

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）		氏名	湯川 和俊
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当			
論文題目 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)				
論文審査担当者				
主査	教授	保田 朋波流	印	
審査委員	教授	秀 道広		
審査委員	准教授	久保 忠彦		
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>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、まず健康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。</p> <p>実験方法と結果：</p> <p>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、健康者末梢血単核球 (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-(4, 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。</p> <p>2. RA 滑膜細胞から産生されるサイトカイン、ケモカインに対する ABT を添加した抗 CD3 抗体刺激末梢血単球上清による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。</p> <p>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。</p> <p>以上 3 つの in vitro の実験結果をまとめると、ABT は T 細胞上清、RA 滑膜細胞培養系において、IFN-γ および CXCL10 の経路を阻害していることが示され、これらの結果が RA 患者血清でも認められるかを下記の実験で検討した。</p> <p>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</p>				

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.

以上の結果から, 本論文はin vitroでABTの作用で産生が抑制されるCXCL10が, 患者検体を用いた検討でも治療反応性と関連があることが示された. CXCL10はケモカインの一つでIFN- $\gamma$ 刺激により強く誘導され, 破骨細胞誘導などにも関与することが報告されている. 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. 本研究により血清CXCL10濃度が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示され, 臨床的に高く評価される. よって審査委員会委員全員は, 本論文が著者に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた.