

論文内容要旨

Serum CXCL10 levels are associated with better responses to abatacept treatment of rheumatoid arthritis

(血清 CXCL10 濃度は関節リウマチ患者におけるアバタセプト治療反応性とよく関連する)

Clinical and Experimental Rheumatology, 2019,
in press.

主指導教員：杉山 英二教授
(広島大学病院 リウマチ・膠原病学)

副指導教員：服部 登教授
(医系科学研究科 分子内科学)

副指導教員：坂口 剛正教授
(医系科学研究科 ウイルス学)

湯川 和俊

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【研究の背景】

関節リウマチ (Rheumatoid Arthritis: RA) は破壊性・持続性関節炎を特徴とする全身性炎症性疾患である。アバタセプト(Abatacept: ABT) は抗原提示細胞表面の CD80/86 に結合し、T 細胞の活性化を抑制するユニークな作用を持つ。現時点で ABT を含む生物学的製剤使用前に有効性を予測することは難しいため、ABT 治療反応性に関連するバイオマーカーの検索を本実験の目的とした。今回、*in vitro* で ABT の作用で産生が抑制されるサイトカイン、ケモカインが臨床的にも ABT 治療反応性の有用なバイオマーカーになるとの仮説をたて、まず健常人サンプルを用いた *in vitro* の実験を行い、次に患者検体を用いて、その検証を行った。

【方法, 結果】

1. ABTによるT細胞上清サイトカイン抑制効果を検討するため、健常者末梢血単核球 (n=10) を Ficoll-Isopaque 比重遠心法で分離し、抗 CD3 抗体刺激後、ABT (500 µg/ml) の有無で 3 日間培養した。上清中のサイトカイン (TNF-α, IL-(2, 4, 5, 6, 9, 10, 13, 17A, 17F, 21, 22), IFN-γ) を Cytometric Bead Array (CBA) (Biolegend) で測定した。ABT は IL-(9, 10, 13, 17A, 17F), IFN-γ 産生を抑制し、中でも IFN-γ 産生を顕著に抑制した。

2. ABT を添加した抗 CD3 抗体刺激末梢血単球上清が RA 滑膜細胞に作用して産生されるサイトカイン、ケモカインに対する ABT の抑制効果を検討するため、RA 患者滑膜検体をコラゲナーゼで処理し、ディッシュ付着細胞を RA 滑膜細胞培養系とした。抗 CD3 抗体刺激末梢血単球上清(10%)を加え、23 種類のサイトカイン、ケモカイン(TNF-α, IL-(1b, 1RA, 4, 6, 8, 10, 12p40, 23), IFN-γ, Arginase, CCL(2, 3, 4, 5, 11, 17, 20), CXCL(1, 5, 9, 10, 11))を(CBA) (Biolegend) で測定した所、ABT は CXCL10 産生のみを有意に抑制した。

3. RA 滑膜細胞培養系の CXCL10 発現に対する炎症性サイトカインの影響を検討するため、24 時間の炎症性サイトカイン刺激 (IL-1β, TNF-α, IL-6, IFN-γ 50 ng/ml 単独又は混合)による CXCL10 の mRNA 発現を見た所(n=2), IFN-γ は強力に CXCL10 を誘導した。CXCL10 蛋白発現量も ELISA で確認した所、48 時間の炎症性サイトカイン刺激 (IL-1β, TNF-α, IL-6, IFN-γ, IL-17A 50 ng/ml 単独又は混合) で IFN-γ でのみ CXCL10 は有意に誘導された。

4. 東広島記念病院で初回ABT静注治療を受けたRA患者25名を6か月後の(Disease Activity Score: DAS28-CRP)においてLow disease Activity (LDA)達成の有無でLDA群(13例)、非LDA群(12例)に分け、血清中IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF-α, IFN-γ, CXCL10をCBA (IL-2, 17A, TNF-α, CXCL10) とELISA (IL-4, 6, 10, IFN-γ) (共にBiolegend)で測定した。両群のABT導入前の患者背景(年齢, 性別, 罹病期間, Stage, Class, 腫脹関節数, 圧痛関節痛, DAS28-CRP, MTX投与量, PSL投与量, RF値, 抗CCP抗体値, MMP-3値, サイトカイン濃度)に差は認めなかった。6ヶ月後に両群でIL-6, IL-10の有意な低下を認めた。一方CXCL10はLDA群でのみ有意に低下が認められた。

【考察】

CXCL10 は RA 患者の関節炎、関節破壊進行に重要な役割を果たし、また血清・血漿 CXCL10 濃度が未治療、罹病早期、罹病長期の RA 患者で上昇が知られているが、過去に CXCL10 と ABT

の治療反応性との関連を示した報告はない。LDA群と非LDA群の間で血清中のIFN- γ には差が認められなかったが、IFN- γ で強く誘導されるCXCL10はLDA群で有意に低下しており、ABTの薬剤反応性を評価するマーカーとして、治療の最適化に寄与する可能性を有すると考えられた。