

NinJaネットワークを利用した関節リウマチ 関連間質性肺病変のバイオマーカー探索

古川 宏[†] 岡 笑美第72回国立病院総合医学会
(2018年11月9日 於 神戸)

IRYO Vol. 74 No. 10 (444-446) 2020

要旨

関節リウマチ (RA : rheumatoid arthritis) は慢性の全身性炎症性疾患であり、関節破壊を引き起こす疾患であるが、関節以外にも皮下結節、心外膜炎、胸膜炎、Felty症候群、血管炎、間質性肺病変 (ILD : interstitial lung disease)、気道病変などの関節外病変を生じることが知られている。近年のRA治療は種々の抗リウマチ薬や生物学的製剤により格段の進歩をみせており、とくに関節破壊抑制効果にきわめて有効な結果が報告されている。しかし、RAの11%程度に合併するILDは生命予後に重大な影響を及ぼしうる。RAに関連するILDは緩徐に進行することが多いが、急性増悪をおこすこともあり、時に致命的である。ILDの急性増悪には抗リウマチ薬などの薬剤が関与している場合がある。既存のILDのバイオマーカーにはKL-6、SP-Dがあるが、これらはカットオフ値が特発性間質性肺炎も含めて設定されており、RAに関連するILDには低感度であり、RAに関連するILDのバイオマーカー開発はきわめて重要な研究課題である。そこで、ゲノムDNAのほかに、血中のサイトカイン類、アミノ酸、マイクロRNA、抗体などのRA関連ILDのバイオマーカー候補を網羅的に測定し、新規バイオマーカーの探索を行ってきた。

キーワード バイオマーカー、関節リウマチ、間質性肺病変

はじめに

関節リウマチ (RA : rheumatoid arthritis) は慢性の全身性炎症性疾患であり、対称性多関節炎を主症状とする。滑膜の増殖と関節破壊を特徴とし、女：男の比は4 : 1程度である。RAの発症に関わる遺伝要因ではHLA-DRB1*04がよく知られているが、環境要因では喫煙・外傷・歯周炎が知られている。リウマトイド因子 (RF, 抗IgG-Fc抗体) と抗CCP抗体 (ACPA : Anti-citrullinated peptide/protein antibody) の自己抗体の産生が特異的である。関節

以外にも皮下結節、心外膜炎、胸膜炎、Felty症候群、血管炎、間質性肺病変 (ILD : interstitial lung disease)、気道病変などの関節外病変を生じることが知られている。近年のRA治療は種々の抗リウマチ薬や生物学的製剤により格段の進歩をみせており、とくに関節破壊抑制効果にきわめて有効な結果が報告されている。しかし、RAに合併するILDは生命予後に重大な影響を及ぼしうる。RAにともなうILDは主に通常型間質性肺炎 (UIP : usual interstitial pneumonia) と非特異性間質性肺炎 (NSIP : nonspecific interstitial pneumonia) からな

筑波大学医学医療系分子遺伝疫学 †教員

著者連絡先：古川 宏 筑波大学 医学医療系分子遺伝疫学 〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1

e-mail : furukawa-ky@umin.org

(2019年2月1日受付, 2020年4月10日受理)

In Search of Biomarkers for Rheumatoid Arthritis Associated Interstitial Lung Disease using iR Network

Hiroshi Furukawa and Shomi Oka, Molecular and Genetic Epidemiology Laboratory, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

(Received Feb. 1, 2019, Accepted Apr. 10, 2020)

Key Words : biomarker, rheumatoid arthritis, interstitial lung disease

る。膠原病にともなうILDでは病理学的にはNSIPが多いといわれているが、RAでは比較的UIPが多く、UIPパターンをとともなう場合に予後が悪いとされている。一方、特発性間質性肺炎ではUIPが多く、NSIPは少ない。しかし、RA患者で肺生検が行われることは少なく、画像診断に基づいて診断されることが多い。RA-ILDの頻度は診断法により大きく異なり、5-40%以上とさまざまである¹⁾。RAにおけるILDの画像評価法には一般的に使用されているものではなく、我々の開発した胸部CT（高解像度CTを含む）所見による評価基準（Sagamihara Criteria）に基づいた調査ではRA患者2316例中247例（11%）にILDが認められた¹⁾。また、RA患者の死因の第1位、11.2%がILDであるという報告もある¹⁾。RAに関連するILDは緩徐に進行することが多いが、急性増悪をおこすこともあり、時に致命的である。ILDの急性増悪には、膠原病にともなうILD自体の増悪と、抗リウマチ薬などの薬剤が関与している場合と、ニューモシスチス肺炎とがある。

既存のILDのバイオマーカーにはKL-6、SP-Dがあるが、これらはカットオフ値が特発性間質性肺炎も含めて設定されており、RAに関連するILDには低感度である。さらに、ILDの急性増悪のマーカーとしても不十分であり、RAに関連するILDのバイオマーカー開発はきわめて重要な研究課題である。そこで、ゲノムDNAのほかに、血中のサイトカイン類、アミノ酸、マイクロRNA、抗体などのRA関連ILDのバイオマーカー候補を網羅的に測定し、新規バイオマーカーの探索を行ってきた。

ゲノムDNA

HLA-DR2はUIPの疾患感受性アレルであり（ $P=0.0036$ ）、DR4は疾患抵抗性アレルであった（ $P=0.0250$ ）。また、*DRB1*14:06*はNSIPの疾患感受性アレルであり（ $P=0.0013$ ）、DR4は疾患抵抗性アレルであった（ $P=0.0339$ ）²⁾。ヨーロッパ系集団では、MUC5B遺伝子のプロモーター領域にある一塩基多型rs35705950（G/T）が特発性肺線維症（IPF）と関連するといわれているが、日本人ではマイナーアレルの頻度が低いために、IPFと弱い関連が報告されているのみである。日本人集団単独ではRAに関連するILDとの関連は認められなかったが、多民族集団での解析では認められた。また、MTX単独投与または生物製剤との併用中に発症した薬剤誘発

性ILDは、HLA-A*31:01と関連した³⁾。

血中のサイトカイン類

急性増悪時と安定時とのペア血清中のサイトカイン類濃度を測定したところ、MMP-1、TIMP-1、osteopontin、IL-2Ra、IL-1RA濃度が増加して、TIMP-2、MMP-3、eotaxin2濃度が減少していた。死亡した患者ではMMP-1に対するMMP-3の比が下がっており、このことはサイトカイン類が予後予測マーカーとして利用可能であることを示唆しているが、よりよいマーカーの開発は必須である⁴⁾。

アミノ酸

RAに関連するILDでは血漿中リシン濃度が高くなっていった。また、アミノ酸濃度からsvm index（AA）を作成したところ、その受信者動作特性（ROC）曲線の曲線下面積（AUC）値は0.79であった。さらに、急性増悪時にはフェニルアラニンとメチオニン濃度が高くなっていったが、Fischer比は下がっていた⁵⁾。

マイクロRNA

21-23塩基長のノンコーディングRNAであるマイクロRNA（miRNA）が血漿中に存在することが明らかになるにつれ、その病態の反映するさまと安定性からバイオマーカーとして注目されるようになってきた。ILDをとともなうRAでは血漿中hsa-miR-214-5p（ $P=0.0156$ ）とhsa-miR-7-5p（ $P=0.0362$ ）の発現上昇が確認された。この2つのmiRNAからmiRNA index（214,7）を作成したところ（ $P=0.0010$ ）、そのROC曲線のAUC値は0.740であった⁶⁾。

抗体

血中の抗HLA抗体や抗顆粒球抗体や抗CADM140/IFIH1/MDA5抗体などがILDの発症と関連する場合があることが知られているが、RA-ILDに関連する自己抗体の報告はまだない。RA患者には多彩な自己抗体が出現・消褪している。ILD合併RA 6例とILD非合併RA 5例の血清検体について、プロトアレイ法で網羅的に自己抗体を測定することにより、RA-ILD合併例に高率に出現する新

規自己抗体の探索を行った。その結果から4個の候補自己抗原を選び、各群30症例の血清検体についてルミネックス法で検証した。非特異的シグナルが強かったため、GSTビーズのシグナルで補正した結果、1つの自己抗体はRA-ILDと弱い負の相関を示していたが(P=0.0383)、他の自己抗体は関連が認められなかった。GST capture ELISA法を用いて再確認を行ったところ、これらの抗原では関連は認められなかった。

おわりに

上記のようにRA関連ILDの新規バイオマーカーの探索を行ってきたが、実用性を考えると十分な成果とはいえ、今後はエクソーム、メタボローム、ウイルスメタゲノム解析(virome)などによる新規バイオマーカーの探索とともに、これらを合わせた複合マーカーの実用性を検討していく必要がある。

〈本論文は第72回国立病院総合医学会シンポジウム「アレルギー・リウマチ領域における最先端の臨床研究」において「*NinJa*ネットワークを利用した関節リウマチ関連間質性肺病変のバイオマーカー探索」として発表した内容に加筆したものである。〉

著者の利益相反：本論文発表内容に関連して以下のとおりの利益相反がある。

ブリストル・マイヤーズ株式会社 研究費・奨学寄付金

【文献】

- 1) Furukawa H, Oka S, Shimada K et al. Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: A protective role for shared epitope. PLoS ONE 2012 ; 7 : e33133.
- 2) Oka S, Furukawa H, Shimada K et al. Association of Human Leukocyte Antigen Alleles with Chronic Lung Diseases in Rheumatoid Arthritis. Rheumatology (Oxford) 2016 ; 55 : 1301-7.
- 3) Furukawa H, Oka S, Shimada K et al. HLA-A*31 : 01 and methotrexate-induced interstitial lung disease in Japanese rheumatoid arthritis patients: A multi-drug hypersensitivity marker? Ann Rheum Dis 2013 ; 72 : 153-5.
- 4) Oka S, Furukawa H, Shimada K et al. Serum biomarker analysis of collagen disease patients with acute-onset diffuse interstitial lung disease. BMC Immunol 2013 ; 14 : 9.
- 5) Furukawa H, Oka S, Takehana K et al. Plasma Amino Acid Profiles in Collagen Disease Patients with Interstitial Lung Disease. Immunome Res 2013 ; 9 : 1000064.
- 6) Oka S, Furukawa H, Shimada K et al. Plasma miRNA expression profiles in rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease. BMC Musculoskelet Disord 2017 ; 18 : 21.