10 検体中 8 検体以下で解析された DEPs も除外した。Fold Change、PPI (protein-protein interaction) や過去にバセドウ病眼症あるいは甲状腺疾患・眼疾患との関与が報告されている分子を Biomarker 候補とした。結果、TGF $\beta$ 、Vitronectin (VTN)、Progranulin (GRN)、inhibin beta、Heparanase (HPSE)、Carbonic anhydrase1 (CAH1)、Carbonic anhydrase2 (CAH2)、Fibroleukin (FGL2) を Biomarker 候補に同定した。

## (2) 検証的研究

上記 Biomarker 候補のうち、FGL2, CAH1, TGF beta, VTN に対して症例をさらに集積し Responder 10 例、non-Responder 15 例として Elisa を実施。結果、いずれの分子も DIA プロテオーム解析時と同様の傾向を示し、かつ FGL2, CAH1 に関しては群間に有意差を認めた。これら 2 つの分子はバセドウ病眼症のステロイド治療奏功性の予測マーカーと考える。また、他のバイオマーカー候補についても、検証的研究においても依然少数例を対象とした検証にすぎず、さらに症例数を集積した上で再度評価する。

これまで長い間、バセドウ病眼症の治療はステロイド治療のみであった。しかし、現在多くの有効な治療薬が開発されつつある。すでに日本で第三相治験を終了し、近日中に IGF1 受容体阻害薬は保険承認される見込みが高い。他にも複数の薬剤が治験段階に至っている。今後バセドウ病眼症の治療選択肢は飛躍的に増加するものと考えられる。その際に、治療奏功性を事前に予測することは非常に重要な治療選択の手段となり得る。本研究ではステロイド治療に特化して治療奏功性を予測しているが、同様の手法を今後治療可能となった薬剤に対して同様の手法を用いることで適切な治療を選択できるといった展開が期待できるものである。

今後ステロイド治療を実施する症例に対してまた、新規治療薬が使用可能となった際にはこれらの症例に対しても、治療前に CAH1, FGL2, さらに今回バイオマーカー候補となった分子を測定し前向きにデータを集積し、バイオマーカーとしての確立を目指す。

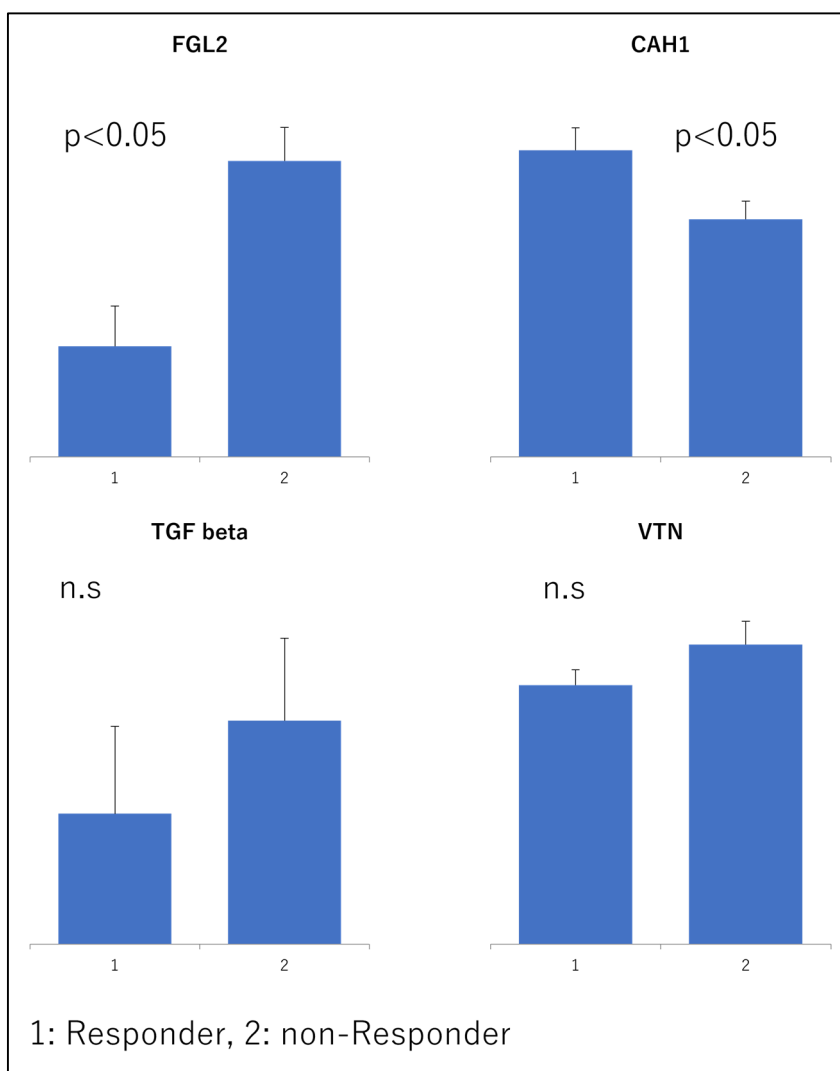


図 2. バイオマーカー候補に対する検証的研究. ELISA 法で検証

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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	長田 佳子  (NAGATA Keiko)  (50304209)	鳥取大学・医学部・講師    (15101)	

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