

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業))
分担研究報告書

再発性多発軟骨炎の診断と治療体系の確立
—再発性多発軟骨炎における Th1/Th17 細胞機能の検討—

研究分担者 清水 潤 聖マリアンナ医科大学, 免疫学・病害動物学
研究代表者 鈴木 登 聖マリアンナ医科大学免疫学・病害動物学

研究要旨: 再発性多発軟骨炎 (relapsing polychondritis、以下 RP) は、全身の軟骨に炎症を来たしうる原因不明の難治性疾患である。本邦における患者数は 500 人程度と推察され、疫学・病態研究が端緒についたばかりであり、診断・治療指針は未確立である。

研究代表者らは厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「患者支援団体等が主体的に難病研究支援を実施するための体制構築に向けた研究 (JPA 研究班)」の分担研究を担当し、同班研究がいわゆる「患者主体」レジストリを立ち上げ、それが症状主体の前向き研究を可能にすることを確認した。

そのデータを用いた新規治療方法の開発に向けた、新規パラメーターの検討の一環として昨年度は、血清 sTREM-1 レベルは活動性 RP および非活動性 RP を区別することが可能であり、RP の疾患活動性マーカーとして優れていることを発見した。本年度はこの自然免疫機能と対をなす、獲得免疫機能を検討した。

方法は、獲得免疫の中心的役割を果たしている T 細胞の機能発揮に重要とされるサイトカインの血清濃度を測定した。T 細胞機能は Th1、Th17 等に細分化され、それぞれに機能発揮に必要なサイトカインが異なり、ヒトの疾患に大きくかかわるとされるためである。その結果は Th1 細胞機能亢進が明確になり、そこに Th17 細胞が関与している可能性が示唆された。

この獲得免疫の異常は、我々が平成 21～23 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 [課題名: 再発性多発軟骨炎の診断と治療体系の確立] の中で明らかにした、本疾患におけるメトトレキサートの有効性と密接な関連があるものと考えられる。

今後はこの新規疾患パラメーター検討を、「患者主体」レジストリの綿密な情報とあわせて前向き研究をすることで、本疾患の病態解明および適切な治療方法の確立を目指す。

A. 研究目的

i) 研究の背景

再発性多発軟骨炎の疫学調査

再発性多発軟骨炎 (relapsing polychondritis、以下 RP) は、原因不明で稀な難治性疾患である。本邦における疫学情報や病態研究は不十分であり、かつ診断・治療のための指針が作成されていない。その為、認知度が低く診断が見逃されているケースも多く、気道軟骨病変などの臓器病変を伴う患者の予後は極めて不良であり、診断、治療法の確立が急務である。

我々は平成 21 年度厚生労働科学研究費補助

金難治性疾患克服研究事業 [課題名: 再発性多発軟骨炎の診断と治療体系の確立] において、RP に対する患者実態・疫学調査 (RP 239 症例) を行ない、本邦の患者実態として、本邦全体の患者数がおおよそ 500 人程度と推察されること、発症年齢は 3 歳より 97 歳まで多年齢層にわたり、平均は 52.7 歳であること、男性と女性の割合がほぼ同じであること、重症例となりやすい気道病変を持つ患者の割合が 50% 程度になることを明らかにした。治療においては、気道病変はステロイド単独治療ではその病勢を抑えられないため、免疫抑制剤 (メトトレキ

セート)が必要となることを発見した(文献1)。

そこで現在免疫抑制剤を用いた臨床試験を計画しており、そのため新たな患者登録・追跡システムが必要となった。その際、適切でかつ正確な臨床検査データの収集と、疾患機序解明のための新規疾患パラメーターの開発が不可欠である。

ii) 本年度研究の目的=新規疾患パラメーターの開発

これまで RP 患者の疾患活動性は CRP や抗 type II コラーゲン抗体によって評価されており、急性期には多くの RP 患者で高値を認める。しかしながら、CRP が正常範囲内にある症例でも軟骨の破壊・線維化が進む例も多く、CRP では疾患活動性の評価が困難な面がある。また抗 type II コラーゲン抗体も疾患活動性との相関が報告されているが、陽性者は RP 患者の 30~50%にすぎず、感度・特異度もあまり高くないという報告もある。そこで、昨年度までに RP を検出する感度のよいマーカーを同定する目的で 28 種類のマーカー候補分子の中から、健常者と比較して RP 患者血清で有意に高値を示す分子を探索し、可溶性 TREM-1(sTREM-1)、インターフェロン γ 、CCL4/MIP-1 β 、VEGF および MMP-3 を同定した。その中でも血清 sTREM-1 レベルは活動性 RP および非活動性 RP も区別することが可能であり、RP の疾患活動性マーカーとして優れていることを発見した。

ヒトの免疫機能は、自然免疫と獲得免疫にてなりたっており、(1)(2)の自然免疫に加えて獲得免疫の異常を研究することは治療効果を上昇させるために重要なことと考える。近年、様々なヒト免疫疾患において Th1 細胞および Th17 細胞という獲得免疫の主要な細胞に異常がみられることが報告されている(後述)。本年度はこの細胞群の維持に必須であるサイトカインの血中濃度を測定する。

iii) 期待される研究成果

- ①患者登録・追跡における IT 技術の積極利用による、高効率化。
- ②情報収集の多元化による、患者訴えの綿密な収集。
- ③JPA 研究班を通じて、国レジストリ作成への意見反映の試み。
- ④RP の病態・病勢を的確に反映する、簡便な検査法の確立。
- ⑤RP に有効性が高いと考えられるメソトレキセート治療の前向き研究における評価方法の確立。

B. 平成 25 年度研究結果

i) Th1 細胞、Th17 細胞

獲得免疫の要である T 細胞は、生体の局所にあわせた機能の発揮のため、網内系においていくつかのサブセットに分化する。Th1 細胞と Th17 細胞は、代表的な炎症惹起性のサブセットのひとつであり、前者は細胞内寄生菌、後者は細胞外寄生菌および真菌の排除にあたりとされている。また、その分化には Th1 細胞は IL-12、Th17 細胞は TGF β および IL-6 というサイトカインが必要であり、さらに Th17 細胞はその増殖・維持に IL-23 を要する。

ii) ヒト免疫疾患と Th1 細胞、Th17 細胞

双方のサブセットともに関節リウマチに代表されるヒト免疫疾患の原因の一つであることが証明されており、抗体療法が臨床的に使用され始めている。

我々は厚生労働科学研究難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)ベーチェット病に関する調査研究の分担研究において、ベーチェット病にて①末梢血における Th17 細胞の増加および Th1 細胞の減少、②末梢血ナイーブ CD4⁺T 細胞が、IL-12 の存在下にて Th1 細胞様、IL-23 の存在下にて Th17 細胞様の過反応を示すこと等を発見し、双方の

細胞ともに病態に密接に関連している可能性を提示した。(文献2~5)

iii) RP 血清中 Th1/Th17 細胞関連サイトカイン濃度の検討

本年度は疾患および健常者血清中の IFN γ 、IL-12、IL-17 および IL-23 濃度を観察し、生体内での T 細胞分化誘導環境を検討した。

対象は RP6 例、健常者 8 例、疾患コントロールとしてベーチェット病 4 例。それぞれのキットを用い測定した。

RP において Th1 細胞が産生する IFN γ の上昇、Th1 細胞の維持に重要な IL-12 の低下がみられ、Th1 細胞の過剰な活性化とそのネガティブフィードバックが考察された(図 1)。

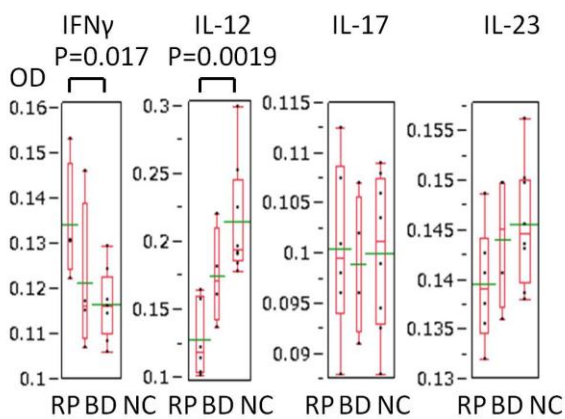


図1 RP、ベーチェット病(BD;疾患コントロール)、健常者(NC)の血中Th1/Th17細胞関連サイトカイン濃度

さらにそのIFN γ 濃度はIL-23濃度と正相関(P=0.028)を示した(図2)。IL-23がその活性に重要に関与するTh17細胞もTh1細胞機能を介して、二次的にRPの病態形成に関わることが示唆される。

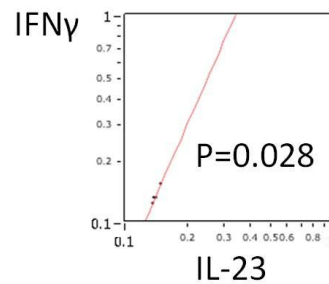


図2 RPにおける血中サイトカイン濃度の相関検討

C. 結語

結果のii)項で記載したように、我々はTh1/Th17細胞機能とその相互関係を鋭敏に反映するリンパ球機能検査を確立しており、今後RPでの詳細な解析を行う。前述のJPA研究班による新患者レジストリ方法と本検査法を有機的に結合させることで、迅速な治療指針の確立を図ることを今後の目的とする。

文献

- 1) Hiroshi Oka, Yoshihisa Yamano, Jun Shimizu, Kazuo Yudoh, Noboru, Suzuki. A large-scale survey of patients with relapsing polychondritis in Japan. Inflammation and Regeneration. In press.
- 2) Shimizu J, Izumi T, Arimitsu N et al (2012) Skewed TGF β /Smad signalling pathway in T cells in patients with Behçet's disease. Clin Exp Rheumatol 30:S35-39
- 3) Shimizu J, Takai K, Fujiwara N et al (2012) Excessive CD4+ T cells co-expressing interleukin-17 and interferon- γ in patients with Behçet's disease. Clin Exp Immunol 168:68-74
- 4) Shimizu J, Izumi T, Suzuki N (2012)

Aberrant Activation of Heat Shock Protein 60/65 Reactive T Cells in Patients with Behcet's Disease. *Autoimmune Dis.* doi:10.1155/2012/105205

- 5) Shimizu J, Kaneko F, Suzuki N (2013) Skewed helper T cell responses to IL12 family cytokines produced by antigen presenting cells and the genetic background in Behcet's Disease. *Genet Res Int.* doi:10.1155/2013/363859