

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K09106

研究課題名（和文）DcR3が制御するシグナル分子を標的とした関節リウマチ新治療の検討

研究課題名（英文）A study for the new treatment of rheumatoid arthritis targeting DcR3

研究代表者

三浦 靖史（Miura, Yasushi）

神戸大学・保健学研究科・准教授

研究者番号：60346244

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：慢性の破壊性多発性関節炎を特徴とする関節リウマチの病態解明を目的として、TL1AとDR3、LIGHTとHVEM・BTLA、FasLとFASの3つのTNF/TNFレセプターシグナル伝達経路に共通したデコイ受容体として機能し、同時にリガンド作用も有するヒトに特異的なTNFデコイレセプター-Decoy receptor3(DcR3)のシグナル伝達に関わる遺伝子の検討を行った。その成果として、関節リウマチ滑膜細胞のアポトーシス誘導・増殖抑制に関わる分子標的治療の標的となり得る遺伝子ならび遺伝子群を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TNFおとり受容体であるDcR3が関わる関節リウマチ滑膜細胞におけるシグナル伝達系において、発現が制御される遺伝子ならびに遺伝子群を新たに同定したことは、将来のRAの新しい治療標的開発に繋がる点で高い学術的ならびに社会的意義を有する。

研究成果の概要（英文）：With the aim of elucidating the pathogenesis of rheumatoid arthritis characterized by chronic destructive polyarthritis, the human-specific TNF decoy receptor Decoy receptor3 (DcR3), which functions as a both decoy receptor and a ligand in three TNF/TNF receptor signaling pathways: TL1A and DR3, LIGHT and HVEM/BTLA, and FasL and FAS. We investigated the genes involved in the signal transduction of DcR3 in rheumatoid synovial cells. As a result, we identified genes and gene groups that can serve as targets for molecular targeted therapy related to apoptosis induction and proliferation suppression of rheumatoid arthritis synovial cells.

研究分野：リウマチ学

キーワード：関節リウマチ リウマチ滑膜細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ (Rheumatoid arthritis ;以下 RA) は、膠原病のうち最も患者数の多い疾患であり、国内だけで約 70 万人もの患者が存在する。RA の病変の主体は慢性滑膜炎に基づく多発関節炎であり、発症 2 年以内の早期から関節破壊が進行し、重篤な肢体障害を来す。そのため、患者の ADL や QOL は著しく低下し、社会的、経済的影響は甚大である。近年、炎症性サイトカインである TNF や IL-6、リンパ細胞を特異的に抑制する生物学的製剤に加え、JAK を阻害する低分子量分子標的薬も登場し、RA の薬物療法は飛躍的に強力になった。しかし、サイトカインや免疫細胞の抑制は、関節炎を抑制すると同時に、本来、生体防御に必要な免疫も抑制してしまうため、重篤な感染症や、悪性腫瘍の誘導が報告されている。そこで、免疫系を抑制せず、滑膜細胞に特異的にアポトーシスを誘導して関節炎のみを抑制する新しい RA 治療法の開発が期待されているが、関節炎を特異的に抑制するためには、RA 滑膜細胞の異常増殖メカニズムの更なる解明が不可欠である。

2. 研究の目的

本研究は、リウマチ滑膜細胞における TL1A と特異的受容体 DR3、LIGHT と特異的受容体 HVEM・BTLA との 2 つの TNF/TNFR シグナル伝達経路に共通して作用する、デコイレセプター DcR3 をコアとしたシグナルクロストークのメカニズムを解明する。これにより、既存の分子標的治療と異なった、DcR3 とその関連分子を標的とした滑膜細胞へのアポトーシス誘導を介した新しい関節リウマチ治療法に関する基礎的検討を行う。

3. 研究の方法

複数の培養 RA 滑膜線維芽細胞株を、TL1A、LIGHT、DR3 など DcR3 シグナルに関わる TNF/TNFR リコンビナント蛋白で刺激し、対照群と比較してマイクロアレイ法で発現変動が認められる遺伝子群を同定する。Real-Time PCR 及び蛋白レベルでの変動を確認した後、炎症誘導下での発現の変動について検討し、同定した DcR3 シグナル経路制御に関わる候補分子について siRNA を細胞内に導入して抑制し、DcR3 シグナル経路におけるアポトーシス誘導に最も適切な標的分子を決定する。

4. 研究成果

当期間中に、培養 RA 滑膜線維芽細胞において、FasL により発現が制御される遺伝子として、最も発現が誘導された 3 遺伝子として、dual specificity phosphatase 6 (DUSP6)、epiregulin (EREG)、interleukin11 (IL-11) を、最も発現が抑制された 3 遺伝子として、angiopoietin-like 7 (ANGPTL7)、protein inhibitor of activated STAT2 (PIAS2)、growth differentiation factor 5 (GDF5) を新たに同定した。

培養 RA 滑膜線維芽細胞において、TL1A により発現が制御される遺伝子群として、バリン代謝過程、パーキンソニズム、代謝関連遺伝子、インターロイキン (IL)-1 産生促進、IL-1 ベータ分泌促進、IL-2 生合成過程の促進、IL-1 分泌制御、IL-1 分泌の促進、IL-1 産生の促進、サイクリン C 末端であることを明らかにした。

また、培養 RA 滑膜線維芽細胞において、LIGHT により発現が制御される遺伝子群として、糖タンパク、N-結合型グリコシル化部位、細胞膜部分、細胞膜不可欠部分、細胞膜固有部分、シグナル、細胞膜、シグナルペプチド、選択的スプライシング、細胞外トポロジカルドメインに関わることを明らかにした。

さらに、培養 RA 滑膜線維芽細胞において、DR3 により発現が制御される遺伝子として、増加する遺伝子として KIAA1109/TENR/IL2/IL21 と、adhesion G protein-coupled receptor A3 を、抑制される遺伝子として、RNA exonuclease 2 と family with sequence similarity 120A を同定した。

本研究では、これらの 4 つの DcR3 関連分子による刺激によって、培養 RA 滑膜線維芽細胞において発現が制御される多数の遺伝子ならびに遺伝子群を RA の治療ターゲット候補として同定した。

治療ターゲット候補となり得る遺伝子群として明らかになった、Fas ligand によって培養 RA 滑膜線維芽細胞において最も変化する 10 の機能的カテゴリーは、以下の通りである。

The 10 most significant functional categories of the genes expressed by Fas ligand exposure in RA-FLS		
GO Accession	GO Term	Corrected P-value
GO:0001228	Transcriptional activator activity, RNA polymerase II transcription Regulatory region sequence-specific DNA binding	0.000028
GO:0009893; GO:0044253	Positive regulation of metabolic process	0.000028
GO:0031325	Positive regulation of cellular metabolic process	0.000028
GO:0010604	Positive regulation of macromolecule metabolic process	0.000028
GO:0051173	Positive regulation of nitrogen compound metabolic process	0.000028
GO:0042325	Regulation of phosphorylation	0.000066
GO:0048518; GO:0043119	Positive regulation of biological process	0.000066
GO:0019220	Regulation of phosphate metabolic process	0.000087
GO:0043408	Regulation of MAPK cascade	0.000087
GO:0051239	Regulation of multicellular organismal process	0.000087

同様に、LIGHT によって培養 RA 滑膜線維芽細胞において最も変化する 10 の機能的カテゴリーは、以下の通りである。

The 10 most significant functional categories of the genes expressed by LIGHT exposure in RA-FLS		
Category	Term	P value
SP_PIR_KEYWORDS	glycoprotein	1E-09
UP_SEQ_FEATURE	glycosylation site: N-linked (GlcNAc...)	5E-09
GOTERM_CC_FAT	GO:0044459 plasma membrane part	5E-09
GOTERM_CC_FAT	GO:0005887 integral to plasma membrane	0.0000009
GOTERM_CC_FAT	GO:0031226 intrinsic to plasma membrane	1.51E-07
SP_PIR_KEYWORDS	signal	2.49E-07
GOTERM_CC_FAT	GO:0005886 plasma membrane	3.35E-07
UP_SEQ_FEATURE	signal peptide	3.78E-07
SP_PIR_KEYWORDS	alternative splicing	4.21E-07
UP_SEQ_FEATURE	topological domain: Extracellular	1.101E-06

今後、これらの遺伝子群、関連する遺伝子群に関して更なる検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Fukuda K, Miura Y, Maeda T, Hayashi S, Matsumoto T, Kuroda R	4. 巻 22
2. 論文標題 Expression profiling of genes in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes regulated by Fas ligand via cDNA microarray analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Exp Ther Med	6. 最初と最後の頁 1000
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/etm.2021.10432	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 Fukuda K, Miura Y, Maeda T, Hayashi S, Kuroda R.	4. 巻 11
2. 論文標題 Expression profiling of genes in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes regulated by tumor necrosis factor-like ligand 1A using cDNA microarray analysis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomed Rep	6. 最初と最後の頁 11-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/br.2019.1216	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 Fukuda K, Miura Y, Maeda T, Hayashi S, Kikuchi K, Takashima Y, Matsumoto T, Kuroda R.	4. 巻 51
2. 論文標題 LIGHT regulated gene expression in rheumatoid synovial fibroblasts	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Mol Biol Rep	6. 最初と最後の頁 356
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11033-024-09311-0	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10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 6件）

1. 発表者名 福田康治、三浦靖史、前田俊恒、林申也、黒田良祐
2. 発表標題 DR3はリウマチ滑膜線維芽細胞における様々な遺伝子の発現を制御する
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fukuda K, Miura Y, Maeda T, Hayashi S, Kuroda R
2. 発表標題 The gene expressions of various key molecules are influenced by Fas ligand in rheumatoid synovial fibroblasts
3. 学会等名 21st APLAR 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田康治、三浦靖史、前田俊恒、林申也、黒田良祐
2. 発表標題 FasLはリウマチ滑膜線維芽細胞における様々な遺伝子の発現を制御する
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fukuda K, Miura Y, Hayashi S, Maeda T, Kuroda R
2. 発表標題 Expression profiling of genes in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes regulated by Fas ligand using cDNA microarray analysis.
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 田康治、三浦靖史、前田俊恒、林申也、黒田良祐
2. 発表標題 関節リウマチ滑膜細胞におけるCadherin 2の発現はDecoy receptor 3により誘導される
3. 学会等名 第62回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koji Fukuda, Yasushi Miura, Toshihisa Maeda, Shinya Hayashi, Ryosuke Kuroda
2. 発表標題 N-cadherin is up-regulated by Decoy Receptor 3 in Rheumatoid Synovial Fibroblasts
3. 学会等名 Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress APLAR2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関節リウマチ滑膜細胞におけるDecoy receptor 3によるCadherin 2発現誘導の検討
2. 発表標題 福田康治、三浦靖史、林申也、前田俊恒、黒田良祐
3. 学会等名 第33回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koji Fukuda, Yasushi Miura, Shinya Hayashi, Toshihisa Maeda, Ryosuke Kuroda
2. 発表標題 The gene expressions of various key molecules are influenced by Fas ligand in rheumatoid synovial fibroblasts
3. 学会等名 Orthopedic Research Society (ORS2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koji Fukuda, Yasushi Miura, Shinya Hayashi, Toshihisa Maeda, Ryosuke Kuroda
2. 発表標題 Fas ligand regulates the gene expressions of various key molecules in rheumatoid synovial fibroblasts
3. 学会等名 European League against Rheumatism (EULAR2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koji Fukuda, Yasushi Miura, Shinya Hayashi, Toshihisa Maeda, Ryosuke Kuroda
2. 発表標題 Expression profiling of genes in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes regulated by Fas ligand using cDNA microarray analysis
3. 学会等名 Orthopedic Research Society (ORS2020) (国際学会)
4. 発表年 2020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
研究協力者	福田 康治 (Fukuda Koji)	神戸大学 (14501)	

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
---------	---------