

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：84416

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09544

研究課題名(和文) 関節リウマチにおける「喫煙」の生物学的製剤治療への影響とその分子メカニズムの解析

研究課題名(英文) The influence of smoking on biologics treatment in rheumatoid arthritis and its possible molecular mechanism.

研究代表者

佐伯 行彦 (Saeki, Yukihiro)

独立行政法人国立病院機構(大阪南医療センター臨床研究部)・その他部局等・臨床研究部長

研究者番号：40240840

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチ(RA)の臨床データベースを用いて、生物学的製剤の治療効果における喫煙の影響を治療標的別に多変量ロジスティック解析しオッズ比で検討し、喫煙がTNF阻害薬の効果不十分による治療中断を有意に増加させることを示し、喫煙がTNF阻害薬の効果減弱に影響していることを示した。また、RA患者由来の滑膜細胞株を用いた実験により、TNF $\alpha$ によるNF- $\kappa$ Bの活性化、炎症性サイトカインの産生誘導が喫煙含有物の添加により増幅されることを示した。TNF $\alpha$ と喫煙(AhR)シグナルの間には、NF- $\kappa$ B活性化においてクロストークがあることが示唆され、喫煙によるTNF阻害薬の治療抵抗性のメカニズムと考えられた。

研究成果の概要(英文)：To investigate the influence of smoking on biologics treatment in RA, the association between discontinuation due to poor therapeutic response and smoking status was analyzed in a cross-sectional way by using the "NinJa" Registry of Japanese patients with RA, by a multivariable logistic regression analysis. The rate of discontinuation due to poor therapeutic response was significantly higher in the patients with current smoking compared to those with either never- or ever-smoking in the TNF-inhibitor (TNF-i) treatment group. Using an immortalized rheumatoid synovial cell line, MH7A, cigarette chemical compounds known as AhR ligands, themselves activated NF- $\kappa$ B and induced proinflammatory cytokines. They enhanced both TNF $\alpha$ -induced NF- $\kappa$ B activation and proinflammatory cytokine production. This enhancement was diminished significantly by a NF- $\kappa$ B inhibitor, suggesting a crosstalk between TNF $\alpha$  and smoke signalings in NF- $\kappa$ B activation. This may cause treatment failure of TNF-i in RA.

研究分野：リウマチ学

キーワード：関節リウマチ TNF阻害薬 喫煙 NF- $\kappa$ B AhR クロストーク

## 1. 研究開始当初の背景

近年の薬物療法のめざましい進歩により、現在、RA においては寛解をめざした治療も可能となってきた。その進歩の最大の原動力は、TNF、IL-6 などの炎症性サイトカインや T 細胞などをターゲットとしたモノクローナル抗体、可溶性レセプターなどの、いわゆる生物学的製剤 (Bio) による治療の登場であると言って過言ではない。しかしながら、Bio をより安全に、より有効に使用するために解決すべき主な課題として、(1) 効果不十分 (治療抵抗性) (2) 高コスト (3) 副作用 (重症の感染など) がある。

これまでに RA の発症、その進行、増悪には、背景にある遺伝的因子とともに環境的因子が関連するものと考えられている。また、それらの因子が治療、とくに薬物の効果、有効性にも影響することが報告されている。その中で、とくに、環境因子としては、「喫煙」がとくに注目されている。

これまでに、我々は所属する国立病院機構 (NHO) の施設を中心に全国の主な 40 の RA 医療の基幹施設からなる独自のリュマチ臨床研究ネットワーク (iR-net) を組織し、わが国で最大 (登録患者 1 万人以上) の RA 患者の臨床データベース (NinJa: National Database of rheumatic diseases by iR-net in Japan) を構築し、RA に関する医療の現状を分析し、その課題、問題の抽出を行ってきた。

一方、最近、喫煙含有物質がダイオキシンに対するレセプターとして知られている aryl hydrocarbon receptor (AhR) のリガンドのひとつであることが報告され、喫煙の影響の分子メカニズムの観点から注目されている。さらに、喫煙含有物質が AhR を介して、NF- $\kappa$ B の活性化や炎症性サイトカイン (IL-1、IL-6 など) の産生を誘導増幅することが、RA 患者由来の滑膜細胞株を用いた実験で証明されている。

## 2. 研究の目的

RA における喫煙の Bio 治療への影響を NinJa のデータベースを用いて検証するとともに AhR シグナルをターゲットにその分子メカニズムを解析することを目的とする。

## 3. 研究の方法

1) RA における喫煙の Bio 治療への影響の検証

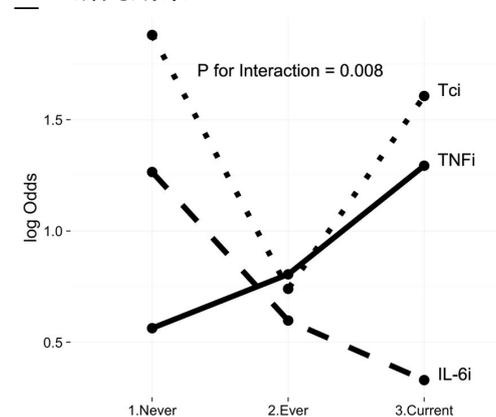
NinJa のデータベースを用いて、Bio 使用歴のある患者 (3,187 名) を喫煙習慣について、非喫煙、過去喫煙、喫煙の 3 つのカテゴリーに分け、効果不十分による Bio

治療中断を調べた。多変量ロジスティクス回帰分析を行い、治療標的別 (TNF 阻害薬、IL-6 阻害薬、T 細胞阻害薬) においてオッズを比較検討した。

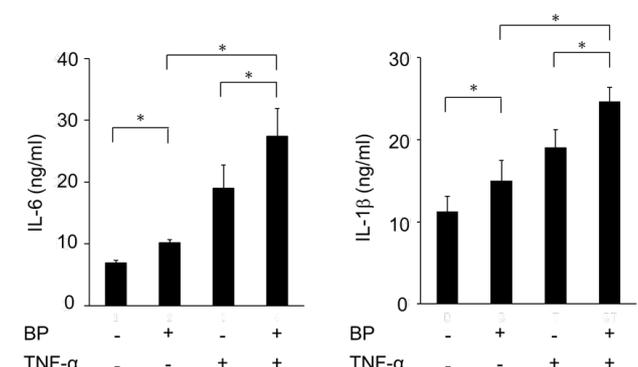
## 2) 喫煙の Bio 治療への影響の分子メカニズムの解析

不死化した RA 患者由来の滑膜細胞株 (MH7A) を用いて、喫煙含有物質 (BP: benzo[ $\alpha$ ]pyrene) と TNF $\alpha$ 、単独、あるいは共刺激時の炎症性サイトカイン (IL-6、IL-1 $\beta$ ) 産生、NF- $\kappa$ B の活性化を検討した。

## 4. 研究成果



TNF 阻害薬においては、非喫煙群、過去喫煙群、喫煙群の順にオッズが上昇した。とくに、喫煙群と非喫煙群でオッズ比を比較すると喫煙群では優位に効果不十分による治療中断が多いことが分かった (オッズ比 2.189, 95%CI 1.305-3.672, P=0.003)。一方、IL-6 阻害薬、T 細胞阻害薬においては、このような傾向は認められなかった。



MH7A 細胞を喫煙含有物質 (BP) と TNF $\alpha$ 、単独、あるいは共刺激を行い、炎症性サイトカイン (IL-6、IL-1 $\beta$ ) の産生を ELISA 法で比較した。その結果、BP と TNF $\alpha$  の共刺激で炎症性サイトカインの産生が有意に増幅されることが明らかになった。この増幅は、AhR シグナルの阻害剤である

$\alpha$ -naphthoflavone ( $\alpha$ NF)により消失することから、BP による増幅作用は、AhR シグナルを介したものであることが示唆された。さらに、この増幅は、NF- $\kappa$ B 阻害薬、Bay 11-7082 でも抑制された。同様の結果が、NF- $\kappa$ B 活性化(リン酸化)においても認められた (data not shown)。以上より、喫煙は、TNF $\alpha$ による NF- $\kappa$ B の活性化、それに続く炎症性サイトカインの産生を増幅することが示唆された。つまり、TNF $\alpha$ と喫煙(AhR)シグナルには、NF- $\kappa$ B 活性化においてクロストークがあることが示唆され、このことが、喫煙による TNF 阻害薬の効果減弱のメカニズムのひとつであるものと考えられた。研究成果について、論文投稿準備中。

#### 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7件)

1. Shimizu T, Akita S, Harada Y, Oguro E, Okita Y, Shigesaka M, Matsuoka H, Nii T, Teshigawara S, Kudo-Tanaka E, Tsuji S, Matsushita M, Ohshima S, Hoshida Y, Hashimoto J, **Saeki Y**. Sporotrichal Tenosynovitis Diagnosed Helpfully by Musculoskeletal Ultrasonography. Intern Med. 2017;56(10):1243-1246. doi: 10.2169/internalmedicine.56.7912. Epub 2017 May 15
2. Tsuji S, Kitatoube A, Kikuchi-Taura A, Oguro E, Shigesaka M, Okita Y, Shimizu T, Nii T, Teshigawara S, Tanaka E, Harada Y, Matsushita M, Hashimoto J, Ohshima S, Takahashi G, Endo S, **Saeki Y**. Elevated soluble CD14-subtype (PRESEPSIN;P-SEP) levels in rheumatoid arthritis (RA) patients with bacterial infection. Mod Rheumatol. (in press) 2016 Oct27:1-3. [Epub ahead of print]
3. Tanaka Y, Yamanaka H, Takeuchi T, Inoue M, Saito K, **Saeki Y**, Lee SJ, Nambu Y. Safety and efficacy of CT-P13 in Japanese patients with rheumatoid arthritis in an extension phase or after switching from infliximab. Mod Rheumatol. 2016 Sep 1:1-10. [Epub ahead of print]
4. Teshigawara S, Katada Y, Maeda Y, Yoshimura M, Kudo-Tanaka E, Tsuji S, Harada Y, Matsushita M, Ohshima S, Watanabe K, Kumode T,

Hoshida Y, **Saeki Y**.

Hemophagocytic lymphohistiocytosis with leukoencephalopathy in a patient with dermatomyositis accompanied with peripheral T-cell lymphoma: a case report.

J Med Case Rep. 2016 Aug 2;10:212. doi: 10.1186/s13256-016-0986-4

5. Maeda Y, Kurakawa T, Umemoto E, Motooka D, Ito Y, Gotoh K, Hirota K, Matsushita M, Furuta Y, Narazaki M, Sakaguchi N, Kayama H, Nakamura S, Iida T, **Saeki Y**, Kumanogoh A, Sakaguchi S, Takeda K.

Dysbiosis contributes to arthritis development via activation of autoreactive T cells in the intestine. Arthritis Rheumatol. 68(11):2646-61, 2016.

6. Yoshida K, Radner H, Mjaavatten MD, Greenberg JD, Kavanaugh A, Kishimoto M, Matsui K, Okada M, Reed G, **Saeki Y**, Tohma S, Kremer J, Solomon DH. Incidence and Predictors of Biological Antirheumatic Drug Discontinuation Attempts among Patients with Rheumatoid Arthritis in Remission: A CORRONA and NinJa Collaborative Cohort Study. J Rheumatol. 42(12):2238-46, 2015
7. Yoshida K, Kishimoto M, Radner H, Matsui K, Okada M, **Saeki Y**, Solomon DH, Tohma S. Low rates of biologic-free clinical disease activity index remission maintenance after biologic disease-modifying anti-rheumatic drug discontinuation while in remission in a Japanese multicentre rheumatoid arthritis registry. Rheumatology (Oxford). 55(2):286-90, 2016.

[学会発表](計2件)

Smoking signaling enhances TNF $\alpha$ -induced proinflammatory cytokine production on a rheumatoid synovial cell line, MH7A.

Nii T, Oguro E, Okita Y, Shimizu T, Matsuoka H, Teshigawara S, Tanaka-Kudo E, Tsuji S, Harada Y, Matsushita M, Ohshima S, **Saeki Y**.

The 4th International Congress on Controversies in Rheumatology & Autoimmunity.

9-11 March, 2017 Bologna, Italy

Smoking habits increase therapeutic failure of biologics, specifically TNF-inhibitors in rheumatoid arthritis: A possible cross-talk between TNFa and smoking (AhR) signaling.

Y. Saeki, T. Nii Kuzuya K, Kabata D, T Matsui, Matsuoka H, S. Ohshima, M. Yoshimura, S. Teshigawara, Y. Harada, Okita Y, Oguro E , J. Hashimoto, Takahana Y, S. Tohma and the NHO “ iR-net ” Study Group.

11th International Congress on Autoimmunity (Autoimmunity 2018).  
16~20 May, 2018, Lisboa Congress Centre, Lisobon, Portugal

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
なし

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

佐伯行彦 (SAEKI, Yukihiro)

研究者番号：40240840

(2) 研究分担者 なし  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし  
( )

研究者番号：

(4) 研究協力者 なし  
( )