

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 31 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592284

研究課題名(和文) 関節リウマチにおけるSDF-1による関節破壊機序解明

研究課題名(英文) Analysis of the mechanism for joint destruction via SDF-1 in rheumatoid arthritis

研究代表者

神戸 克明 (Kanbe, Katsuaki)

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70366326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチ(RA)の病態は疾患活動性と骨関節破壊で別なメカニズムが存在するという仮説を立証するため免疫組織学的手法を用いてRA滑膜組織の研究を施行した。滑膜組織の免疫組織学的な新しい評価法を樹立しImmunohistological Score (IH score)と称した(Kanbe K, et al. Mod Rheumatol 24:910-914,2014)。疾患活動性にSDF-1、大関節破壊にCXCR4、手足関節破壊にCD4が有意に関係していた。RAの骨関節破壊機序はTリンパ球が首座にあり滑膜組織のCXCR4がRAの大関節破壊に関係していることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Using an immunohistological analysis of synovium from rheumatoid arthritis (RA), we determined whether disease activity and joint destruction were correlated with the levels of SDF-1 and CXCR4 by IH scores [1]. SDF-1 was strongly correlated with the DAS28 CRP and serum IL-6. CXCR4 was correlated with synovial CD4 and the Assessment of RA by Scoring of Large-Joint Destruction and Healing in Radiographic Imaging (ARASHI) score. CD4 was correlated with the van der Heijde-modified Sharp (vdH-S) score. Therefore synovial SDF-1 was correlated with disease activity, and its receptor CXCR4 was related to large joint destruction in RA. In this study, T lymphocyte expressed CD4 via SDF-1/ CXCR4 axis is possible to be important for the mechanism of joint destruction in RA.
1.Kanbe K, et al. Modern Rheumatology 24:910-914,2014.

研究分野：整形外科

キーワード：関節リウマチ 滑膜 組織 免疫染色 SDF-1 CXCR4 関節破壊

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ(RA)の病態は主に関節滑膜増殖にあるといわれているが(図1)、組織学的にみると変形性関節症(OA)との最も異なる所見はマクロファージ(図2)とリンパ球の増殖であることが報告されている(1)。これらの細胞から産生されるサイトカインの中で近年注目されているのがTNF- α であり、抗TNF- α 抗体療法により治療した滑膜組織15例のTNF- α 、IL-6、MMP-3、RANKL、CD4、CD8、CD20、CD68、MAP kinase (ERK、c-JNK、p38)の発現を免疫染色法にてMethotrexate治療(control群)15例と比較した結果、抗TNF- α 抗体療法ではTNF- α の有意な抑制が認められた(2)。また抗TNF- α 抗体療法にて骨関節抑制効果はすでに高いエビデンスがあり、両手足の単純レントゲン写真にてvan der heijde Sharp score (3)の進行抑制が報告されている(4)。しかし、これらの抗TNF- α 抗体療法により骨関節破壊抑制効果のメカニズムについては不明である。一方、Stromal cell derived factor 1はchemokineの1種でそのレセプターはG-coupled protein receptorに属する。CXCR4はCXCR5と並んでHIV co-receptorとして重要であり、エイズウイルスのT-cellへの感染に関与するレセプターの1種である(5)。我々はCXCR4が関節軟骨培養細胞に発現していることを発見し、そのligandであるSDF-1が関節滑膜培養細胞に発現していることを認めた(6)。さらにRAの血清中にOAより有意に高いSDF-1濃度であることを確かめ、軟骨細胞にSDF-1を添加することによりMMP-13の発現およびapoptosisを起こすことを報告した(7)。しかし、実際のRA治療において抗TNF- α 抗体療法によって滑膜組織よりTNF- α の発現抑制が見られても、その機序としてSDF-1/CXCR4結合シグナルを介する関節破壊の解明はなされていない。

- (1) Haringman JJ, et al. Ann Rheum Dis 64:834-838,2005.
- (2) Kanbe K, et al. Clin Rheum 27: 777-781,2008.
- (3) van der Heijde. J Rheumatol 27:261-3,2000.
- (4) Goekoop-Ruiterman YP, et. Arthritis Rheum 52:3381-3390,2005.
- (5) Kanbe K, Virology 265: 264-273,2002.
- (6) Kanbe K, et al. Arthritis & Rheumatism 46:130-137, 2002.
- (7) Wei L, Sun X, Kanbe K, et al. J Rheumatol 33:1818-1826,2006.

2. 研究の目的

RAの血清中にケモカインの一種であるStromal cell derived factor 1(SDF-1)の濃

度が有意に変形性関節症(OA)よりも高いことを我々は報告した(Kanbe K et al. Arthritis & Rheumatism 46:130-137, 2002.)。そして滑膜線維芽細胞からSDF-1の発現を認め、関節軟骨細胞にSDF-1のレセプターであるCXCR4の発現を確認しapoptosisを誘導することを確認している。RA滑膜マクロファージのCXCR4発現がOAと比較し促進され、SDF-1/CXCR4シグナルを介してサイトカイン産生が増加し、破骨細胞分化が誘導されるといふ仮説を立証するため、新しいRAの機序解明を目指したSDF-1による関節破壊の病態制御を解析することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

基礎的実験手法の確立として免疫組織学的な新しい評価法を樹立した。Visual Analogue Scale (VAS)を用いてgradingを0-5まで6段階に行い、例えばTNF- α 抗体にて染色した滑膜組織を3名の検者にて24スライドのVASをつけると、Inter observer: $\kappa = 0.88542$ ($z=6.04346$, $P<0.001$, 95%CI 0.49-0.93)、Intra observer: $\kappa = 0.89916$ ($z=6.93457$, $P<0.001$, 95%CI 0.65-1.0)であった。この方法をImmunohistological Score (IH score: grade 0-5)と称し英文発表した(Kanbe K, et al. Mod Rheumatol 24:910-914,2014)。一方、RAのメカニズムとして重要なStromal cell derived factor 1はchemokineの1種でそのレセプターCXCR4はG-coupled protein receptorに属する。CXCR4はCXCR5と並んでHIV co-receptorとして重要であり、HIVウイルスのT-cellへの感染に関与するレセプターである。我々はCXCR4が関節軟骨培養細胞に発現していることを発見し、そのligandであるSDF-1が関節滑膜培養細胞に発現していることを認めた。IH scoreを用いて生物学的製剤治療中におけるRA滑膜組織15例のDisease activity score (DAS)28(CRP)、van der Heijde-modified Sharp (vdH-S) score、the Assessment of RA by Scoring of Large-Joint Destruction and Healing in Radiographic Imaging (ARASHI) score、IH score (SDF-1、CXCR4、CD4、CD20、CD68、MMP-3、TNF- α 、IL-6)、血清TNF- α 、血清IL-6、Rooney scoreについて統計学的に検討した。

4. 研究成果

SDF-1 IH scoreはDAS28(CRP)に有意に相関を認めた($P=0.0381$, $r=0.539$)。またSDF-1 IH scoreは血清IL-6にも有意に相関していた($P=0.0261$, $r=0.571$)。CXCR4はARASHI scoreに有意に相関を認めた($P=0.0329$, $r=0.552$)。CD4 IH scoreはTotal Sharp Scoreに有意に相関を認めた($P=0.0141$, $r=0.6180$)。すなわち疾患活動性にSDF-1が関与し、大関節破壊にCXCR4、抹消の手足関節破壊にCD4が関係することが判明した。すなわちRAの骨関節破壊機序はTリンパ球が首座にありこれに発現しているCXCR4がRAの大関節破壊に関係

していた。RAの滑膜組織の新しい免疫組織学的判定方法の樹立とSDF-1の疾患活動性、CXCR4の骨関節破壊への有意な関与が本研究により明らかとなった(図3)。

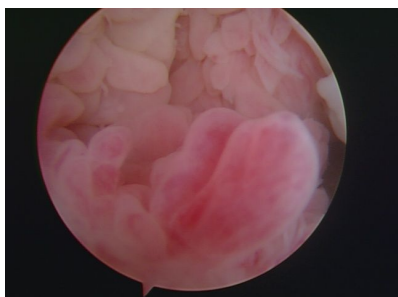


図1. 関節滑膜

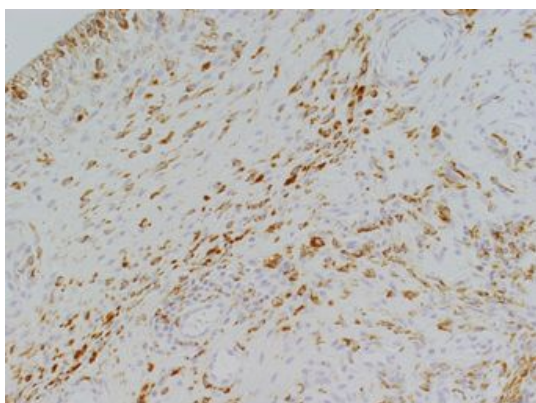


図2. 滑膜組織のCD68の発現

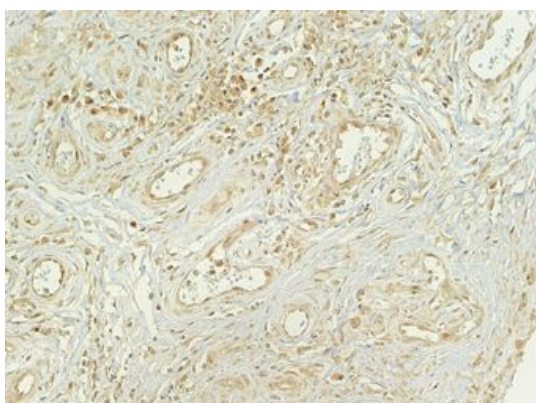


図3. 滑膜組織のCXCR4の発現

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 11 件)

Kanbe K, Chiba J, Inoue Y, Taguchi M, Yabuki A. SDF-1 and CXCR4 in synovium are associated with disease activity and bone and joint destruction in patients with rheumatoid arthritis treated with golimumab. (査読あり) Mod Rheumatol. 2015 May 21:1-15.

[Epub ahead of print]

Kanbe K, Chiba J, Inoue Y, Taguchi M, Yabuki A. Predictive factors related to the efficacy of golimumab in patients with rheumatoid arthritis. Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord. (査読あり) 8:25-32,2015.

Kanbe K, Hara R, Chiba J, Inoue Y, Taguchi M, Tanaka Y. Application of a new immunohistology scoring system (IH Score): analysis of TNF- α in synovium related to disease activity score in infliximab-treated patients with rheumatoid arthritis. Modern Rheumatology (査読あり) 24:910-914,2014.

Kanbe K, Chiba J, Nakamura A. Inhibition of JNK in synovium by treatment with golimumab in rheumatoid arthritis. Rheumatology International (査読あり) 34(1):125-130,2014.

doi:10.1007/s00296-012-2626-7.

Momohara S, Hashimoto J, Tsuboi H, Miyahara H, Nakagawa N, Kaneko A, Kondo N, Matsuno H, Wada T, Nonaka T, Kanbe K, Takagi H, Murasawa A, Matsubara T, Suguro T. Analysis of perioperative clinical features and complications after orthopaedic surgery in rheumatoid arthritis patients treated with tocilizumab in a real-world setting: results from the multicentre TOcilizumab in Perioperative Period (TOPP) study. Modern Rheumatology (査読あり) 2013 May;23(3):440-449. doi: 10.1007/s10165-012-0683-0.

Kameda H, Kanbe K, Sato E, Ueki Y, Saito K, Nagaoka S, Hidaka T, Atsumi T, Tsukano M, Kasama T, Shiozawa S, Tanaka Y, Yamanaka H, Takeuchi T; on behalf of the Japan Biological Agent Integrated Consortium (JBASIC). A merged presentation of clinical and radiographic data using probability plots in a clinical trial, the JESMR study. Annals of the Rheumatic Diseases (査読あり) 2013 Feb;72(2):310-312.

doi: 10.1136/annrheumdis-2012-201804.

Kaneko A, Matsushita I, Kanbe K, Arai K, Kuga Y, Abe A, Matsumoto T, Nakagawa N, Nishida K. Development and validation of a new radiographic scoring system to evaluate bone and cartilage destruction and healing of large joints with rheumatoid arthritis: ARASHI (Assessment of

rheumatoid arthritis by scoring of large joint destruction and healing in radiographic imaging) study. Modern Rheumatology (査読あり) 2013 Nov;23(6):1053-1062. doi: 10.1007/s10165-012-0823-6.

Kanbe K, Chiba J, Nakamura A. Immunohistological analysis of synovium treated with abatacept in rheumatoid arthritis. Rheumatology International (査読あり) 33(7):1883-1887, 2013. doi: 10.1007/s00296-011-2326-8.

Kanbe K, Nakamura A, Inoue Y, Hobo K. Osteoprotegerin expression in bone marrow by treatment with tocilizumab in rheumatoid arthritis. Rheumatology International (査読あり) 32: 2669-2674, 2012.

神戸 克明、生物学的製剤による RA 骨破壊機序、Rheumatology Clinical Research (査読なし)2: 15-19, 1013.

神戸 克明、他. 関節リウマチのメトトレキサート治療における血清 TNF- および血清 IL-6 濃度の解析. 臨床リウマチ(査読あり) 24: 29-34, 2012.

[学会発表](計 10 件)

神戸 克明、千葉 純司、井上 靖雄、田口 将史、矢吹 明子、関節リウマチの病因・病態 過去・現在・未来 生物学的製剤治療中における滑膜組織の解析、第 42 回日本関節病学会 2014.11.6. 虎ノ門ヒルズ フォーラム(東京都、港区)

神戸 克明、骨関節破壊改善を目指した Golimumab の可能性 K-method の有効性を含めて、第 42 回日本関節病学会 2014.11.6. 虎ノ門ヒルズ フォーラム(東京都、港区)

神戸 克明、千葉 純司、和田 啓義、安井 謙二、井上 靖雄、清田 毅、田口 将史、岩松 明子、加藤 義治、モジュラー型セメントレスステム人工肩関節置換術の治療成績、第 63 回東日本整形災害外科学会 2014.9.19. 京王プラザホテル(東京都、新宿区)

神戸 克明、千葉 純司、早田 浩一朗、井上 靖雄、田口 将史、岩松 明子、和田 啓義、清田 毅、加藤 義治、関節リウマチにおける生物学的製剤と肩関節滑膜切除術の併用療法、第 87 回日本整形外科学術集会 2014.5.22-25. 神戸ポートピアホテル(兵庫県、神戸市)

神戸 克明、千葉 純司、井上 靖雄、田口 将史、岩松 明子、リウマチ分子標的薬の活用 関節リウマチにおけるインフリキ

シマブの役割、第 87 回日本整形外科学術集会 2014.5.22-25. 神戸ポートピアホテル(兵庫県、神戸市)

神戸 克明、関節リウマチにおける Golimumab の継続的治療効果、第 58 回日本リウマチ学会学術集会、2014.4.24-28. グランドプリンスホテル新高輪(東京都、港区)

神戸 克明、千葉 純司、井上 靖雄、田口 将史、原 良太、関節リウマチの治療 生物学的製剤(TNF 阻害薬) 生物学的製剤治療による関節リウマチの滑膜組織に対する新しい評価法 IH スコアの有用性、第 58 回日本リウマチ学会学術集会、2014.4.24-28. グランドプリンスホテル新高輪(東京都、港区)

神戸 克明、千葉 純司、井上 靖雄、田口 将史、関節リウマチに対する滑膜組織による生物学的製剤の使い分け～新しい組織学的評価法: IH スコアの有用性～第 41 回日本関節病学会 2013.11.3. 愛知県産業労働センターウイंकあいち(愛知県、名古屋市)

神戸 克明、千葉 純司、中村 篤司、井上 靖雄、関節リウマチにおけるゴリムマブの寛解予測因子と骨関節破壊抑制効果の検討、第 57 回日本リウマチ学会学術集会、2013.4.18-20. 国立京都国際会館(京都府、京都市)

神戸 克明、千葉 純司、中村 篤司、滑膜組織と T2T、第 27 回日本臨床リウマチ学会 2012.11.24. 神戸ポートピアホテル(兵庫県、神戸市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神戸 克明 (KANBE, Katsuaki)
東京女子医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 70366326

(2) 連携研究者

井上 靖雄 (INOUE, Yasuo)
東京女子医科大学・医学部・助教
研究者番号: 00408519