

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26461480

研究課題名(和文)全エクソンシーケンスと血中PAD4測定による関節リウマチの新規バイオマーカー探索

研究課題名(英文) Establishment of treatment strategy of elderly rheumatoid arthritis based on treat-to-target strategy, Peptidylarginine Deiminase 4, and single nucleotide polymorphisms

研究代表者

杉原 毅彦 (Sugihara, Takahiko)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：00716441

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)：寛解あるいは低疾患活動性を目標に治療強化を行うことが関節リウマチ(RA)の関節破壊進行を抑制し身体機能と予後を改善させる。今回の研究で、高齢者においても低疾患活動性を目標とした治療で疾患活動性は制御され身体機能が改善することが示された。また、関節破壊進行を進行しやすい高齢RAの臨床像が明らかとなり、治療中に発現する合併症が長期的な身体機能に影響することが示された。治療選択の指標となることが期待された末梢血のPAD4の有用性は確認できなかった。RA発症に関連する新規疾患感受性遺伝子を同定したが、治療選択の指標としては有用でなかった。今後、治療と関連するゲノム情報を指標とした治療戦略を確立したい。

研究成果の概要(英文)：The patients with elderly-onset rheumatoid arthritis (RA) can achieve clinical remission and normal physical function by therapeutic strategy targeting low disease activity(T2T). Anti-cyclic citrullinated peptide antibody, bone erosion, high disease activity, and clinical responses at initial treatment are predictors of joint destruction. Serious adverse events under T2T strategy of EORA have great impact on physical dysfunction in patients who achieved treatment goals. Peptidylarginine Deiminase 4 (PAD4) protein expression in peripheral blood is not associated with disease activity. Genome-wide association studies (GWAS) have identified new single nucleotide polymorphisms (SNPs) related to susceptibility of RA. However the SNP cannot predict treatment response of EORA in our prospective cohort. We would like to establish T2T strategy cooperated with SNP related to treatment response and adverse events, but not RA susceptibility.

研究分野：関節リウマチ

キーワード：関節リウマチ 高齢者 治療戦略 身体機能 疾患感受性遺伝子 核内タンパク質シトルリン化酵素

1. 研究開始当初の背景

生物学的製剤の登場で RA 患者に対する治療戦略は変わり、寛解あるいは低疾患活動性を達成し維持することが治療目標となった (treat-to-target: T2T)。高齢関節リウマチは加齢に関連する合併症と薬剤関連のリスクを考慮しなければならないが、高齢者に関する T2T の有効性と安全性を評価した報告はない。高齢者は若年者より感染症、骨折、心血管イベントなどの合併症の頻度が高いことを考慮して、個々の高齢患者に応じた最適な治療を検討する必要がある。まず、現在推奨されている治療戦略が高齢者に有効かつ安全であるかを検証する必要がある。

現状では、疾患活動性と関連するバイオマーカーの開発は遅れている。また、治療抵抗例が存在し、MTX や生物学的製剤の有効性の予測は困難である。加えて、現在の知見では RA の治療に関連して発現する副作用を予測することも十分とは言えない。高齢関節リウマチでは治療の有効性や安全性を予測するバイオマーカーや SNP を確立することで、より有効で安全な治療を行うことが可能となり、より健康寿命が延長することが期待される。

日本人関節リウマチ (RA) 患者のゲノムワイド関連解析から疾患感受性を規定する遺伝子の一つとして PAD4 遺伝子が同定されている。PAD4 は蛋白のシトルリン化を担う酵素であり、RA に特異的な抗シトルリン化蛋白抗体の発現と密接に関連していると考えられている。抗シトルリン化タンパク抗体は RA の予後予測因子であることから、抗シトルリン化抗体産生に関与している PAD4 は RA の疾患活動性の新規バイオマーカーの候補となる、しかし、核内蛋白である PAD4 を末梢血から測定することは困難であった。共同研究者の東京都健康長寿医療センター研究所老化制御チームの石神らは RA 患者末梢血で

PAD4 を測定することに成功し、健常者より有意に高いことを報告している。本研究で疾患活動性と末梢血 PAD4 について検討した。

本研究では、RA 患者の全エクソン領域に存在する 24 万個のアミノ酸置換を伴う機能的多型の網羅的解析を行い、PAD4 遺伝子の多型を検討すると同時に、RA 疾患感受性遺伝子、MTX や分子標的薬の治療の有効性安全性に有用な SNP の同定を目指す。

2. 研究の目的

臨床疫学研究と基礎的研究の両面から高齢者 RA に対する有効かつ安全な治療方法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

コホート

2008 年から 2015 年まで、当センターで新たに抗リウマチ薬あるいは生物学的製剤を開始した 60 歳以上の RA 患者を前向きに登録し、低疾患活動性を目標とした治療を行った。

SNP の網羅的解析

東京都健康長寿医療センターの高齢関節リウマチのコホートに登録されている患者及び、東京都健康長寿医療センターならびに分担研究者の施設で外来通院中の患者を対象とした。現時点で 270 名の末梢血から DNA 抽出を行い、HumanExome BeadChip による全エクソン領域関連解析を行った。東京都健康長寿医療センターで解析した非 RA 1885 名をコントロールとした。

末梢血 PAD4 測定

末梢血 PAD4 の ELISA による測定系は東京都健康長寿医療センター研究所 老化制御チーム石神らが確立し、患者末梢血の PAD4 測定を行った。

4. 研究成果

1. 高齢関節リウマチコホートによる臨床研

究

登録された患者 197 名の患者背景は平均年齢 74.9±6.8 歳、罹病期間は中央値で 6 ヶ月と早期例が中心で、高疾患活動性 (DAS28-ESR > 5.1) の割合は 82% を占めた。HAQ-DI 中央値で 0.875 (正常身体機能 0.5 以下) 70% が身体機能低下を認めた。第一選択薬として MTX が 76% で開始され、生物学的製剤の 1 年後、2 年後、3 年後の使用頻度は約 35% 程度であった。治療開始から 3 年間の T2T の実施率は 80-90% と良好で、3 年後の治療目標達成者 (低疾患活動性達成者) は、SDAI で 88% (LOCF 解析)、寛解達成は SDAI で 56% (LOCF 解析) と良好であった。身体機能正常化の達成者は治療開始 1 年後 68% (LOCF 解析) で 3 年後も 71% と身体機能の改善を認めた。レントゲン上有意な関節破壊を認めた症例は 28%、関節破壊進行の予測因子として多変量解析により、抗 CCP 抗体陽性、ベースラインの骨びらんの存在、高疾患活動性、12 週後に治療反応性なし、24 週後に治療目標 (低疾患活動性) 未達成が挙げられた。

MTX は 167 名に開始され、初期投与量平均 6.2mg、その後平均 8.0-8.5mg/week で継続された。何らかの MTX 関連の有害事象は軽微なものが多いが 100 名認めた。その内訳は、血液検査で AST ALT 上昇が 49 名と最も多く、消化器症状 29 名、血球減少 15 名、MTX 肺障害 2 名であった。MTX の中止は 49 名であった。MTX の治療反応性や副作用発現について、ゲノム情報も合わせて今後解析する。

治療経過中に発現した合併症は、入院を要する感染症が 29 名、5.2/100 人・年と若年者のコホートより高頻度であった。RA に関連する関節外病変の悪化でステロイドを必要としたケースが 13 名、2.3/100 人・年の頻度で認めた。その他に骨折 20 名 3.6/100 人年、虚血性心疾患 9 名、1.6/100 人・年の頻度で認めた。29 名が前向き観察研究から脱落、11 名が加齢に伴う認知機能低下/身体機能低下

による通院困難、6 名が未来院による脱落であった。合併症が関与したのは間質性肺炎悪化が 5 名、感染症 4 名、悪性腫瘍 2 名であった。

3 年後低疾患活動性を達成した患者、及びに脱落時に低疾患活動性を達成していた患者について、治療目標を達成した高齢 RA 患者の身体機能低下に関連する因子を検討した。ベースラインの身体機能 (HAQ) に関連する因子は疾患活動性で、年齢の関与は弱く、合併症の有無は関連を認めなかった。3 年後低疾患活動性を達成した高齢 RA 患者の身体機能低下に関連するのは、高齢、SDAI の数値が高い、T2T による治療開始後に合併症であった。多変量解析を行うと、SDAI、年齢、重篤な合併症が統計学的に有意に身体機能低下に関連した。重篤な感染症のなかでは、入院を要する感染症、骨折、虚血性心疾患が統計学的に有意であった。今後は、重篤合併症発現に関連する因子を今後は解析し、重篤合併症発現リスクを軽減させるような治療戦略を検討する。

2. 全エクソン領域関連解析

RA 患者 270 名の末梢血から DNA 抽出を行い、HumanExome Beadchip による全エクソン領域関連解析を行った。東京都健康長寿医療センターで解析した非 RA 1885 名をコントロールとして GWAS を施行したところ、RA の疾患感受性遺伝子として Peptidylprolyl Isomerase D Cyclophilin D (PPID) がゲノム統計学的に有意であった。以前の RA 疾患感受性遺伝子に関する研究では報告されていなかった遺伝子であり、RA の新規感受性遺伝子として期待される。既知の報告では細胞増殖や細胞の遊走と関連が報告されている。そこで、東京都健康長寿医療センターの高齢関節リウマチのコホートに登録されている患者 131 名の臨床像と PPID SNP との関連を検討したが、疾患活動性、治療反応性、合併症との関連は

認められなかった。

既知の日本人 RA の疾患感受性遺伝子についての PAD4 SNP や、既存の MTX の有害事象に関連する SNP や合併症発現に関連する SNP も確認し、当院の前向きコホート患者で、臨床像や治療反応性、有害事象発現との関連を検討する。また、前述したように MTX レスポンダーとノンレスポナーについてゲノムデータによる予測が可能であるか検討したい。

3. 末梢血 PAD4 測定

日本人 RA の疾患感受性遺伝子として PAD4 SNP が挙げられる。当センターでは末梢血 PAD4 の ELISA による測定系を確立しており、当センター以外では測定はできない。今回は、当センターのコホートの患者について、横断的に PAD4 測定を行い、末梢血 PAD4 値と疾患活動性 (SDAI) との関連を検討した。PAD4 ELISA 測定 の 平均 値 (SD) は 寛 解 例 (n=16)19.7(14.2)、低疾患活動性例 (n=18)30.4(25.5)、中等度疾患活動性 (n=13)28.1(21.1)、高疾患活動性 (n=7)22.1(11.1)であった。当初、PAD4 が疾患活動性の指標となることを期待したが、疾患活動性との関連は認めなかったため、PAD4 測定に関する縦断的な研究は行わなかった。

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 2 件)

1. Sugihara T, Harigai M. Targeting Low Disease Activity in Elderly-Onset Rheumatoid Arthritis: Current and Future Roles of Biological Disease-Modifying Antirheumatic Drugs. *Drugs Aging*. 2016;33(2):97-107. doi: 10.1007/s40266-015-0341-2.

査読有

2. Sugihara T, Ishizaki T, Hosoya T, Iga

S, Yokoyama W, Hirano F, Miyasaka N, Harigai M. Structural and functional outcomes of a therapeutic strategy targeting low disease activity in patients with elderly-onset rheumatoid arthritis: a prospective cohort study (CRANE).

Rheumatology (Oxford). 2015;54:798-807 doi: 10.1093/rheumatology/keu395 査読有

[学会発表](計 3 件)

1. 杉原 毅彦 高齢関節リウマチに対する treat-to-target と骨粗鬆症が治療成績に及ぼす影響 CRANE コホートにおける検討 第 62 回日本リウマチ学会総会・学術集会 シンポジウム 品川 2018.4.28
2. 杉原 毅彦 高齢発症関節リウマチに対する treat-to-target の実践における生物学的製剤の重要性 第 62 回日本リウマチ学会総会・学術集会 イブニングセミナー 品川 2018.4.27
3. 杉原 毅彦 高齢関節リウマチの治療最適化 日本リウマチ学会ランチョセミナー 福岡 2017.4.21

[図書](計 3 件)

1. 杉原 毅彦 低疾患活動性を目標とした高齢関節リウマチに対する治療戦略 科学評論社リウマチ科, 55(3):334-338, 2016
2. 杉原 毅彦 関節リウマチ治療における生物学的製剤をつかいこなすためには高齢者に対する注意点と使用方法 科学評論社リウマチ科 56(1)9-14, 2016
3. 杉原 毅彦 高齢者に対する MTX の使用 科学評論社リウマチ科 53(2):159-163, 2015

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉原 毅彦 (Sugihara, Takahiko)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・
東京都健康長寿医療センター研究所・研究員
研究者番号：00716441

(2) 研究分担者

石崎 達郎 (Ishizaki, Tatsuro)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・
東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長
研究者番号：30246045

石神 昭人 (Ishigami, Akihito)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・
東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長
研究者番号：50270658

田中 雅嗣 (Tanaka, Masashi)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・
東京都健康長寿医療センター研究所・研究員
研究者番号：60155166

針谷 正祥 (Harigai, Masayoshi)

東京女子医科大学医学部東京女子医科大学
膠原病リウマチ痛風センターリウマチ性疾患
薬剤疫学研究部門・特任教授

研究者番号：20238207

南木 敏宏 (Nanki Toshihiro)
東邦大学医学部内科学講座膠原病学分野・教授
研究者番号：00282749

(3) 連携研究者
なし

(4) 研究協力者
なし