

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：84416  
 研究種目：基盤研究(C) (一般)  
 研究期間：2017～2019  
 課題番号：17K08734  
 研究課題名(和文) ゲノム医療に向けたメトトレキサート関連リンパ増殖性疾患の発症予測遺伝子多型の探索

研究課題名(英文) Analysis of the genetic predictor to the onset of MTX-LPD for the genomic medicine

研究代表者  
 星田 義彦 (Hoshida, Yoshihiko)

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・医長

研究者番号：40324777

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)：近年のメトトレキサート(MTX)の普及とともにメトトレキサート関連リンパ増殖性疾患(MTX-LPD)の発症が増加しており、これが日常の関節リウマチ(RA)診療における解決すべき課題の一つとなっている。本疾患は薬剤関連疾患であることより、発症や病態に宿主側の遺伝子多型(SNP)が関与することが予想される。

本研究において、私共は全国35施設の研究参加施設における計238症例のRA患者に発生したLPD症例を収集し、日本人に適したジャポニカアレイを用いたGWAS解析を実施した。その結果ゲノム有意水準を上回った29個のSNPを同定し、現在それらにつき機能解析を行なっている(詳細未発表)。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、MTX-LPDに関連する遺伝子およびその遺伝子多型を同定し、日常RA診療において、その遺伝子多型を有するRA患者にMTXを投与回避することによりMTX-LPDの発症を未然に防止することである。これにより、今後の日常RA診療にて個別化医療に有用な指標となることが期待できる。さらに、MTX-LPDをはじめとする悪性リンパ腫の発症メカニズムの解明につながることも期待できる。また、MTX適正使用ガイドライン等に有用な指標の提供、MTX-LPDの発症数減少による医療費の削減、発症メカニズムに対応した治療薬の開発により、社会的にも貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：Methotrexate-associated lymphoproliferative disorder (MTX-LPD) is an LPD associated with low-dose MTX administration. Owing to the recent widespread use of MTX for the treatment of rheumatoid arthritis (RA), the incidence of MTX-LPD is increasing; research is warranted to reduce the risk of this complication in patients with RA who receive this drug. This disease is drug induced and host-side single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been implicated in the onset and clinical and pathological presentation.

We investigated 238 patients with RA who were diagnosed with LPD at 35 representative rheumatology hospitals across Japan. We performed a genome-wide association study and data were analyzed using a Japonica array suitable for whole-genome imputation of Japanese individuals. We identified 29 SNPs that exceeded the genome-wide significance threshold, and are currently performing functional analysis of these SNPs (details unpublished).

研究分野：血液病理

キーワード：Rheumatoid arthritis Methotrexate LPD Malignant lymphoma MTX-LPD GWAS SNPs Japonica array

## 1. 研究開始当初の背景

40年以上前から、RA患者では一般人に比べ2-4倍の頻度でリンパ腫が発生しやすいといわれてきた。約20年前にRA治療薬であるMTXの低容量投与中にリンパ腫が発生し、これらの中にMTX投与の中止、減量にて腫瘍が退縮する『リバーシブルなリンパ腫』という興味深い病態を示す症例が含まれていることが報告された。

MTX-LPDはMTXを長期間低容量投与された患者に発生するLPDで、多くはRA患者に発生する。本疾患はいくつかの要因からできたヘテロな疾患群であり、RAの免疫異常状態、MTXが宿主にもたらす免疫抑制状態、エプスタインバーウイルス(EBV)感染等の要因が複雑多岐に絡まって興味深い病態を形成している。一方、現在MTXは、RA診療において患者の約7割が服用するまで、普及してきている。服用する患者の数の増加とともにMTX-LPDの発生は増加しており、本疾患の発生予防は社会的使命となっている。MTX-LPDは薬剤関連疾患である。その発症には個人の薬剤感受性応答性に依存し、個々の遺伝子多型が関連することが予想できる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、MTX-LPDに関連する遺伝子およびその遺伝子多型を同定し、日常RA診療において、その遺伝子多型を有するRA患者にMTXを投与回避することによりMTX-LPDの発症を未然に防止することである。これにより、今後の日常RA診療にて個別化医療に有用な指標となることが期待できる。さらに、MTX-LPDをはじめとする悪性リンパ腫の発症メカニズムの解明につながることを期待できる。また、MTX適正使用ガイドライン等に有用な指標の提供、MTX-LPDの発症数減少による医療費の削減、発症メカニズムに対応した治療薬の開発により、社会的にも貢献できると考える。

## 3. 研究の方法

MTX-LPDの臨床病理学的特徴と日本人に適した最新のGWAS法であるジャポニカアレイを融合すれば、MTX-LPDの発症・病態に特有の遺伝子多型が同定できるのではないかと考えた。GWAS法は遺伝子多型を網羅的に探索するツールとして広く用いられている。ジャポニカアレイは東北大学の東北メディカルバンク機構(TOMMO)が開発した日本人に最適化された最新のDNAアレイで、TOMMOが発見した2120万個の一塩基多型(SNV)の中から約64万個のタグSNPに既知の疾患関連や薬剤関連の2万個のSNPを加えた約66万個のSNP解析を行う。これをインピュテーションすることにより、823万個のSNPが復元でき既存のアレイに比べ20万個以上多くのSNPの解析が可能となる。ジャポニカアレイを用いることで、従来のGWAS法では明らかにできなかった日本人に適した広い領域の遺伝子多型が探索可能となっている。

本研究では全国のリウマチ専門病院と多施設共同研究を実施し、各施設倫理委員会にて研究実施の承認を得たのち、新規あるいはこれまでLPDを発症したRA患者の選定を行い文書にて同意を得る。同意の得られた対象患者からDNAを抽出し、東芝メディカル社のジャポニカアレイを用いたGWAS解析を実施する。その結果を基に東京大学医学部人類遺伝学教室(徳永勝士教授)にて、各種診療情報や病情報のパラメータとの関連を基に統計学的解析を行う。

主な診療情報や病情報のパラメータは以下の通りである。

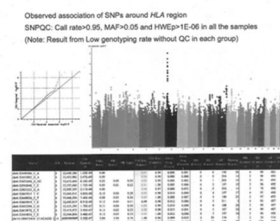
- 1)RAに関する診療情報—発症年齢、性別、罹患期間、疾患活動性、血液検査所見、薬剤情報(MTX、生物製剤服用の有無、開始時期、投与開始からLPD発症迄の期間、同服用量、同総服用量)、LPD発症後のRAに対する治療
- 2)LPDに関する診療情報—発症年齢、原発部位、臨床病期、病理組織分類(組織型、EBER-1染色)、リバーシブルな退縮の有無、同退縮後の再発の有無、退縮後再発迄の期間、LPDに対する治療法、転帰。

これらパラメータを指標としてRA患者における4群間〔(1):RA患者におけるLPD発症群と非発症群(2):上記LPD発症群で、MTXを含む各種RA治療薬投与群と非投与群(3):上記MTXを含むRA治療薬投与群で、リバーシブル経過群と非経過群(4):上記リバーシブル経過群で、再発群と非再発群〕の各群間で比較解析を行う。

## 4. 研究成果

### 1) MTX-LPD に対する GWAS 解析

全国のリウマチ専門施設 35 施設と多施設共同研究を実施し、LPD を発症した RA 患者 238 例とその対照として LPD を発症していない RA 患者の血液検体を用いてジャボニカアレイを用いた GWAS 解析を実施した。用いたプローブは 659,636 個の SNP で、更に約 400 万個の SNP についてのインピュテーション解析を行った。その結果、ゲノム有意水準を上回った 29 個の SNP を同定した。現在、それらにつき機能解析を行っている（詳細未発表）。



### 2) RA 患者に発生する LPD の病態に対するリウマチ治療薬の影響の検討

RA 患者に発生する LPD において MTX の関与についてはこれまでに多くの報告がなされていたが、それ以外のリウマチ治療薬の関与については controversial であった。我々は RA 患者に発生する LPD につき全国の 48 施設との多施設共同研究により 518 例の多数例の臨床病理学的解析を実施した。これにより RA-LPD が大きく Naive 群、TAC 群、MTX 群、ETN 群、mTNFi 群の 5 群に分類され、発症前の TAC、TNFi の投与が LPD の病態に影響することを世界で初めて明らかにした（論文投稿中）。

#### 学会報告

Hoshida Y, et al. (30, 1st) Multi-center analyses on 518 cases with rheumatoid arthritis developing lymphoproliferative disorders (RA-LPD): the prognostic factors and the influence of anti-rheumatic drugs on LPD development. ACR/ARP (米国リウマチ会議, Atlanta, 2019 年 11 月)(査読有)。

### 3) RA 患者のリンパ節腫脹に対する生検実施時期決定のための客観的指標の検討

RA 患者では 41-82% の割合で反応性にリンパ節腫大をきたすが、しばしば LPD との鑑別に難渋する状況に遭遇する。その場合、確定診断には生検を必要とするが、RA 患者に発生する LPD は半数以上の症例で MTX 投与中止にて自然退縮することより、その実施時期の決定は難しい。我々は RA 患者のリンパ節腫脹に対するリンパ節生検実施時期決定のための客観的指標の検討を行った。具体的には単一施設おける 2012 年 4 月から 2018 年 3 月までの 6 年間に悪性リンパ腫を疑いリンパ節生検を実施された連続した 32 例について EZR を用いた統計学的解析を行った。その結果、LDH、sIL-2R、SUVmax 値がその実施時期の決定の際の臨床的指標として有用であることが分かった。

#### 論文報告

Yamada C, Hoshida Y, et al. (12, 12th) Pathological assessment of the lymph node biopsies for lymphadenopathy in rheumatoid arthritis. Modern Rheumatol 2019 (in press, doi: 10.1080/14397595.2019.1675260)(査読有)。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamada C, Oguro E, Tsuji S, Kudo-Tanaka E, Teshigawara S, Ohshima S, Hashimoto J, Saeki Y, Horiuchi T, Iizuka N, Tomita Y, Hoshida Y	4. 巻 -
2. 論文標題 Pathological assessment of the lymph node biopsies for lymphadenopathy in rheumatoid arthritis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2019.1675260	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Iio K, Kabata D, Iio R, Imai Y, Hatanaka M, Omori H, Hoshida Y, Saeki Y, Shintani A, Hamano T, Isaka Y, Ando Y	4. 巻 9
2. 論文標題 Parathyroid hormone and premature thymus ageing in patients with chronic kidney disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 813
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-37511-9	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 -
1. 著者名 Kawasaki T, Hasebe T, Oiwa M, Sugiyama K, Muramatsu C, Ueda S, Osaki A, Ichikawa J, Teramoto N, Hoshida Y	4. 巻 69
2. 論文標題 Invasive carcinoma with neuroendocrine differentiation of the breast showing triple negative, large and basal cell like features	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 502～504
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pin.12832	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 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.	4. 巻 56
2. 論文標題 Sporotrichal Tenosynovitis Diagnosed Helpfully by Musculoskeletal Ultrasonography.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 1243-1246
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.56.7912	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 -

1. 著者名 Tanishima H, Kimura M, Tominaga T, Iwakura S, Hoshida Y, Horiuchi T.	4. 巻 3
2. 論文標題 Lateral lymph node metastasis in a patient with T1 upper rectal cancer treated by lateral lymph node dissection: a case report and brief literature review	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Surg Case Rep	6. 最初と最後の頁 93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40792-017-0366-3	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 -

[学会発表] 計16件(うち招待講演 1件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 Multi-center Analyses on 518 Cases with Rheumatoid Arthritis Developing Lymphoproliferative Disorders (RA-LPD): The Prognostic Factors and the Influence of Anti-rheumatic Drugs on LPD Development
3. 学会等名 2019 ACR/ARP Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 リウマチ関連リンパ増殖性疾患に対する多施設共同研究抗リウマチ薬の影響についての解析
3. 学会等名 第81回日本血液学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 Trend of rheumatoid arthritis associated lymphoproliferative disorders between the 2000s and 2010s
3. 学会等名 第78回日本癌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 リウマチ患者に発生したリンパ増殖性疾患に関する多施設共同研究による解析
3. 学会等名 第108回日本病理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 リウマチ性疾患とLPDリウマチ患者に発生したリンパ増殖性疾患におけるカルシニューリン阻害剤投与の影響についての検討
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 カルシニューリン阻害剤投与リウマチ患者に発生したリンパ増殖性疾患の臨床病理学検討
3. 学会等名 第80回日本血液学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 カルシニューリン阻害剤投与リウマチ患者に発生したリンパ増殖性疾患の臨床病理学検討
3. 学会等名 第77回日本癌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 カルシニューリン阻害剤投与リウマチ患者に発生したリンパ増殖性疾患の臨床病理学検討
3. 学会等名 第107回日本病理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 カルシニューリン阻害剤投与リウマチ患者に発生したリンパ増殖性疾患の臨床病理学検討
3. 学会等名 第72回国立病院総合医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星田義彦
2. 発表標題 シンポジウムNHOの病理診断、今と明日 - 病理医主導の多施設共同研究の紹介 メトトレキサート(MTX)関連リンパ増殖性疾患の病態解明研究 -
3. 学会等名 第72回国立病院総合医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星田 義彦
2. 発表標題 薬剤関連リンパ増殖性疾患
3. 学会等名 第58回日本臨床細胞学会(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 星田 義彦
2. 発表標題 MTX-LPDの病態解明のための多施設共同研究 希少症例研究を進めるうえでの多施設共同研究の役割
3. 学会等名 第106回日本病理学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 星田 義彦, 大島 至郎, 佐伯 行彦, 川崎 明範, 市原 周, 金子 敦史, 片山 雅夫
2. 発表標題 カルシニューリン阻害剤投与リウマチ患者に発生したリンパ増殖性疾患の4例
3. 学会等名 第71回国立病院総合医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田知佳, 小黒 英里, 沖田 康孝, 重坂 実, 葛谷 憲太郎, 松岡 秀俊, 清水 隆, 新居 卓朗, 勅使川原 悟, 田中 枝里子, 原田 芳徳, 辻 成佳, 辻 聡一郎, 秋田 鐘弼, 松下 正人, 大島 至郎, 橋本 淳, 佐伯 行彦, 星田 義彦
2. 発表標題 リウマチ患者のリンパ節腫脹に対するリンパ節生検の重要性の検討
3. 学会等名 第61回日本リウマチ学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 沖田 康孝, 松下 正人, 星田 義彦, 小黒 英里, 重坂 実, 清水 隆, 松岡 秀俊, 新居 卓朗, 勅使川原 悟, 田中 枝里子, 原田 芳徳, 辻 聡一郎, 大島 至郎, 橋本 淳, 佐伯 行彦
2. 発表標題 関節リウマチに対するメトトレキサート治療中に発生した口腔内メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患(MTX-LPD)3例の臨床的・病理学的特徴
3. 学会等名 第61回日本リウマチ学会
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 Yamada C, Hoshida Y.
2. 発表標題 Ultrasonography findings in human gallbladder mucocele showing a marked zonal mucus
3. 学会等名 The 29th World Congress of World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔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	徳永 勝士 (Tokunaga Katsuo)  (40163977)	国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・ゲノム医科学プロジェクト 戸山プロジェクト長  (82610)	
研究分担者	大島 至郎 (Ohshima Siro)  (50362728)	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・部長  (84416)	
研究分担者	佐伯 行彦 (Saeki Yukihiko)  (40240840)	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・部長  (84416)	
研究分担者	當間 重人 (Tohma Shigeto)  (50207528)	独立行政法人国立病院機構東京病院 (臨床研究部)・臨床研究部・院長  (82690)	
研究分担者	古川 宏 (Furukawa Hiroshi)  (00372293)	筑波大学・医学医療系・准教授  (12102)	