

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業
(免疫アレルギー疾患等実用化等研究事業 免疫アレルギー疾患実用化研究分野)))
分担研究報告書

研究課題：抗 CCP 抗体陽性未発症例における末梢血 T 細胞サブセットの解析

研究分担者 西本 患弘 東京医科大学医学総合研究所難病分子制御部門 兼任教授
研究協力者 村上 美帆 東京医科大学医学総合研究所難病分子制御部門 特任助教
伊藤 眞里 東京医科大学医学総合研究所難病分子制御部門 客員講師

研究要旨：抗CCP抗体は関節リウマチ (RA)に特異度の高い自己抗体である。抗CCP抗体の出現は、抗原特異的なT細胞の活性化による。抗CCP抗体陽性の疾患活動性を有するRA患者の末梢血単核球では、抗CCP抗体陰性のRA患者ならびに健常人群に比べて、CD25を高発現する活性化T細胞の割合が、有意に増加していることから、活性化T細胞の割合を知ることで、発症前の病態を知ることができるかも知れない。そこで抗CCP抗体陽性の未発症例において、末梢血におけるT細胞サブセットの解析を行った。抗CCP抗体陽性の未発症例では、CD4+T細胞におけるCD25+活性化T細胞の割合は、疾患活動性を有するRA患者に比べて低く、健常人の値と同等であった。活性化T細胞の増加が発症に関与する可能性がある。

A. 研究目的

抗 CCP 抗体は関節リウマチ (RA)に特異度の高い自己抗体であり、発症の 5 年前に約 40%の患者で陽性となり、その陽性率は経年的に上昇する。また、抗 CCP 抗体陽性の無症候者における RA の発症率 (陽性的中率) は 16%と報告されている (Arthritis Rheum2004 ; 50 : 380-6)。

我々は、これまでの研究で、抗 CCP 抗体陽性の疾患活動性を有する RA 患者の末梢血単核球では、抗 CCP 抗体陰性の RA 患者ならびに健常人群に比べて、CD25 を高発現する活性化 T 細胞の割合が、有意に増加していること、治療により活性化T細胞の割合が減少することを報告してきた (村上 2013 年日本リウマチ学会学術集会)。

抗 CCP 抗体の出現は、抗原特異的な T 細胞の活性化によると考えられることから、抗 CCP 抗体陽性の RA 患者と類似のプロフィールを呈する可能性がある。そこで抗 CCP 抗体陽性の未発症例において、末梢血における T 細胞サブセットの

解析を行った。

B. 研究方法

抗 CCP 抗体陽性の未発症例から末梢血単核球を分離し、CD4+ T 細胞における CD25+細胞、Treg、Th1、Th2 ならびに Th17 細胞の割合を FACS で解析した。

活性化を PMA/Ionomycine で 4 時間刺激し、抗 IFN- γ 、抗 IL-4 または抗 IL-17A 抗体を用いた細胞内染色を行い、Th1、Th2 および Th17 細胞を FACS で定量した。同時に、制御性 T 細胞 (CD4+CD25+Foxp3+)も測定した。

(倫理面への配慮)

患者検体の採取はヘルシンキ宣言を遵守し、東京医科大学の倫理委員会の承認のもとに行った。

患者情報に関しては、治療施設・氏名・生年月日・住所などの情報を削除し、匿名化した。"臨床研究に関する倫理指針"に沿って、人権の保護について、十分配慮しながら実験を行った。

C. 研究結果

抗 CCP 抗体陽性の未発症例において、CD4+ T 細胞の割合 20.1%であり、健常人群の $36.3 \pm 12.4\%$ (平均±標準偏差) に比べて低かった。また、抗 CCP 抗体陽性の未発症例の CD4+T 細胞における CD25+活性化 T 細胞の割合は 7.3%であり、疾患活動性を有する抗 CCP 抗体陽性 RA 患者の $13.9 \pm 5.4\%$ に比べて低く、抗 CCP 抗体陰性 RA 患者 ($6.7 \pm 2.9\%$)あるいは健常人($7.6 \pm 5.2\%$)の値と同等であった。

D. 考察

抗 CCP 抗体陽性の未発症例の活性化 T 細胞の割合は、RA 発症群に比べると低い傾向にあり、抗 CCP 抗体産生は生じているが、活性化 T 細胞の増加は生じていない可能性がある。

RA の発症メカニズムを考える上で興味深い。

また、T 細胞の活性化を抑えることで、発症を予防することが可能かも知れない。

E. 結論

抗 CCP 抗体陽性の未発症例の活性化 T 細胞の割合は増加しておらず、健常人群とほぼ同等である。RA 発症には活性化 T 細胞の増加が関連する可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nishimoto N, Amano K, Hirabayashi Y, Horiuchi T, Ishii T, Iwahashi M, Iwamoto M, Kohsaka H, Kondo M, Matsubara T, Mimura T, Miyahara H, Ohta S, Saeki Y, Saito K, Sano H, Takasugi K, Takeuchi T, Tohma S, Tsuru T, Ueki Y, Yamana J, Hashimoto J, Matsutani T, Murakami M, Takagi N. Drug free REmission/low disease activity after cessation of tocilizumab

(Actemra) Monotherapy (DREAM) study. *Mod Rheumatol*. 2014 Jan;24(1):17-25.

2. Nishimoto N, Amano K, Hirabayashi Y, Horiuchi T, Ishii T, Iwahashi M, Iwamoto M, Kohsaka H, Kondo M, Matsubara T, Mimura T, Miyahara H, Ohta S, Saeki Y, Saito K, Sano H, Takasugi K, Takeuchi T, Tohma S, Tsuru T, Ueki Y, Yamana J, Hashimoto J, Matsutani T, Murakami M, Takagi N. Retreatment efficacy and safety of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis in recurrence (RESTORE) study. *Mod Rheumatol*. 2014 Jan;24(1):26-32.
3. Fujita R, Kawano F, Ohira T, Nakai N, Shibaguchi T, Nishimoto N, Ohira Y. Anti-interleukin-6 receptor antibody (MR16-1) promotes muscle regeneration via modulation of gene expressions in infiltrated macrophages. *Biochim Biophys Acta*. 2014.Oct;1840(10):3170-80.
4. Yokota S, Imagawa T, Mori M, Miyamae T, Takei S, Iwata N, Umabayashi H, Murata T, Miyoshi M, Tomiita M, Nishimoto N, Kishimoto T. Longterm safety and effectiveness of the anti-interleukin 6 receptor monoclonal antibody tocilizumab in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis in Japan. *J Rheumatol*. 2014.Apr;41(4):759-67.
5. Tsuru T, Terao K, Murakami M, Matsutani T, Suzuki M, Amamoto T, Nakashima H, Akiyama A, Nishimoto N. Immune response to influenza vaccine and pneumococcal polysaccharide vaccine under IL-6 signal inhibition therapy with tocilizumab. *Mod Rheumatol*. 2014 May;24(3):511-6.
6. Inui S, Itami S, Murakami M, Nishimoto N. Dermoscopy of discoid lupus

erythematosus: Report of two cases. *J Dermatol.* 2014 Aug;41(8):756-7.

7. Quartuccio L, Isola M, Corazza L, Ramos-Casals M, Retamozo S, Ragab GM, Zoheir MN, El-Menyawi MA, Salem MN, Sansonno D, Ferraccioli G, Gremese E, Tzioufas A, Voulgarelis M, Vassilopoulos D, Scarpato S, Pipitone N, Salvarani C, Guillevin L, Terrier B, Cacoub P, Filippini D, Saccardo F, Gabrielli A, Fraticelli P, Sebastiani M, Tomsic M, Tavoni A, Mazzaro C, Pioltelli P, Nishimoto N, Scaini P, Zignego AL, Ferri C, Monti G, Pietrogrande M, Bombardieri S, Galli M, De Vita S. Validation of the classification criteria for cryoglobulinaemic vasculitis. *Rheumatology (Oxford).* 2014 Dec;53(12):2209-13.
8. Ohtsui M, Lin Q, Nishikawa K, Ohtsui N, Okazaki H, Tsurui H, Amano H, Shirai T, Nishimoto N, Nishimura H, Hirose S. IL-6 signal blockade ameliorates the enhanced osteoclastogenesis and the associated joint destruction in a novel Fc γ RIIB-deficient rheumatoid arthritis mouse model. *Mod Rheumatol.* 2014 Aug 27:1-8.
9. Kawamura YI, Adachi Y, Curiel DT, Kawashima R, Kannagi R, Nishimoto N, Dohi T. Therapeutic adenoviral gene transfer of a glycosyltransferase for prevention of peritoneal dissemination and metastasis of gastric cancer. *Cancer Gene Ther.* 2014 Oct;21(10):427-33.

2. 学会発表

1. Nishimoto N, Murakami M, Ito Nogami M, Saito M, Niwa A, Nakahata T. Appearance of CD14+CD15+ population during the differentiation from RA-iPS cells into monocytes. *EULAR 2014. Paris. France.* 2014.6.11-14.
2. Murakami M, Ito Nogami M, Sekiguchi M, Matsui K, Kitano M, Imura Y, Ohmura K, Fujii T, Kuroiwa T, Maeda K, Morita S, Kawahito Y, Mimori T, Sano H, Nishimoto N. T cell CD80/CD86 co-stimulatory blockade does not suppress CD8 (+) subpopulation in the course of 48-week treatment of patients with rheumatoid arthritis. *EULAR2014.Paris.France.* 2014.6.11-14.
3. Murakami M, Ito Nogami M, Sekiguchi M, Matsui K, Kitano M, Imura Y, Ohmura K, Fujii T, Kuroiwa T, Maeda K, Morita S, Kawahito Y, Mimori T, Sano H, Nishimoto N. T cell CD80/CD86 co-stimulatory blockade effectively suppresses CD25 (+) in CD4 (+) T cell subpopulation but not the ACPA titers in the course of 48-week treatment of patients with rheumatoid arthritis. *EULAR 2014. Paris. France.* 2014.6.14.
4. Ishiguro N, Atsumi T, Harigai M, Mimori T, Nishimoto N, Sumida T, Takeuchi T, Tanaka Y, Takagi N, Tanaka K, Yamanaka H. Effectiveness and safety of Tocilizumab in Biologics-Naïve RA Patients-Interim Analysis of PMS for Investigating Success in Achieving Clinical and Functional Remission and Sustaining Efficacy with Tocilizumab in Biologics-Naïve RA Patients(FIRSTBio)Study. *ACR2014.Boston.USA.* 2014.11.14-19.
5. 関口昌弘、藤井隆夫、北野将康、松井聖、三木健司、横田章、橋本英雄、山本相浩、前田恵治、藤本隆、新名直樹、日高利彦、黒岩孝則、村上幸作、大村浩一郎、吉井一郎、川人豊、西本憲弘、三森常世、佐野統. 生物学的

製剤未治療関節リウマチ患者に対するアバタセプトの有効性と安全性の検討 (ABROAD 試験) - 48 週の経過と高齢者における有効性. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. グランドプリンスホテル新高輪. 東京. 2014.4.24-26.

6. 川人豊、藤井隆夫、横田章、橋本英雄、松井聖、三木健司、北野将康、新名直樹、山本相浩、大村浩一郎、黒岩孝則、日高利彦、関口昌弘、西本憲弘、三森常世、佐野統. Abatacept の治療反応性予測因子の検討 (ABROAD 試験). 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. グランドプリンスホテル新高輪. 東京. 2014.4.24-26.
7. 村上美帆、伊藤真里、福家有子、関口昌弘、松井聖、北野将康、井村嘉孝、大村浩一郎、藤井隆夫、黒岩孝則、前田恵治、川人豊、三森常世、佐野統、西本憲弘. RA 患者に対する T 細胞共刺激シグナル抑制治療は抗感情シトルリン化ペプチド抗体価を下げない. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. グランドプリンスホテル新高輪. 東京. 2014.4.24-26.
8. 福家有子、村上美帆、伊藤真里、西本憲弘. RA 患者由来 iPS 細胞を用いた単球系細胞分化における CD14+CD15+細胞の異常発現の検討. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. グランドプリンスホテル新高輪. 東京. 2014.4.24-26.
9. 伊藤真里、村上美帆、福家有子、関口昌弘、松井聖、北野将康、井村嘉孝、大村浩一郎、藤井隆夫、黒岩孝則、前田恵治、川人豊、三森常世、佐野統、西本憲弘. RA 患者に対する T 細胞共刺激シグナル抑制治療は CD8 陽性サブセットには影響しない. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. グランドプリンスホテル新高輪. 東京. 2014.4.24-26.
10. 西本憲弘. 関節リウマチ治療におけるトシリズマブの位置づけと MMP-3 をマーカーに用

いた治療戦略. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. グランドプリンスホテル新高輪. 東京. 2014. 4.24-26.

11. 伊藤真里、村上美帆、丹羽明、齊藤潤、中畑龍俊、西本憲弘. 疾患 iPS 細胞を用いた破骨細胞分化系の構築と分化能の検討. 第 1 回日本骨免疫会議. 万国津梁館. 沖縄. 2014.7.5.
12. 西本憲弘. DNA マイクロアレイを用いたトシリズマブならびにインフリキシマブの関節リウマチ治療効果予測. 第 24 回日本リウマチ学会近畿支部学術集会. 大阪・毎日新聞社オーバルホール. 大阪. 2014.9.6.
13. 西本憲弘. 関節リウマチの最近の診断・治療. 第 44 回日本腎臓学会西部学術大会. 神戸国際会議場. 兵庫. 2014.10.4.
14. 藤井隆夫、関口昌弘、松井聖、前田恵治、横田章、三木健司、新名直樹、黒岩孝則、尾崎吉郎、樋上謙士、吉井一郎、野崎祐史、井川宣、村上孝作、大村浩一郎、森田智視、川上豊、西本憲弘、三森経世、佐野統. 生物学的製剤未使用関節リウマチ患者におけるアバタセプトによる臨床的寛解予測因子の検討 (ABROAD 試験). 第 29 回日本臨床リウマチ学会. 福岡国際会議場. 福岡. 2014.11.29-30.
15. 西本憲弘. DNA マイクロアレイを用いたトシリズマブならびにインフリキシマブの関節リウマチ治療効果予測. 第 29 回日本臨床リウマチ学会. シンポジウム 6 「RA における生物学的製剤のテーラーメイド治療». 福岡国際会議場. 福岡. 2014.11.30.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特記すべきことなし

2. 実用新案登録

特記すべきことなし

3. その他

特記すべきことなし