

令和 4 年 5 月 5 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17354

研究課題名（和文）マクロファージ活性化症候群の新規治療を目指した網羅的免疫学的解析

研究課題名（英文）Comprehensive immunological analysis of macrophage activation syndrome

研究代表者

井上 なつみ（Inoue, Natsumi）

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：90808924

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：様々な小児リウマチ性疾患を背景とした患者の急性期とMAS合併時の血清炎症性サイトカイン測定と抗体アレイ法による網羅的解析を主とし、MASに共通する、あるいは各疾患毎に異なるパターンを明らかにした。共通してMAS合併時に上昇するサイトカイン（neopterin, sTNFR-II, IL-18）は早期診断のバイオマーカー、治療の標的として有用である可能性が示唆された。また各疾患でMAS合併の判断に最も有用なサイトカインは異なり、それぞれ治療戦略を工夫する必要性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、さまざまなリウマチ性疾患を背景として発症するMASの病態に共通して関与する・あるいは各疾患によって異なるサイトカインプロファイルの特徴が明らかになった。未だ臨床試験段階である抗IFN療法など、ターゲットを絞った治療法の有効性を支持する一助となる。また臨床像は共通するものの背景疾患により異なる基礎病態が示唆されたことで、治療戦略には疾患ごとに工夫が必要であることも併せて明らかになった。

研究成果の概要（英文）：We defined cytokine profiles of MAS complicated with various pediatric rheumatic diseases comparing the profiles between acute phase and MAS phase. Common pattern among MAS (elevation of neopterin, sTNFR-II and IL-18) was revealed and these would be candidates of biomarkers for predicting MAS in early phase and molecular target for treatment. On the other hand, the best marker for distinguishing MAS was different in each background diseases. These findings suggests treatment strategy should be considered individually even though clinical phenotype is similar.

研究分野：小児リウマチ、小児膠原病

キーワード：マクロファージ活性化症候群 小児リウマチ性疾患 サイトカイン バイオマーカー

## 1. 研究開始当初の背景

マクロファージ活性化症候群(Macrophage activation syndrome:MAS)は、リウマチ性疾患に続発する二次性の血球貪食症候群である。小児では全身型若年性特発性関節炎(Systemic juvenile idiopathic arthritis:s-JIA)のほか、川崎病(Kawasaki disease :KD)、若年性皮膚筋炎(Juvenile dermatomyositis:JDM)、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus:SLE)においても認められる重篤な合併症である。MASは基礎疾患や合併した感染症と臨床像が類似するため、診断に苦慮する場合も多い。その結果治療介入が遅れ、血漿交換を主とする集中治療を要することも多いほか、致死的な経過をたどることもあるため、臨床の現場においてはその早期診断法と治療法の確立が解決すべき大きな問題となっている。近年はs-JIAをはじめとしてIL-6やIL-1など特定のサイトカイン経路をブロックする生物学的製剤が効果を挙げているが、これらの使用下でもMASは発症することがわかっている。

MASでは、マクロファージを主とした免疫担当細胞の異常活性化と高サイトカイン血症がその病態に強く関与していると考えられている。これまでの疫学的あるいは免疫学的研究により、s-JIAに合併するMASの一部では、primary hemophagocytic lymphohistiocytosis (primary HLH)で同定されている、細胞傷害性T細胞やNK細胞の細胞傷害活性に関わる遺伝子異常を有するものがあることや、血清中のIFN- $\gamma$ やその誘導ケモカインが高値となることが判明している。また近年はMAS様の所見を呈するマウスモデルにおいて、NK細胞活性が障害されること、IFN- $\gamma$ が病態形成の中心的な役割を持つことが示されている。我々はこれまでにs-JIA症例における血清サイトカインプロファイル解析を行い、IFN- $\gamma$ 誘導分子としても知られるInterleukin-18 (IL-18)がその病態に深く関与していることを明らかにしてきた(Rheumatology, 2010;49:1645-53)。さらにMAS合併例で特にIL-18の異常高値を認めること、IL-18高値に続発してNK細胞の反応性が抑制されることを明らかにし、sJIAにおける高IL-18血症とMAS病態の関与が示唆された(Clin Immunol. 2015;160:277-81, Pediatr Int. 2018;60:984-985)。一方でSLEに合併したMAS症例においてはIL-18の上昇は軽度であり、むしろ血清TNF- $\alpha$ の上昇が特徴的な所見であった(Clin Immunol. 2013;146:73-6)。s-JIAに合併するMASに関する研究と比較し、他の背景疾患を持つMASは患者数も少なく詳細な病態解析は進んでいないのが現状であり、異なる基礎疾患からそれぞれどのような病態を経てMASという共通の臨床像を呈するのかは解明されていない。

## 2. 研究の目的

生物学的製剤の導入により劇的な治療効果が得られているリウマチ膠原病疾患において、今なおMASの早期診断法と治療法の確立は臨床的に解決すべき大きな問題となっている。そこで本研究ではMAS症例の網羅的な免疫学的解析を行い、基礎疾患別(s-JIA, KD, SLE, JDM)の結果を比較検討する。これらにより、MAS病態に共通の免疫学的異常を同定し、MASの基礎病態を理解し、早期診断の指標を確立するとともに、今までのところ特異的な治療法のないMASに対する新規治療法の開発を目指すことを本研究の目的とする。

## 3. 研究の方法

小児MAS症例は希少であり、当科だけでなく小児リウマチ学会メンバーが所属する施設において経過観察している症例の保存検体も含めて解析を行なった。s-JIA, KD, SLE, JDMに合併したMAS症例につき、急性期とMAS合併時の検体で抗体アレイを用いた血清のサイトカイン/ケモカイン174種の発現解析あるいはELISA法によるサイトカイン測定(neopterin, IL-18, IL-6, sTNFR-I, sTNFR-II)を行なった。s-JIAにおいては、トシリズマブ(TCZ)投与例でも急性期/MAS合併時を比較した。またそれぞれの結果と臨床データ(臨床症状、一般検査データなど)との関連について検討した。

## 4. 研究成果

### KDに合併するMAS

KD78症例(うちMAS合併5例)の検体で解析を行なった。急性期と比較して血清neopterin, IL-18, sTNFR-IIとsTNFR-II/Iが優位にMAS時で高値であった。ROC解析ではsTNFR-II値がMAS合併を診断するマーカーとして最も有用であった(cut off 16,600 pg/ml, AUC 0.9969)。さらにsTNFR-IIは血清AST、LDH、ferritin値と正の相関を認め、KDにおけるMAS発症の有用なマーカーとなる可能性が示唆された(Jinkawa A et al. Cytokine. 2019;119:52-56)。

### 小児SLEに合併するMAS

小児SLE症例8例(MAS合併4例を含む)の保存血清を用い、抗体アレイ法で急性期とMAS合併時の血清サイトカイン/ケモカインを比較した。31種の分子で急性期よりMAS時に有意に上昇しており、CXCL9とsTNFR-IIが最も大きな差を認めた。この2分子についてELISA法でも実測値を評価し、他の炎症性マーカーやMASの指標となる臨床指標との有意な相関を認め

た ( Usami M et al. Clin Immunol. 2019;208:108255 )。

#### s-JIA に合併する MAS

s-JIA 78 症例 ( MAS 合併あり 21 例 ) につき血清 neopterin、IL-18、sTNFR-I、sTNFR-II、CXCL9 値を解析した。実臨床で利用できる指標として ferritin も比較した。ROC 解析の結果、neopterin が最も高い AUC 値を示した ( cut off 19.5, AUC 0.9465 )。経時的にも病勢と一致して鋭敏に変動し MAS の指標として有用と考えられた ( Takakura M et al. Clin Immunol. 2019; 208:1008252 )。

TCZ 投与下においても MAS 合併の指標として有用な分子を同定するため、MAS 合併 s-JIA 症例 36 例 ( うち TCZ 投与あり 12 例 ) について血清 IL-18、sTNFR-I、sTNFR-II、CXCL9 値を評価した。いずれも TCZ 投与下では非投与例より有意に低値であったが、MAS 合併時の sTNFR-II/I 比は非投与例と同じく上昇し ( cut off 4.71, AUC 0.9722 )、TCZ 投与例でも MAS 診断の指標となることを明らかにした ( Irabu H et al. Pediatr Res. 2020;88:934-939 )。

#### MAS を合併した各背景疾患別サイトカインプロファイル比較

neopterin、IL-18、sTNF-RII はいずれの疾患でも急性期より MAS 合併時で共通して有意に上昇し、各疾患における ROC 解析の結果、SLE では sTNFR-I、JDM では IL-18、s-JIA と KD では sTNF-RII が MAS 合併の判断に最も有用であった ( Mizuta M et al. Rheumatology (Oxford). 2021;60:231-238 )。これらのことから、MAS 病態には共通して IFN- と TNF- の過剰産生が関与することが示唆された。

## 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 0件）

1. 著者名 Mizuta Mao, Shimizu Masaki, Irabu Hitoshi, Usami Masaaki, Inoue Natsumi, Nakagishi Yasuo, Wada Taizo, Yachie Akihiro	4. 巻 60
2. 論文標題 Comparison of serum cytokine profiles in macrophage activation syndrome complicating different background rheumatic diseases in children	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 231 ~ 238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/keaa299	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 Usami Masaaki, Shimizu Masaki, Mizuta Mao, Inoue Natsumi, Irabu Hitoshi, Sakumura Naoto, Nakagishi Yasuo, Yachie Akihiro	4. 巻 208
2. 論文標題 Extensive serum biomarker analysis in patients with macrophage activation syndrome associated with systemic lupus erythematosus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 108255 ~ 108255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clim.2019.108255	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 Irabu Hitoshi, Shimizu Masaki, Kaneko Shuya, Inoue Natsumi, Mizuta Mao, Nakagishi Yasuo, Yachie Akihiro	4. 巻 88
2. 論文標題 Comparison of serum biomarkers for the diagnosis of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis during tocilizumab therapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatric Research	6. 最初と最後の頁 934 ~ 939
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41390-020-0843-4	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 Takakura Maiko, Shimizu Masaki, Irabu Hitoshi, Sakumura Naoto, Inoue Natsumi, Mizuta Mao, Nakagishi Yasuo, Yachie Akihiro	4. 巻 208
2. 論文標題 Comparison of serum biomarkers for the diagnosis of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 108252 ~ 108252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clim.2019.108252	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 Jinkawa Asumi, Shimizu Masaki, Nishida Keigo, Kaneko Shuya, Usami Masaaki, Sakumura Naoto, Irabu Hitoshi, Takakuwa Maiko, Inoue Natsumi, Mizuta Mao, Ikawa Yasuhiro, Fujita Shuhei, Yachie Akihiro	4. 巻 119
2. 論文標題 Cytokine profile of macrophage activation syndrome associated with Kawasaki disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cytokine	6. 最初と最後の頁 52 ~ 56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cyto.2019.03.001	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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Mao Mizuta, Masaki Shimizu, Masaaki Usami, Naoto Sakumura, Hitoshi Irabu, Maiko Takakuwa, Natsumi Inoue, Yasuo Nakagishi, Akihiro Yachie
2. 発表標題 COMPARISON OF SERUM CYTOKINE PROFILE IN MACROPHAGE ACTIVATION SYNDROME AMONG DIFFERENT BACKGROUND RHEUMATIC DISEASES IN CHILDREN
3. 学会等名 EULAR 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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