

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17427

研究課題名（和文）口腔内細菌叢とACPA成熟に着目したRA発症機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the pathogenesis of RA focusing on oral microme and ACPA maturation

研究代表者

辻 良香 (Tsuji, Yoshika)

長崎大学・病院（医学系）・助教

研究者番号：10866297

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：健康者1284検体を解析した。年齢中央値は69.0（Interquartile range 62.0-76.0），ACPA陽性は20検体であった。喫煙習慣有りは409検体（31.9%）であった。Shannon指数による多様性を比較したが、ACPA陽性/陰性者間では有意差は認めず、多様性ではACPA陽性健康者でPasteurellaceaeが優位であり、NeisseriaceaeとStreptococcaceaeは減少していた。PasteurellaceaeがAPCA産生に寄与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関節リウマチ（RA）の有病率1%と比較的高く、生物学的製剤やJAK阻害薬など治療法の選択肢の増加に伴い、関節機能の温存や生命予後の改善など健康者と相違ない生活を手に入れることも期待できる時代となった。しかし一方で、これらの薬剤は医療費を押し上げた一因となったことは否めない。関節リウマチの発症リスクは遺伝的要因よりも環境要因の割合が高いことが知られており、今後は早期発見、ひいては予防の観点から本疾患を見つめ直すことが重要である。本研究は比較的検体採取の容易な唾液検体を用いてACPAの産生に寄与する口腔内細菌叢を解析しRAハイリスク者の特定の一助となり社会的意義が大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：A total of 1284 healthy subjects were analyzed. Median age was 69.0 (Interquartile range 62.0-76.0), and 20 samples were ACPA-positive. Comparison of alpha diversity based on the Shannon index showed no significant difference between ACPA-positive and ACPA-negative subjects, while beta diversity showed a predominance of Pasteurellaceae among ACPA-positive healthy subjects, and a decrease in Neisseriaceae and Pasteurellaceae may contribute to the production of APCA.

研究分野：膠原病およびアレルギー内科学関連

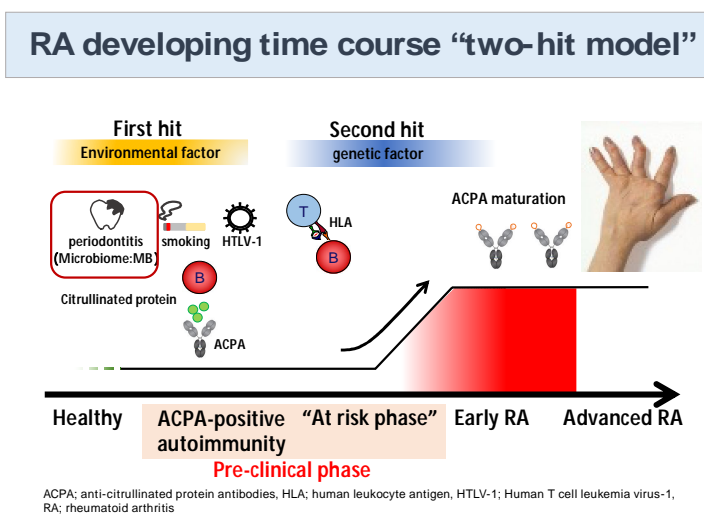
キーワード：口腔内細菌叢 抗CCP抗体 関節リウマチ

1 . 研究開始当初の背景

関節リウマチ (Rheumatoid arthritis:RA) 発症には粘膜起源仮説が提唱されており (Holers VM, et al. Nat Rev Rheumatol. 2018;14:542.), 口腔内・腸内・呼吸器内の細菌叢など広く解析がなされており, 唾液は歯周疾患を含め口腔内細菌叢 (Oral microbiome: Oral MB) を反映している。

京都大学が滋賀県で展開する「ながはま 0 次コホート事業」は, RA 未発症の健常人の約 1.7% に抗シトルリン化蛋白抗体 (ACPA) 産生を認め, ACPA 値と歯周病の臨床評価指数が有意な関連を示した, 本邦最初の大規模コホート研究である。ACPA 陽性者を 2 年間追跡

調査したところ, 初診時に関節痛のある歯周病患者は, 健常者と比較して, RA と診断されて抗リウマチ薬治療を開始されるリスクが約 2.7 倍であった (Hashimoto M, et al. PLoS One 2015; 10:1-13.)。しかし歯周病と抗 *P.gingivalis* 抗体を RA 患者と健常者の比較では, RA 患者で歯周病の重症度は高いものの, 抗 *P.gingivalis* 抗体値は有意差なしとする報告もあり (Ted R, et al. Arthritis Rheumatol. 2014; 66:1090-1100), 真に *P.gingivalis* が関連しているのかについては未解明のままである。RA 患者の Oral MB の解析報告はあるものの, 現時点で ACPA 陽性健常者というプレクリニカルステージの対象者を前向きにフォローし, 確定 RA 患者と比較し, 病因である ACPA と Oral MB の相関を解析した報告はない。発症プロセスを総合的に解明することで予防法確立の一助となりうることから, ACPA と Oral MB の相関をみる研究は重要と考えられた。



ACPA: anti-citrullinated protein antibodies, HLA: human leukocyte antigen, HTLV-1: Human T cell leukemia virus-1, RA: rheumatoid arthritis

The ACPA immune response in the development of RA. Scherer HU, et al. Nat Rev Rheumatol. 2018 Mar;14(3):157-169. より改変

2 . 研究の目的

本研究の目的は(1)Oral MB のディスバイオシス, 歯周病, 喫煙, HTLV-1 をもつ集団において ACPA 産生に寄与する環境要因は何か(2)環境要因に加え HLA-DR SE を有する対象者において ACPA の成熟が進行するかに着目して RA 発症機序を解明し, RA の環境要因と遺伝要因を保有する対象者を RA 高リスクグループとして同定することにより, 有効性の高い予防策確立のための礎を築く事である。

3 . 研究の方法

2014 年より長崎大学大学院医歯薬学総合研究科先進予防医学共同専攻では金沢大学や千葉大学と連携し, 五島市 (長崎県の離島) における多目的前向きコホート研究を展開している。五島市は高齢化率約 21% の超高齢社会で, 本邦の将来を予見しており将来の健康対策に役立つと期待が高く, 長崎大学は五島市の住民健診に介入し, 住民健診データとともに生活習慣病や RA・膠原病, HTLV-1 感染に関連するデータ, 歯科による歯周病関連データ, ゲノム情報などを含むビッグデータを集積・管理している。

2016 年から 2018 年の間, 1422 名の検体を得た。健常者 1296 検体の ACPA, Oral MB, HLA ジェノタイプ, 喫煙歴を含む生活習慣を調査した。OMNIgene・ORAL kit (DNA genotek) を用いて収集した唾液検体より DNA を抽出し, 次世代シーケンサー (Ion PGM[™]) を用いて 16S rRNA を利用した operational taxonomic unit (OTU) 解析により Oral MB の組成比の解析を行った。微生物群集組成の非類似度を Horn-Morisita index of dissimilarity で測定し, グループ間の差異 (α -diversity) を順列多変量分散分析 (PERMANOVA) で検証した。

4 . 研究成果

1296 検体の内, 12 検体は RA 患者であったため解析から除外し, 健常者 1284 検体を解析した。年齢中央値は 69.0 (Interquartile range: IQR 62.0-76.0), ACPA 陽性は 20 検体 (1.6%) であった。喫煙習慣有りは 409 検体 (31.9%) であった。Shannon 指数による多様性を比較したが, ACPA 陽性/陰性健常者間では有意差は認めなかった。ACPA 陽性健常者で *Pasteurellaceae* が優位であり, *Neisseriaceae* と *Streptococcaceae* は減少していた。

Pasteurellaceae のうち, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* は, 孔形成毒素である leukotoxin A (LtxA) を介して過シトルリン化を誘発することが知られています。RA における

抗 LtxA 抗体陽性は ACPA の存在と有意に関連していた(抗 LtxA 抗体陽性と陰性でそれぞれ 83% 対 67% ; $p=0.011$) (Konig MF. *Sci Transl Med* 2016; 8:369)ことが報告されており ACPA 産生に寄与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 辻良香
2. 発表標題 関節リウマチ発症機序の解明を目指した 口腔内マイクロバイオーーム解析
3. 学会等名 第65回 日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辻 良香
2. 発表標題 関節リウマチ発症機序の解明を目指した 口腔内マイクロバイオーーム解析
3. 学会等名 第64回 日本リウマチ学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yohika Tsuji
2. 発表標題 Oral dysbiosis reflects the immunological alteration of RA regarding to HLA DRB1*SE, ACPA and cigarette smoking : Nagasaki Island Study
3. 学会等名 EULAR european congress of rheumatology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yohika Tsuji
2. 発表標題 Investigation of oral microbiome in rheumatoid arthritis regarding to ACPA and HLA DRB1*SE: Nagasaki Island Study(NaIS) .
3. 学会等名 Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan College of Rheumatology
4. 発表年 2022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
---------	---------