

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 26 年 12 月 15 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23790621

研究課題名（和文）

インドールアミン酸素添加酵素による自己免疫疾患の薬効予測システムの開発

研究課題名（英文）

Novel validation system for biological drug efficacy in rheumatoid arthritis.

研究代表者

山本 康子 (Yamamoto Yasuko)

京都大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：00331869

研究成果の概要（和文）：

関節リウマチ(RA)は近年有効性の高い生物学的製剤により、早期からの寛解導入、関節破壊の進行阻止が可能になってきたが、薬価が非常に高い一方、1～3割で薬効が見られないのが現状である。本研究は、薬剤投与前の薬効予測を可能にする検査システムの構築を目的とし、RAの病態と関連が報告されている indoleamine 2,3-dioxygenase 1(IDO1)に着目した解析を行った。新規に生物学的製剤を開始する RA 症例について全血培養にて、RA 関連刺激および生物学的製剤に対する反応性を IDO1 活性上昇に伴い産生される Kynurenine (KYN) 値を用いて検討した。それぞれの反応における KYN 産生率をスコア化し、治療評価指標である CDAI や SDAI との関連を検討したところ、反応性を総合して作成したスコアと治療開始3か月後の治療評価指標において有意な相関が認められた。本検討により生物学的製剤投与前に全血培養を行うことで、生物学的製剤の薬効予測が可能である事が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Recently, biological agents have been used for treatment of rheumatoid arthritis (RA), but there is a subset of patients who do not response to drug therapy. This study aimed to establish the novel validation system for the efficacy of biological agents in patients with RA.

An increased tryptophan catabolism via the kynurenine pathway throughout RA patients has been observed. So, we evaluated the biological agents efficiency based on the L-tryptophan catabolism in vitro blood culture. Our results showed that kynurenine levels correlated with CDAI score and SDAI score after biological agents treatment. These methods will be useful for the selection of biological drugs for RA patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：境界医学

科研費の分科・細目：病態検査学

キーワード：rheumatoid arthritis、indoleamine 2,3-dioxygenase 1

## 1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ(RA)は関節滑膜を炎症の主要とする慢性の炎症性疾患であり、関節炎が進行すると、関節機能の低下、日常生活動作(activities of daily living:ADL)の障害、クオリティ・オブ・ライフ(quality of life:QOL)の低下が起こる。RA の治療は、メトトレキサートをはじめとする抗リウマチ薬に加え、2003 年以降から承認され始めた、様々な種類の生物学的製剤の導入により、疾患活動性のコントロールにおいて全体として大幅に改善する傾向にある。生物学的製剤とは、免疫抗体などを製剤化した薬で、特に関節破壊抑制効果に優れていることが知られている。一方、副作用として、感染症、結核、発癌リスクの上昇が報告されている。さらに、関節破壊が進行した時点で生物学的製剤の導入がされてきたため、関節炎が臨床的寛解に達しても、不可逆的な関節破壊による ADL 低下については改善されていない。また、薬価が非常に高く、生涯を通しての使用は、患者個人はもちろんのこと、社会にとっても大きな負担となっている。QOL の維持と医療費の問題の面から、早期に適切な生物学的製剤を選択し、投与することが重要であるため、生物学的製剤選択においては個別化治療が強く求められている。

RA の病態はサイトカイン、ケモカインをはじめとする種々の生理活性物質の変動と関係すると考えられている。近年、サイトカインにより誘導される因子である Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)1 と RA などの自己免疫疾患との関係が注目されている。IDO1 は、L-トリプトファン(L-TRP)代謝の第一段階を触媒する酵素であり、L-TRP を L-キヌレニン(L-KYN)へと代謝させる。IDO1 はインターロイキン 6(IL-6)

や Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )によって活性化され、主に炎症性疾患において上皮細胞、樹状細胞、マクロファージ等で発現し、炎症を抑制する一方、腫瘍免疫の抑制や自己免疫疾患の病因との関連、さらには Th2 誘導性の炎症反応を促進させるといった報告がある。RA は発症時に IDO1 による TRP 代謝の促進が報告されており、複雑に免疫系が関与し、L-TRP 低下や IDO1 活性の上昇が炎症持続に関与すると考えられている。

## 2. 研究の目的

本研究は、生物学的製剤投与前の RA 症例血液を用いてあらかじめ薬剤に対する反応性の違いを調べ、その薬剤の有効性を予測するシステムを確立することを目的とした。特に生物学的製剤投与後のサイトカインの増減や、近年慢性疾患に伴い発現が誘導されることが明らかになってきているトリプトファン代謝酵素 indoleamine-2,3-deoxygenase 1 (IDO 1)の発現量やその代謝産物に着目した解析を行った。

## 3. 研究の方法

新規に生物学的製剤を開始する RA 症例について全血培養法を用い、1)LPS 刺激に対する反応性、2)使用予定薬剤に対する反応性、3)LPS 刺激および薬剤同時投与による反応性を IDO1 活性上昇に伴い産生される培養液中 KYN 値を用いて検討した。それぞれの反応における KYN 産生率をスコア化し、治療評価指標である CDAI や SDAI との関連を検討した。

また培養後の細胞より mRNA を抽出し、IDO1 および IL-17 の発現量を検討した。

## 4. 研究成果

LPS 50ng/ml 刺激での L-KYN の増加率と、

DAS28-ESR での分類による Disease activity との関連を調べたところ、疾患活動性が高い群では LPS 刺激による KYN 増加率が低く、活動性が低い群では、LPS 反応性が低い傾向が見られた(図 1)。

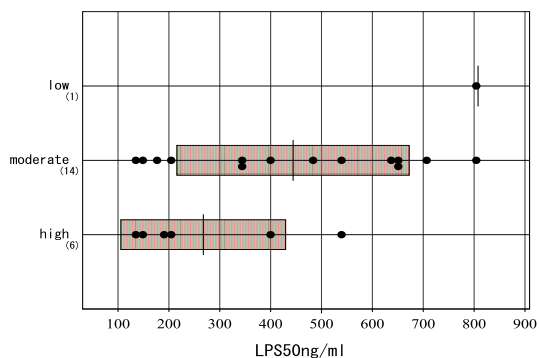


図 1. KYN の増加率と疾患活動性との関連

また、それぞれの刺激に対する反応性の違いを症例ごとに比較検討した。1) LPS 刺激に対する反応性を図 2 に、2) 使用予定薬剤に対する反応性を図 3 に、また 3) LPS 刺激および薬剤同時投与による反応性を図 4 に示した。

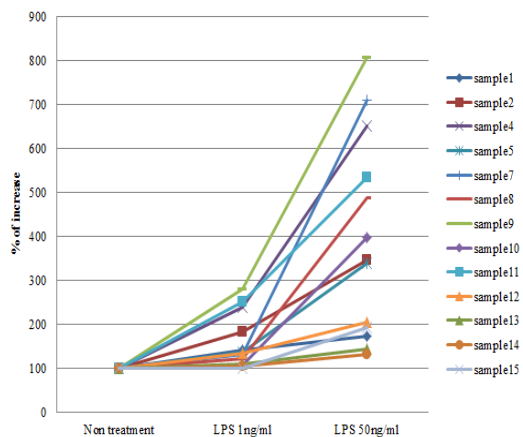


図 2 LPS 刺激に対する反応性

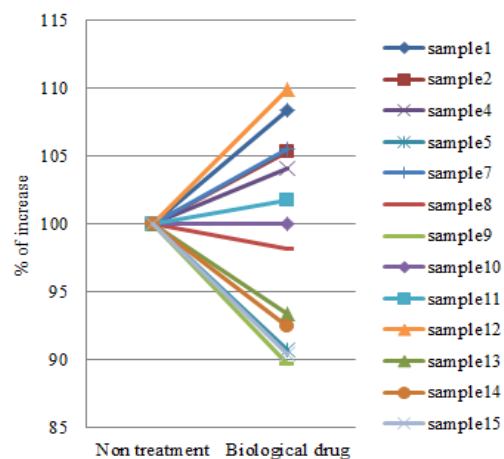


図 3 使用予定薬剤に対する反応性

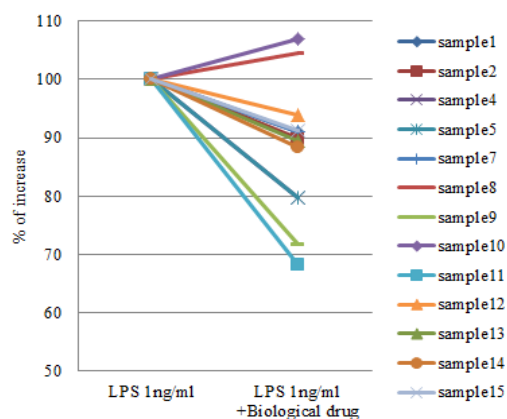


図 4 LPS 刺激および薬剤同時投与による反応性

それぞれの反応性をスコア化することで、総合評価 KYN スコアを算出した。3 つの反応性を総合して作成したスコアと治療開始 3 か月後の治療評価指標との相関を検討したところ、CDAI ( $R=-0.686$ )(図 5)や SDAI ( $R=-0.748$ )(図 6)との有意な相関が認められた。

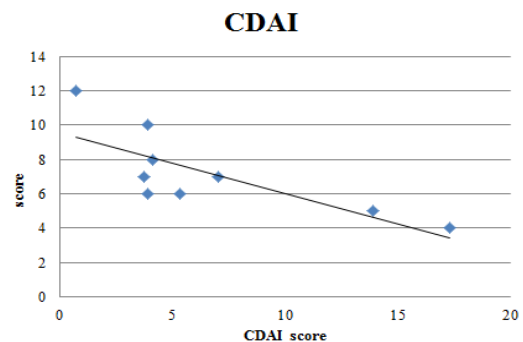


図 5 KYN スコアと CDAI との相関

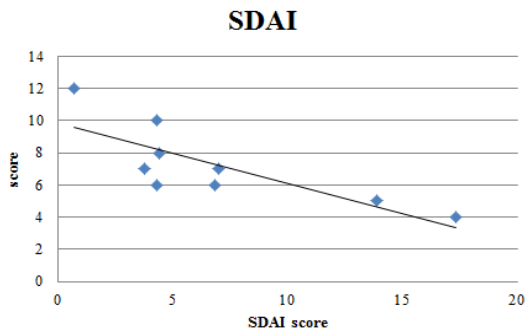


図 6 KYN スコアと SDAI との相関

次に、全血培養後の血球内 IDO1 と IL-17 mRNA 発現量について検討を行った。薬剤投与前の IDO1 mRNA 発現量が高く、IL-17 mRNA 発現量が低い症例群、つまり IDO1/IL-17 比が高い群で Good responder となりやすい傾向があった(図 7)。

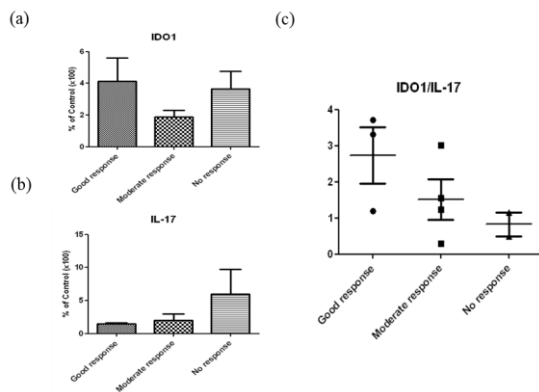


図 7 IDO1 および IL-17 発現量と治療反応性の関係

本検討により生物学的製剤投与前に全血培養を行い刺激に対する反応性、薬剤による刺激抑制能、及び炎症抑制能を総合的に評価することで、生物学的製剤の薬効予測が可能である事が示唆された。薬剤投与前に薬効を予測すること、また薬剤の選択が可能となれば非常に臨床的有用性のある手法と思われる。

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 1 件)

Murakami Y, Hoshi M, Imamura Y, Arioka Y, Yamamoto Y, Saito K. Remarkable role of indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophan metabolites in infectious diseases: potential role in macrophage-mediated inflammatory diseases. Mediators Inflamm. 2013 (In Press).

〔学会発表〕(計 1 件)

第 59 回日本臨床検査医学会

〔産業財産権〕

○出願状況(計 1 件)

特許出願準備中

名称：関節リウマチ患者における生物学的製剤の有効性の予測方法

発明者：齊藤 邦明、山本 康子、坪井 彩  
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 康子 (Yamamoto Yasuko)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：00331869