

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591449

研究課題名(和文) 膠原病諸疾患におけるアディポカインネットワークの解明

研究課題名(英文) Adipokine network in systemic autoimmune diseases

研究代表者

川合 眞一 (KAWAI, Shinichi)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：70129401

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪細胞が分泌するサイトカインなどの生理活性物質はアディポカインと呼ばれ、申請者らはその炎症性疾患との関わりに注目してきた。既に前の科研費によりアディポネクチンの関節リウマチ滑膜細胞における炎症促進効果を明らかにしたが、今回の研究では、膠原病諸疾患における種々の血清アディポカイン濃度や、ヒト組織を用いた検討により、代謝領域では糖代謝を悪化させるアディポカイン、または是正するアディポカインが、膠原病ではいずれも炎症を促進させる可能性が示唆された。膠原病諸疾患におけるアディポカインネットワークのさらなる解明には、今後の詳細な研究が必要である。

研究成果の概要(英文)：Adipokines are molecules produced by adipose tissue. We have found that adiponectin, an adipokine stimulates inflammation in rheumatoid synovial fibroblasts. In this study, we measured serum adipokine concentrations in patients with systemic connective tissue diseases. We also conducted in vitro studies by primary cultures of rheumatoid synovial fibroblasts or peripheral blood mononuclear leukocytes. Not only pro-hyperglycemic but also anti-hyperglycemic adipokines showed a pro-inflammatory property in the patients with systemic connective tissue diseases. Further investigations will be needed to clarify the roles of adipokine network in pathogenesis of systemic autoimmune diseases.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、膠原病・アレルギー内科学

キーワード：膠原病 アディポカイン レジスチン アディポネクチン レプチン ケメリン

### 1. 研究開始当初の背景

脂肪組織はさまざまな生理活性物質であるアディポカインを分泌するホルモン臓器として機能しており、リウマチ性疾患における役割も申請者らの報告(前述)を含めて明らかにされつつある。アディポカインとしてはレプチン、アディポネクチン、レジスチン、ビスファチンなどの分子が注目されているが、腫瘍壊死因子(TNF) やインターロイキン(IL)-1などの炎症性サイトカインも同様に脂肪細胞から分泌されていることが知られている。

一般に炎症性サイトカインは糖・脂質代謝の領域ではインスリン抵抗性を惹起するのに対し、アディポネクチン、レプチン、ビスファチンなどはインスリン感受性増強作用を有する善玉アディポカイン(Rosen ED et al. Nature 2006;444:847-853)とされてきた。申請者らは、昨年度までの科研費により、関節リウマチ(rheumatoid arthritis, RA)滑膜細胞局所では、生理学的濃度のアディポネクチンは、TNF や IL-1 などと同様に、IL-8 (Biochem Biophys Res Commun 2009;378:218-223) や、プロスタグランジン E2 (Arthritis Rheum 2010;62:1641-1649) 産生の増加を介して炎症促進に働いていることを明らかにした。このアディポネクチンの例でも明らかのように、糖・脂質代謝と炎症におけるアディポカインの役割には種類によって相互に大きな違いがあることが示唆された。

申請者らは、以前より RA や全身性エリテマトーデスなどの膠原病の診療を行い、さまざまな臨床試験に関わってきた。一方では、手術時に得られた滑膜組織を利用した生物学的または薬理学的研究を行ってきた(Mod Rheumatol 2008;18:542-551 [Review]など)。膠原病では疾患によって異なった炎症病態および臓器障害を呈していることを考慮すると、そこにはアディポカインを含めたサイトカインネットワークの関わり方が異なっていることが想定された。しかし、その点をアディポカインに注目して検討した研究は現在までに殆どない。そこで、今回の研究計画の疾患対象疾患は、現在まで検討してきた RA に加え、全身性エリテマトーデス、血管炎症候群、川崎病などの膠原病諸疾患を広く対象とした研究を行うこととした。

### 2. 研究の目的

今回の研究では、アディポネクチンを含む種々のアディポカインについて、膠原病諸疾患における病態形成に及ぼす影響を明らかにし、これらの疾患でのアディポカインネットワークについて解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 全身性エリテマトーデス、血管炎症候群、川崎病など、種々の膠原病患者血清中の

レプチン、アディポネクチン、レジスチン、ビスファチンおよびケメリンなどを測定して臨床的指標との関連性を検討する。また、ステロイド療法や生物学的製剤、または免疫抑制薬などの治療経過に沿った血清採取を行い、病態の変化との関連を検討する。

(2) RA 患者滑膜細胞の培養系にアディポカインを添加し、RA の病態形成に関わる諸因子への影響を in vitro で検討する。一方、健常人および患者からヒト末梢血単核球を分離し、それらに対するアディポカインの影響も検討する。

なお、いずれの研究も本学医学部倫理委員会または大森病院倫理委員会の承認を受けて実施した。

### 4. 研究成果

(1) 膠原病患者における血清アディポカイン濃度の検討

申請者らは、既に RA 患者における血清アディポカイン濃度を検討し、健常人に比べてレジスチン、レプチン、およびアディポネクチン濃度が高いことを報告した (Intern Med. 2011;50:269-275)。そこで、小児の代表的炎症性疾患である川崎病について検討した。図1に示したように、活動期の川崎病では左カラムの血清レジスチン濃度の増加がみられたものの、次のカラムの高分子アディポネクチン濃度はむしろ低下し、レプチン、およびビスファチン濃度は急性感染症患児および健常小児の対照例と変わらなかった。また、血清レジスチン濃度はガンマグロブリン療法により正常化した。

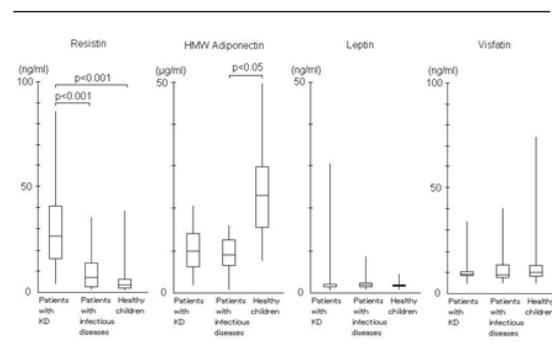


図1. 川崎病患児における血清アディポカイン濃度

(Mod Rheumatol. 2012; 22:66-72)

次に、申請者らは未治療の全身性エリテマトーデス、血管炎症候群、成人 Still 病などの RA 以外の膠原病患者におけるアディポカイン濃度を検討した。その結果、図2に示したように、やはり血清レジスチン濃度は増加していたが、血清レプチンおよび高分子アディポネクチン濃度は低下していた。また、これらの変化はステロイド療法後にいずれも正常化した。

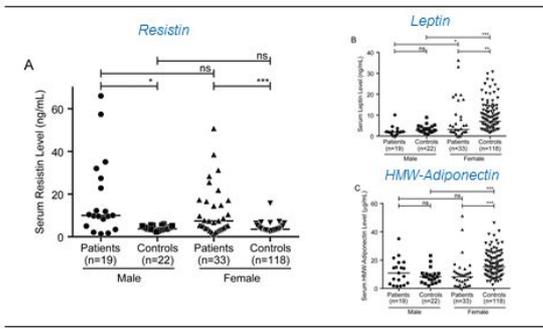


図2. 活動期末治療膠原病患者における血清レジスチン、レプチン、高分子アディポネクチン濃度

(Mod Rheumatol. 2013; 23:8-18)

(2) アディポカインの発現および作用機序に関する検討

末梢血単核球における検討

申請者は、ヒト末梢血単核球におけるアディポカインの発現について検討した。LPS刺激によりレジスチンの発現は増強されたが、レプチンおよびアディポネクチンの発現は増加しなかった。また、デキサメタゾンの添加によりレジスチンの発現増加は濃度依存的に抑制された。(図3)

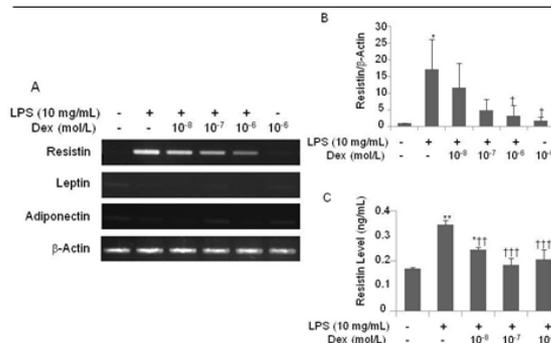


図3. ヒト末梢血単核球におけるレジスチンの発現に及ぼすLPSおよびデキサメタゾンの影響

(Mod Rheumatol. 2013; 23:8-18)

ヒト滑膜細胞における検討

ヒト RA 患者滑膜細胞にレプチンを添加したところ、図4のようにインターロイキン-6 (IL-6) 産生が増加することを見出した。

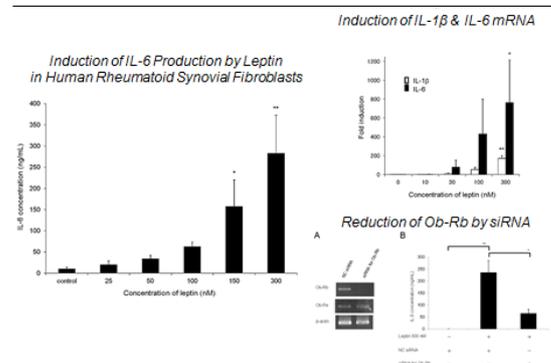


図4. レプチンによるヒト滑膜細胞におけるIL-6産生誘導 (Clin Exp Rheumatol.2013;31:589-595)

また、このレプチンによるヒト RA 患者滑膜細胞における IL-6 誘導作用の機序を検討したところ、図5に示したように、JAK2/STAT3を介することを見出した。

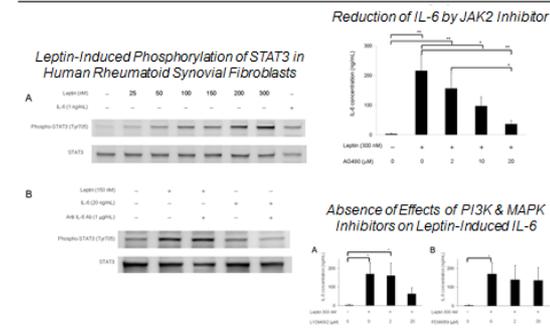


図5. レプチンのJAK2/STAT3を介したIL-6誘導作用

(Clin Exp Rheumatol.2013;31:589-595)

さらに、ヒト RA 患者滑膜細胞にはケメリンおよびその受容体 (ChemR23) が発現しており、MMP-3 などの発現を増加させることが明らかとなった。(図6)

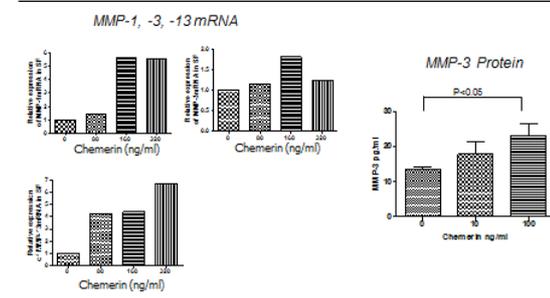


図6. RA患者滑膜細胞におけるケメリンによるMMP-1, -3, -13誘導作用

(J Med Soc Toho. 2013; 60:3-14)

以上の結果をまとめると、代謝領域ではレジスチンのような糖代謝に悪影響をもたらすアディポカインと、逆にレプチンやアディポネクチンのような糖代謝を是正するアディポカインに分けられるが、今回の炎症性疾患の血清濃度の研究や、患者組織を利用した実験結果からは、いずれも炎症を増加させる可能性が示唆された。ただ、一部のアディポカインは局所では炎症の悪循環に関わることが示唆されるものの、血清濃度からは抗炎症に働いている可能性が示されるなど、未だ明らかにし得なかった点も残っている。今後の研究によってこれらの矛盾を明らかにし、膠原病のような炎症性疾患におけるアディポカインネットワークをさらに解明したい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

1. Hirayama A, Tanahashi N, Daida H, Ishiguro N, Chachin M, Sugioka T, Kawai S; on behalf of all ACCEPT study investigators in Japan. Assessing the cardiovascular risk between celecoxib and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis: a 3-year nationwide comparative observational study in Japan (ACCEPT). *Circ J*. 2014 Jan;78(1):194-205. 査読有.  
(doi:10.1253/circj.CJ-12-1573)
2. Takeuchi T, Kawai S, Yamamoto K, Harigai M, Ishida K, Miyasaka N. Post-marketing surveillance of the safety and effectiveness of tacrolimus in 3,267 Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*. 2014 Jan; 24(1):8-16. 査読有.  
(doi:10.3109/14397595.2013.854074)
3. Tanaka Y, Kawai S, Takeuchi T, Yamamoto K, Miyasaka N. Prevention of joint destruction by tacrolimus in patients with early rheumatoid arthritis: a post hoc analysis of a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Mod Rheumatol*. 2013 Nov;23(6):1045-1052. 査読有.  
(doi:10.1007/s10165-012-0817-4)
4. Muraoka S, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, Kawai S. Leptin stimulates interleukin-6 production via janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 in rheumatoid synovial fibroblasts. *Clin Exp Rheumatol*. 2013 Jul-Aug;31(4):589-595. [Epub 2013 Apr 22] (PMID: 23622344) 査読有.  
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23622344>)
5. Nakano M, Iijima H, Takada K, Uchida N, Kawai S, Kagiya T, Kumagai Y. The role of the Japanese society of clinical pharmacology and therapeutics in the transition of clinical studies in Japan. *JMAJ*. 2013 Mar-Apr;56(2):115-117. 査読無.  
([http://www.med.or.jp/english/journal/pdf/2013\\_02/115\\_117.pdf](http://www.med.or.jp/english/journal/pdf/2013_02/115_117.pdf))
6. Kaburaki M, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, Kawai S, Endo H. Expression and function of chemerin in the synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis. *J Med Soc Toho*. 2013 Jan; 60(1):3-14. 査読有.
7. Tanaka N, Kusunoki N, Kusunoki Y, Hasunuma T, Kawai S. Resistin is associated with inflammation process in systemic autoimmune diseases under glucocorticoid therapy: comparison with leptin and adiponectin. *Mod Rheumatol*. 2013 Jan;23(1):8-18. 査読有.  
(doi:10.1007/s10165-012-0623-z)
8. Imagawa T, Takei S, Umebayashi H, Yamaguchi K, Itoh Y, Kawai T, Iwata N, Murata T, Okafuji I, Miyoshi M, Onoe Y, Kawano Y, Kinjo N, Mori M, Mozaffarian N, Kupper H, Santra S, Patel G, Kawai S, Yokota S. Efficacy, pharmacokinetics, and safety of adalimumab in pediatric patients with juvenile idiopathic arthritis in Japan. *Clin Rheumatol*. 2012 Dec;31(12): 1713-1721. 査読有.  
(doi: 10.1007/s10067-012-2082-5)
9. Kitahara K, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, Kawai S. Tacrolimus down-regulates chemokine expressions on rheumatoid synovial fibroblasts: screening by a DNA microarray. *Inflamm Res*. 2012 Dec;61(12):1385-1394. 査読有.  
(doi:10.1007/s00011-012-0541-8)
10. Kaneko K, Kusunoki N, Hasunuma T, Kawai S. Changes of serum soluble receptor activator for nuclear factor  $\kappa$ B ligand after glucocorticoid therapy reflect regulation of its expression by osteoblasts. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Oct; 97(10):E1909-1917. 査読有.  
(doi:10.1210/jc.2012-1971)
11. Kemmotsu Y, Saji T, Kusunoki N, Tanaka N, Nishimura C, Ishiguro A, Kawai S. Serum adipokine profiles in Kawasaki disease. *Mod Rheumatol*. 2012 Feb; 22(1):66-72. 査読有.  
(doi:10.1007/s10165-011-0468-x)
12. Kawai S, Takeuchi T, Yamamoto K, Tanaka Y, Miyasaka N. Efficacy and safety of additional use of tacrolimus in early rheumatoid arthritis patients with inadequate response to DMARDs - a multicenter, double-blind, parallel-group trial. *Mod Rheumatol*. 2011 Oct; 21(5):458-468. 査読有.  
(doi:10.1007/s10165-011-0425-8)

〔図書〕(計 2件)

1. Kusunoki N, Kojima F, Kawai S. Effects of adipokines on prostaglandin E2 production by rheumatoid synovial fibroblasts. *In*: O'Keefe JM (Ed) Arachidonic Acid: Sources, Biosynthesis and Health Effects., pp 165-183, Nova Science Publishers, Inc., New York, 2014. [ISBN: 978-1-63117-619-7]

2. Kusunoki N, Kitahara K, Kawai S. Adiponectin enhances inflammation in rheumatoid synovial fibroblasts and chondrocytes. *In*: Preedy VR and Hunter RJ (Eds) Adipokines., pp 380-392, CRC Press, Jersey, 2011.

〔産業財産権〕

出願状況  
なし

〔その他〕

研究業績ホームページ:

<http://gyoseki.toho-u.ac.jp/thuhp/KgApp?kozac=22010024&year=2012&kozafst=1>

6. 研究組織

(1)研究代表者

川合 眞一 (KAWAI, Shinichi)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号: 70129401

(2)研究分担者

なし