

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）

末梢血単核球の網羅的遺伝子発現解析による関節リウマチに対する  
トシリズマブの薬効予測と効果発現機序の解明に関する研究

分担研究報告書 3

関節リウマチに対するトシリズマブの薬効予測と効果発現機序の解明のための  
末梢血単核球における網羅的遺伝子発現解析

研究分担者 須藤 明

千葉大学大学院医学研究院遺伝子制御学 助教

研究要旨

本研究では、関節リウマチ（RA）に対するトシリズマブ（TCZ）の薬効予測方法を確立し効果発現機序を解明するため、TCZ およびコントロール薬剤投与症例の末梢血単核球（PBMC）における網羅的遺伝子発現解析を行った。

TCZ 症例 37 例、MTX 症例 5 例、IFX 症例 5 例、ETN 症例 5 例、ADA 症例 5 例ならびに ABT 症例 4 例が試験に参加し、それぞれ 60、15、15、15、13、9 検体で PBMC の mRNA が抽出され、それぞれ 60、10、12、11、10、6 検体で DNA アレイ解析が施行された。

TCZ を投与された RA 症例において PBMC の網羅的遺伝子発現解析が施行され、RA に対する TCZ の薬効予測方法を確立し効果発現機序を解明するための情報が収集された。

A. 研究目的

関節リウマチ（RA）に対するトシリズマブ（TCZ）の薬効予測方法を確立し効果発現機序を解明するため、TCZ およびコントロール薬剤投与症例の末梢血単核球（PBMC）における網羅的遺伝子発現解析を行うことを目的とした。

B. 方法

TCZ を新規に投与した RA 患者 37 症例、またコントロールとしてメトトレキサート（MTX）、インフリキシマブ（IFX）、エタネルセプト（ETN）、アダリムマブ（ADA）ならびにアバタセプト（ABT）を新規に投与した RA 患者それぞれ 5 症例ずつを 6 ヶ月間経過観察した。0 週、12 週、24 週の時点で全血 5 mL をヘパリン採血し、Ficoll-Paque™ PLUS を用いて速やかに PBMC を分離後、mRNA を抽出し DNA アレイを用いて遺伝子発現を包括的に解析した。DNA アレイはかざさ

DNA 研究所において Agilent 社製遺伝子発現用マイクロアレイ Human Whole Genome を用いて行う。ラベル化方法は Agilent 社製 Quick Amp Labeling Kit (1color) を使用した。

C. 結果

TCZ 症例 37 例、MTX 症例 5 例、IFX 症例 5 例、ETN 症例 5 例、ADA 症例 5 例ならびに ABT 症例 4 例が試験に参加し、それぞれ 60、15、15、15、13、9 検体で PBMC の mRNA が抽出され、それぞれ 60、10、12、11、10、6 検体で DNA アレイ解析が施行された。

D. 考察

本課題でのアレイ解析の特徴として全血ではなく PBMC を対象としたことが挙げられる。PBMC 分離後に定期的に行う flow cytometry による確認では顆粒球の混入は常に 5%以下であり、本サンプル結果を用い

ることによりターゲットとするリンパ球および単球における遺伝子発現の違いあるいは変動を効率良く検出できると考えられる。現在コントロール薬剤投与症例におけるPBMCの網羅的遺伝子発現解析も進行しており、解析結果の比較によりTCZの特異性を示すことが可能となる。

#### E. 結論

TCZを投与されたRA症例においてPBMCの網羅的遺伝子発現解析が施行され、RAに対するTCZの薬効予測方法を確立し効果発現機序を解明するための情報が収集された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

英文

1. Iwata A, Ikeda K, Hirose K, Takatori H, Takahashi T, Sanayama Y, Tanaka S, Suto A, Nakajima H. Pre-dinner administration increases the efficacy of proton pump inhibitors on refractory GERD symptoms in connective tissue disease patients. *Mod Rheumatol* 2012, in press
2. Nakagomi D, Ikeda K, Kawashima H, Kobayashi Y, Suto A, Nakajima H. Bucillamine-induced yellow nail in Japanese patients with rheumatoid arthritis: two case reports and a review of 36 reported cases. *Rheumatol Int* 2011, in press
3. Oya Y, Watanabe N, Kobayashi Y, Owada T, Oki M, Ikeda K, Suto A, Kagami S, Hirose K, Kishimoto T, Nakajima H. Lack of B and T lymphocyte attenuator exacerbates autoimmune disorders and induces Fas-independent liver injury in MRL-lpr/lpr mice. *Int Immunol* 2011; 23: 335-44

和文

1. 須藤明, 柏熊大輔, 中島裕史. BTLAに

よる濾胞ヘルパーT細胞の機能制御. *臨床免疫・アレルギー科* 2011;55:501-6.

##### 2. 学会発表

国際学会

1. Takahashi K, Kawashima S, Niwa Y, Iwata A, Kobayashi Y, Kagami S, Suto A, Hirose K, Watanabe N, Nakayama T, Nakajima H. (2012) IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. The American Association of Immunologists, Boston, USA

国内学会

1. 山形美絵子, 田中繁, 中込大樹, 岩田有史, 池田啓, 須藤明, 加々美新一郎, 廣瀬晃一, 中島裕史. 膠原病治療中に生じたノカルジア感染症の臨床的検討. *第56回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2012年4月26日, 東京.
2. 牧田荘平, 岩本太郎, 細川淳一, 山形美絵子, 中込大樹, 池田啓, 須藤明, 鈴木浩太郎, 渡邊紀彦, 中島裕史. Calcineurin阻害剤により posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES)を呈した膠原病の2例. *第61回日本アレルギー学会秋季学術大会*. 2011年11月11日, 東京.
3. 池田啓, 川島広稔, 高橋健太郎, 平松有希子, 横田雅也, 岩田有史, 柏熊大輔, 若新英史, 高取宏昌, 須藤明, 加々美新一郎, 鈴木浩太郎, 廣瀬晃一, 渡邊紀彦, 中島裕史. 膠原病ならびにリウマチ性疾患患者のQuality of Life調査. *第55回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2011年7月19日, 神戸
4. 横田雅也, 須藤明, 池田啓, 鈴木浩太郎, 渡邊紀彦, 中島裕史. 気管支喘息患者のQOL調査. *第23回日本アレルギー学会春季臨床大会*. 2011年5月15日, 千葉

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし  
3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）

末梢血単核球の網羅的遺伝子発現解析による関節リウマチに対する  
トシリズマブの薬効予測と効果発現機序の解明に関する研究

分担研究報告書 4

関節リウマチに対するトシリズマブの薬効予測と効果発現機序の解明のための  
末梢血 CD4 陽性 T 細胞における網羅的遺伝子発現解析

研究分担者 鈴木 浩太郎

千葉大学大学院医学研究院遺伝子制御学 G-COE 特任助教

#### 研究要旨

本研究では、関節リウマチ（RA）に対するトシリズマブ（TCZ）の薬効予測方法を確立し効果発現機序を解明するため、TCZ およびコントロール薬剤投与症例の末梢血単核球（PBMC）における網羅的遺伝子発現解析を行った。

TCZ 症例 37 例、MTX 症例 5 例、IFX 症例 5 例、ETN 症例 5 例、ADA 症例 5 例ならびに ABT 症例 4 例が試験に参加し、それぞれ 60、15、15、15、13、9 検体で純化した CD4 陽性 T 細胞の mRNA が抽出され、それぞれ 60、10、12、11、10、6 検体で DNA アレイ解析が施行された。

TCZ を投与された RA 症例において PBMC の網羅的遺伝子発現解析が施行され、RA に対する TCZ の薬効予測方法を確立し効果発現機序を解明するための情報が収集された。

#### A. 研究目的

関節リウマチ（RA）に対するトシリズマブ（TCZ）の薬効予測方法を確立し効果発現機序を解明するため、TCZ およびコントロール薬剤投与症例の末梢血単核球（PBMC）における網羅的遺伝子発現解析を行うことを目的とした。

#### B. 方法

TCZ を新規に投与した RA 患者 37 症例、またコントロールとしてメトトレキサート（MTX）、インフリキシマブ（IFX）、エタネルセプト（ETN）、アダリムマブ（ADA）ならびにアバタセプト（ABT）を新規に投与した RA 患者それぞれ 5 症例ずつを 6 ヶ月間経過観察した。0 週、12 週、24 週の時点で全血 15 mL をヘパリン採血し、Ficoll-Paque TM PLUS を用いて速やかに PBMC を分離、さらに MACS 細胞分離システムを用いて CD4 陽性 T 細胞に分離し、mRNA を抽出し DNA アレ

イを用いて遺伝子発現を包括的に解析した。DNA アレイはかずさ DNA 研究所において Agilent 社製遺伝子発現用マイクロアレイ Human Whole Genome を用いて行う。ラベル化方法は Agilent 社製 Quick Amp Labeling Kit (1color) を使用した。

#### C. 結果

TCZ 症例 37 例、MTX 症例 5 例、IFX 症例 5 例、ETN 症例 5 例、ADA 症例 5 例ならびに ABT 症例 4 例が試験に参加し、それぞれ 50、12、12、15、13、9 検体で CD4 陽性 T 細胞の mRNA が抽出され、それぞれ 39、10、11、11、6 検体で DNA アレイ解析が施行された。

#### D. 考察

本課題でのアレイ解析の特徴として CD4 陽性 T 細胞を対象とした解析を行うことが挙げられる。CD4 陽性 T 細胞分離後に

定期的に行う flow cytometry による確認では CD4 陽性 T 細胞の純度は常に 90%以上であり、本サンプル結果を用いることにより CD4 陽性 T 細胞での遺伝子発現の違いあるいは変動を効率良く検出できると考えられる。予定症例数での解析結果により、RA に対するトシリズマブ TCZ の薬効予測方法を確立し、また効果発現機序を効率良く解明することが可能と考えられる。

#### E. 結論

TCZ およびコントロール薬剤を投与された RA 症例における CD4 陽性 T 細胞の網羅的遺伝子発現解析手法が確立し、解析が進行している。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

英文

1. Nakagomi D, Suzuki K, Nakajima H. Critical roles of IKK subunits in mast cell degranulation. *Int Arch Allergy Immunol* 2012, in press
2. Murphy SH, Suzuki K, Downes M, Welch GL, De Jesus P, Miraglia LJ, Orth AP, Chanda SK, Evans RM, Verma IM. Tumor suppressor protein (p)53, is a regulator of NF-kappaB repression by the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:17117-22.
3. Suzuki K, Murphy SH, Xia Y, Yokota M, Nakagomi D, Liu F, Verma IM, Nakajima H. Tumor suppressor p53 functions as a negative regulator in IgE-mediated mast cell activation. *PLoS One* 2011;6:e25412.
4. Iida K, Suzuki K, Yokota M, Nakagomi D, Wakashin H, Iwata A, Kawashima H, Takatori H, Nakajima H. STAT4 is required for IFN-beta-induced MCP-1 mRNA expression in murine mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol* 2011;155 Suppl 1:71-6.

和文

1. 鈴木浩太郎. 気管支喘息における CD4 陽性 T 細胞内 BAFF レセプターシグナルの役割の解明 アレルギー 2011;40, 78-9.

##### 2. 学会発表

国際学会

1. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Sanayama Y, Takatori H, Suzuki K, Takabayashi K, Nakajima H. Ultrasonographic assessment of synovitis improves the accuracy of 2010 American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism classification criteria for rheumatoid arthritis to predict development of a methotrexate-requiring disease. *2012 European League Against Rheumatism Congress*. 2012.6.8, Berlin, Germany (abstract accepted)
2. Suzuki K. Tumor suppressor p53 functions as a negative regulator in IgE-mediated mast cell activation. *Rudbeck Life Science Symposium, 2nd Chiba-Uppsala Meeting*. 2012, Uppsala, Sweden
3. Suzuki K. Tumor suppressor p53 functions as a negative regulator in IgE-mediated mast cell activation. *IMSUT/RCAST-Chiba University Global COE Joint Retreat 2011*, Chiba, Japan
4. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Suzuki Y, Takatori H, Suzuki K, Takabayashi K, Nakajima H. The impact of ultrasonography on the classification of rheumatoid arthritis with 2010 ACR/EULAR criteria: ultrasound-combined classification with two different definitions of gray-scale synovitis for joint involvement. *2011 American College of Rheumatology Annual Meeting*. 2011.11.6, Chicago, USA
5. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Suzuki Y, Takatori H, Suzuki K, Takabayashi K, Nakajima H. The impact of ultrasonography on the classification of RA

with 2010 ACR/EULAR criteria. *2011 European League Against Rheumatism Congress*. 2011.5.27, London, UK

#### 国内学会

1. 細川淳一, 鈴木浩太郎, 中込大樹, 岩本太郎, 池田啓, 中島裕史. 中枢神経ループス患者における脳脊髄液中 BAFF 値の検討. *第56回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2012年4月28日, 東京.
2. 中込大樹, 池田啓, 細川淳一, 山形美絵子, 大久保綾子, 岩本太郎, 鈴木快枝, 川島広稔, 星野東明, 高橋健太郎, 若新英史, 高取宏昌, 鈴木浩太郎, 高林克日己, 中島裕史. 超音波滑膜評価による2010年ACR/EULAR関節リウマチ分類基準の精度の向上. *第56回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2012年4月27日, 東京.
3. 牧田荘平, 岩本太郎, 細川淳一, 山形美絵子, 中込大樹, 池田啓, 須藤明, 鈴木浩太郎, 渡邊紀彦, 中島裕史. Calcineurin 阻害剤により posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) を呈した膠原病の2例. *第61回日本アレルギー学会秋季学術大会*. 2011年11月11日, 東京.
4. 池田啓, 川島広稔, 高橋健太郎, 平松有希子, 横田雅也, 岩田有史, 柏熊大輔, 若新英史, 高取宏昌, 須藤明, 加々美新一郎, 鈴木浩太郎, 廣瀬晃一, 渡邊紀彦, 中島裕史. 膠原病ならびにリウマチ性疾患患者の Quality of Life 調査. *第55回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2011年7月19日, 神戸.
5. 中込大樹, 池田啓, 大久保綾子, 岩本太郎, 鈴木快枝, 川島広稔, 高橋健太郎, 田中繁, 若新英史, 高取宏昌, 鈴木浩太郎, 高林克日己, 中島裕史. ACR/EULAR 分類基準による関節リウマチ分類における関節超音波検査併用の影響. *第55回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2011年7月18日, 神戸.
6. 横田雅也, 須藤明, 池田啓, 鈴木浩太郎, 渡邊紀彦, 中島裕史. 気管支喘息患者の QOL 調査. *第23回日本アレルギー学会春季臨床大会*. 2011年5月15日, 千葉.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

末梢血単核球の網羅的遺伝子発現解析による関節リウマチに対する  
トシリズマブの薬効予測と効果発現機序の解明に関する研究

分担研究報告書 5

末梢血単核球の網羅的遺伝子発現解析による  
関節リウマチに対するトシリズマブの薬効予測に関する研究

研究分担者 中島 裕史  
千葉大学大学院医学研究院遺伝子制御学 教授

研究要旨

本研究では末梢血単核球 (PBMC) の網羅的遺伝子発現解析のデータをもとに、トシリズマブ (TCZ) の薬効予測遺伝子を抽出することを目的とした。

TCZ を新規に投与する関節リウマチ (RA) 患者 37 症例の、治療前の PBMC の網羅的遺伝子発現を DNA アレイを用いて包括的に解析した。治療 6 ヶ月での CDAI (Clinical Disease Activity Index) カテゴリ変化および医師総合評価により無効群と有効群を同定し、両群でシグナル値に差のあるプローブを抽出した。

その結果 2 つの治療効果判定方法で共通するプローブが 56 個抽出され、遺伝子の重複は認められなかった。これらの遺伝子による薬効予測の検証が行われている。

A. 研究目的

末梢血単核球 (PBMC) の網羅的遺伝子発現解析のデータをもとに、トシリズマブ (TCZ) の薬効予測遺伝子を抽出することを目的とした。

B. 方法

TCZ を新規に投与する関節リウマチ (RA) 患者 37 症例の、治療前の全血 20mL をヘパリン採血した。速やかに PBMC を分離し遺伝子発現を DNA アレイを用いて包括的に解析した。治療 6 ヶ月での治療効果判定を CDAI (Clinical Disease Activity Index) 変化量および医師総合評価により判定し、無効群と有効群で発現シグナル値に有意差のある上位プローブを抽出した。

C. 結果

TCZ 治療開始後 6 ヶ月後、CDAI 変化量により無効群 (n = 4) と有効群 (n = 29)、また医師総合評価による無効群 (n = 6) と

有効群 (n = 30) がそれぞれ同定された。それぞれの治療効果判定基準での無効群と有効群で、ベースラインにおけるシグナル値が Welch の t 検定にて有意に異なり (p < 0.05)、シグナル値の比が 1.5 を超えるプローブを抽出したところ、共通する 56 プローブが同定された。

D. 考察

TCZ 投与患者では治療効果の有無に関わらず殆どの症例で炎症反応の著明な低下を認めるため、治療効果判定方法は炎症反応を含む DAS (Disease Activity Score) や SDAI (Simplified Disease Activity Index) ではなく CDAI および医師総合評価が選択された。感染の合併と併用治療により 4 症例にて 6 ヶ月後の CDAI が評価困難であったが、残りの症例で抽出されたプローブの多くが医師総合評価を用いた場合と共通しており、クラスター解析の結果と合わせ、信頼性の高い抽出がなされたと考えられる。

これらをバリデーションコホートを用いて解析することにより TCZ の薬効予測モデルを構築し、実用化することが可能と考えられる。

#### E. 結論

DNA アレイによる PBMC の網羅的遺伝子発現解析のデータをもとに、TCZ の薬効予測遺伝子候補が抽出された。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表 英文

- Iwata A, Ikeda K, Hirose K, Takatori H, Takahashi T, Sanayama Y, Tanaka S, Suto A, [Nakajima H](#). Pre-dinner administration increases the efficacy of proton pump inhibitors on refractory GERD symptoms in connective tissue disease patients. *Mod Rheumatol* 2012, in press
- Nakagomi D, Suzuki K, [Nakajima H](#). Critical roles of IKK subunits in mast cell degranulation. *Int Arch Allergy Immunol* 2012, in press
- Saito Y, Kagami S-I, Kawashima S, Takahashi K, Ikeda K, Hirose K, Oshitari T, Yamamoto S, Okamoto Y, [Nakajima H](#). Roles of CRTH2+ CD4+ T cells in IgG4-related lacrimal gland enlargement. *Int Arch Allergy Immunol* 2012, in press
- Oki M, Watanabe N, Owada T, Oya Y, Ikeda K, Saito T, Matsumura R, Seto Y, Iwamoto I, [Nakajima H](#). A functional polymorphism in B and T lymphocyte attenuator is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol* 2011, in press
- Nakagomi D, Ikeda K, Kawashima H, Kobayashi Y, Suto A, [Nakajima H](#). Bucillamine-induced yellow nail in Japanese patients with rheumatoid arthritis: two case reports and a review of 36 reported cases. *Rheumatol Int* 2011, in press
- Hiwasa T, Utsumi T, Yasuraoka M, Hanamura N, Shimada H, [Nakajima H](#), Kitagawa M, Iwadate Y, Goto K, Takeda A, Ohtsuka K, Ariga H, Takiguchi M. Functional similarity of anticancer drugs by MTT bioassay. *J Cancer Sci Ther* 2011, 3:250-5.
- Takahashi K, Hirose K, Kawashima S, Niwa Y, Wakashin H, Iwata A, Tokoyoda K, Renaud JC, Iwamoto I, Nakayama T, [Nakajima H](#). IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:1067-76.
- Suzuki K, Murphy SH, Xia Y, Yokota M, Nakagomi D, Liu F, Verma IM, [Nakajima H](#). Tumor suppressor p53 functions as a negative regulator in IgE-mediated mast cell activation. *PLoS One* 2011;6:e25412.
- Iida K, Suzuki K, Yokota M, Nakagomi D, Wakashin H, Iwata A, Kawashima H, Takatori H, [Nakajima H](#). STAT4 is required for IFN-beta-induced MCP-1 mRNA expression in murine mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol* 2011;155 Supple 1:71-6.
- [Nakajima H](#), Kawashima S, Tamachi T, Takahashi K, Hirose K. Role of IL-25 in allergic airway inflammation. *Inflammation and Regeneration* 2011, 31, 420-4
- Oya Y, Watanabe N, Kobayashi Y, Owada T, Oki M, Ikeda K, Suto A, Kagami S, Hirose K, Kishimoto T, [Nakajima H](#). Lack of B and T lymphocyte attenuator exacerbates autoimmune disorders and induces Fas-independent liver injury in MRL-lpr/lpr mice. *Int Immunol* 2011; 23; 335-44
- Koga S, Ikeda K, Nakagomi D, Mori M, Kuwabara S, [Nakajima H](#). A patient with neuromyelitis optica with positive anti-Ro



(SS-A) antibody presenting with intractable hiccup and nausea. *Mod Rheumatol* 2011; 21; 561-2

和文

1. 池田啓, 中島裕史. サイトカインと病態: アレルギー. *臨床免疫・アレルギー科* 2012;57:S715-20
2. 池田啓, 中込大樹, 中島裕史. 関節リウマチ診療における関節エコーの有用性. *治療* 2012; 94; 214-20
3. 池田啓, 中島裕史. 関節エコー画像の特徴. *Mebio* 2011; 28; 70-9
4. 須藤明, 柏熊大輔, 中島裕史. BTLA による濾胞ヘルパーT細胞の機能制御. *臨床免疫・アレルギー科* 2011;55:501-6.
5. 中島裕史. アレルギー性炎症: 誘導機構の解明と臨床への展開. *生物と化学* 2011;49:620-4.
6. 中島裕史. 気管支喘息に対する抗体治療. *医学のあゆみ 特集号* 2011;238:701-6.
7. 中島裕史, 若新英史, 廣瀬晃一. アレルギーとTh17細胞. *鼻アレルギーフロンティア* 2011;11:34-40.
8. 中島裕史, 廣瀬晃一. IL-25とTh2型免疫応答. *感染・炎症・免疫* 2011;41:42-5.
9. 岩田有史, 中島裕史. 気管支喘息とサイトカイン. *アレルギー・免疫* 2011;18:320-31.

2. 学会発表

国際学会

1. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Sanayama Y, Takatori H, Suzuki K, Takabayashi K, Nakajima H. Ultrasonographic assessment of synovitis improves the accuracy of 2010 American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism classification criteria for rheumatoid arthritis to predict development of a methotrexate-requiring disease. *2012 European League Against Rheumatism Congress*. 2012.6.8, Berlin, Germany (abstract accepted)
2. Takahashi K, Kawashima S, Niwa Y, Iwata

A, Kobayashi Y, Kagami S, Suto A, Hirose K, Watanabe N, Nakayama T, Nakajima H. (2012) IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. *99<sup>th</sup> Annual Meeting of The American Association of Immunologists*. 2012. Boston, USA

3. Ikeda K, Makita S, Hosokawa J, Yamagata M, Nakagomi D, Nakajima H. Optic neuropathy associated with Churg-Strauss syndrome: a report of two cases. *The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012*. 2012.3.29. Tokyo, Japan
4. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Suzuki Y, Takatori H, Suzuki K, Takabayashi K, Nakajima H. The impact of ultrasonography on the classification of rheumatoid arthritis with 2010 ACR/EULAR criteria: ultrasound-combined classification with two different definitions of gray-scale synovitis for joint involvement. *2011 American College of Rheumatology Annual Meeting*. 2011.11.6, Chicago, USA
5. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Suzuki Y, Takatori H, Suzuki K, Takabayashi K, Nakajima H. The impact of ultrasonography on the classification of RA with 2010 ACR/EULAR criteria. *2011 European League Against Rheumatism Congress*. 2011.5.27, London, UK

国内学会

1. 牧田荘平, 鈴木快枝, 池田啓, 細川淳一, 山形美絵子, 岩本太郎, 大久保綾子, 小林芳久, 中込大樹, 渡邊紀彦, 中島裕史. 全身性エリテマトーデスを合併した関節リウマチ 3 症例に対するアバタセプトの有効性の検討. *第56回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2012年4月28日, 東京.
2. 細川淳一, 鈴木浩太郎, 中込大樹, 岩本太郎, 池田啓, 中島裕史. 中枢神経

- ループス患者における脳脊髄液中 BAFF 値の検討. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012年4月28日, 東京.
3. 中込大樹, 池田啓, 細川淳一, 山形美絵子, 大久保綾子, 岩本太郎, 鈴木快枝, 川島広稔, 星野東明, 高橋健太郎, 若新英史, 高取宏昌, 鈴木浩太郎, 高林克日己, 中島裕史. 超音波滑膜評価による2010年ACR/EULAR関節リウマチ分類基準の精度の向上. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012年4月27日, 東京.
  4. 山形美絵子, 田中繁, 中込大樹, 岩田有史, 池田啓, 須藤明, 加々美新一郎, 廣瀬晃一, 中島裕史. 膠原病治療中に生じたノカルジア感染症の臨床的検討. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012年4月26日, 東京.
  5. 牧田荘平, 岩本太郎, 細川淳一, 山形美絵子, 中込大樹, 池田啓, 須藤明, 鈴木浩太郎, 渡邊紀彦, 中島裕史. Calcineurin 阻害剤により posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) を呈した膠原病の2例. 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2011年11月11日, 東京.
  6. 加々美新一郎, 細川淳一, 山形美絵子, 池田啓, 廣瀬晃一, 中島裕史. IgG4 関連涙腺腫脹症例における PGD2-CRTH2 経路の役割の解析. 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2011年11月10日, 東京.
  7. 中島裕史. アレルギー研究の最近の動向 第40回日本免疫学会総会・学術集会 2011年11月, 千葉
  8. 中島裕史. 胚中心反応と濾胞ヘルパーT細胞に関する最近の話題 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会 2011年11月, 東京
  9. 中島裕史. アレルギー性気道炎症:最近の話題 第5回相模原臨床アレルギーセミナー 2011年8月, 横浜
  10. 中島裕史. アレルギー性炎症:喘息モデルマウスからわかったこと 免疫サマースクール2011 2011年8月, 蔵王
  11. 中島裕史. アレルギー研究の最前線と新しい治療 免疫サマースクール2011 2011年8月, 蔵王
  12. 大久保綾子, 岩本太郎, 鈴木快枝, 中込大樹, 川島広稔, 小林芳久, 平松有希子, 池田啓, 渡邊紀彦, 中島裕史. 全身性エリテマトーデスの治療中に腸管囊腫様気腫症および気腫性膀胱炎を合併した一例. 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2011年7月19日, 神戸
  13. 池田啓, 川島広稔, 高橋健太郎, 平松有希子, 横田雅也, 岩田有史, 柏熊大輔, 若新英史, 高取宏昌, 須藤明, 加々美新一郎, 鈴木浩太郎, 廣瀬晃一, 渡邊紀彦, 中島裕史. 膠原病ならびにリウマチ性疾患患者の Quality of Life 調査. 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2011年7月19日, 神戸
  14. 松浦功, 山形美絵子, 柏熊大輔, 古田俊介, 池田啓, 中島裕史, 岩本逸夫, 吉田象二. 関節リウマチ患者の骨代謝に対するトシリズマブの効果. 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2011年7月19日, 神戸
  15. 中込大樹, 池田啓, 大久保綾子, 岩本太郎, 鈴木快枝, 川島広稔, 高橋健太郎, 田中繁, 若新英史, 高取宏昌, 鈴木浩太郎, 高林克日己, 中島裕史. ACR/EULAR 分類基準による関節リウマチ分類における関節超音波検査併用の影響. 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2011年7月18日, 神戸
  16. 柏熊大輔, 古田俊介, 松浦功, 池田啓, 中島裕史, 吉田象二, 岩本逸夫. 抗ds-DNA 抗体価のキット間における測定結果の乖離と SLE 臨床指標の検討. 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2011年7月18日, 神戸
  17. 古田俊介, 山形美絵子, 松浦功, 柏熊大輔, 岩本逸夫, 吉田象二, 鈴木快枝, 池田啓, 加々美新一郎, 中島裕史. トシリズマブ DNA アレイ解析によるトシリズマブの関節リウマチに対する薬効予測. 第55回日本リウマチ学会総会・

- 学術集会. 2011年7月18日, 神戸
18. 中島裕史. アレルギー性気道炎症の制御機構. 第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会 2011年7月, 甲府
19. 横田雅也, 須藤明, 池田啓, 鈴木浩太郎, 渡邊紀彦, 中島裕史. 気管支喘息患者のQOL調査. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2011年5月15日, 千葉
20. 大久保綾子, 中込大樹, 池田啓, 岩本太郎, 廣瀬晃一, 中島裕史. Nutcracker esophagus (NE) を合併した好酸球性食道炎の一例. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2011年5月15日, 千葉
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
「関節リウマチに対する抗 IL-6 受容体抗体療法の有効性の予測方法」特願 2011-156921
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）

末梢血単核球の網羅的遺伝子発現解析による関節リウマチに対する  
トシリズマブの薬効予測と効果発現機序の解明に関する研究

## 分担研究報告書 6

末梢血単核球における定量的 PCR による  
関節リウマチに対するトシリズマブの薬効予測モデルの構築に関する研究

研究分担者 廣瀬 晃一

千葉大学医学部附属病院アレルギー・膠原病内科 講師

### 研究要旨

本研究では末梢血単核球（PBMC）の網羅的遺伝子発現解析のデータにより抽出された 56 遺伝子の real-time PCR を用いて関節リウマチ（RA）に対するトシリズマブ（TCZ）の薬効予測モデルを構築することを目的とした。

56 遺伝子中 10 遺伝子に注目し、それぞれに対して特異的なプライマーを設定し、健常者ならびに RA 患者の PBMC の RNA 検体において real-time PCR と DNA アレイのシグナル値との相関を検討した。その結果 10 遺伝子中 5 遺伝子では両者の高い相関が認められた。

real-time PCR を用いた TCZ の薬効予測モデル確立のためのデータの一部が検証された。他の遺伝子での確認を終了しバリデーションコホートをを用いて解析することにより、real-time PCR による TCZ の薬効予測モデルの実用化が可能と考えられた。

### A. 研究目的

末梢血単核球（PBMC）の網羅的遺伝子発現解析のデータにより抽出された 56 遺伝子の real-time PCR を用いて関節リウマチ（RA）に対するトシリズマブ（TCZ）の薬効予測モデルを構築することを目的とした。

### B. 方法

TCZ を新規に投与した RA 患者 37 症例の PBMC の DNA アレイを用いて、有効例と無効例で発現パターンの異なる予測遺伝子を抽出した。それぞれの遺伝子に対して特異的なプライマーを設定し、健常者ならびに RA 患者の PBMC の RNA 検体において real-time PCR と DNA アレイのシグナル値との相関を検討した。

### C. 結果

56 プローブは全て別個の遺伝子であった。56 遺伝子中 10 遺伝子につき複数検体で real-time PCR と DNA アレイのシグナル値との相関が解析された。10 遺伝子中 5 遺伝子では両者の高い相関が認められた。

### D. 考察

トレーニングコホート 20 症例で抽出された 17 プローブにクラスター解析では無効例 3 例が明確に分離され、また同プローブを用いたモデルでのトレーニングコホート内での検証では 100%正確な薬効予測が可能であった。薬効予測の実用化のためには DNA アレイよりも汎用性の高い手法の確立が必要であるが、少なくとも今回確認された 5 遺伝子では real-time PCR での代用が可能と考えられる。他の遺伝子での確認を終了しバリデーションコホートをを用いて解析することにより TCZ の薬効予測モデル

の実用化が可能と考えられる。

#### E. 結論

real-time PCR を用いた TCZ の薬効予測モデル確立のためのデータの一部が検証された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

英文

1. Saito Y, Kagami S-I, Kawashima S, Takahashi K, Ikeda K, Hirose K, Oshitari T, Yamamoto S, Okamoto Y, Nakajima H. Roles of CRTH2+ CD4+ T cells in IgG4-related lacrimal gland enlargement. *Int Arch Allergy Immunol* 2012, in press
2. Takahashi K, Hirose K, Kawashima S, Niwa Y, Wakashin H, Iwata A, Tokoyoda K, Renauld JC, Iwamoto I, Nakayama T, Nakajima H. IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:1067-76.
3. Nakajima H, Kawashima S, Tamachi T, Takahashi K, Hirose K. Role of IL-25 in allergic airway inflammation. *Inflammation and Regeneration* 2011, 31, 420-4
4. Oya Y, Watanabe N, Kobayashi Y, Owada T, Oki M, Ikeda K, Suto A, Kagami S, Hirose K, Kishimoto T, Nakajima H. Lack of B and T lymphocyte attenuator exacerbates autoimmune disorders and induces Fas-independent liver injury in MRL-lpr/lpr mice. *Int Immunol* 2011; 23; 335-44

和文

1. 中島裕史, 若新英史, 廣瀬晃一. アレルギーと Th17 細胞. *鼻アレルギーフロンティア* 2011;11:34-40.

2. 中島裕史, 廣瀬晃一. IL-25 と Th2 型免疫応答. *感染・炎症・免疫* 2011;41:42-5.

##### 2. 学会発表

国際学会

1. Takahashi K, Kawashima S, Niwa Y, Iwata A, Kobayashi Y, Kagami S, Suto A, Hirose K, Watanabe N, Nakayama T, Nakajima H. (2012) IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. *99<sup>th</sup> Annual Meeting of The American Association of Immunologists*. 2012. Boston, USA

国内学会

1. 山形美絵子, 田中繁, 中込大樹, 岩田有史, 池田啓, 須藤明, 加々美新一郎, 廣瀬晃一, 中島裕史. 膠原病治療中に生じたノカルジア感染症の臨床的検討. *第56回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2012年4月26日, 東京.
2. 加々美新一郎, 細川淳一, 山形美絵子, 池田啓, 廣瀬晃一, 中島裕史. IgG4 関連涙腺腫脹症例における PGD2-CRTH2 経路の役割の解析. *第61回日本アレルギー学会秋季学術大会*. 2011年11月10日, 東京.
3. 池田啓, 川島広稔, 高橋健太郎, 平松有希子, 横田雅也, 岩田有史, 柏熊大輔, 若新英史, 高取宏昌, 須藤明, 加々美新一郎, 鈴木浩太郎, 廣瀬晃一, 渡邊紀彦, 中島裕史. 膠原病ならびにリウマチ性疾患患者の Quality of Life 調査. *第55回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2011年7月19日, 神戸
4. 大久保綾子, 中込大樹, 池田啓, 岩本太郎, 廣瀬晃一, 中島裕史. Nutcracker esophagus (NE) を合併した好酸球性食道炎の一例. *第23回日本アレルギー学会春季臨床大会*. 2011年5月15日, 千葉

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし  
2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）

末梢血単核球の網羅的遺伝子発現解析による関節リウマチに対する  
トシリズマブの薬効予測と効果発現機序の解明に関する研究

分担研究報告書 7

末梢血 CD4 陽性 T 細胞における経時的な網羅的遺伝子発現解析による  
関節リウマチに対するトシリズマブの新規薬効評価マーカーの同定と効果発現機序の解明

研究分担者 渡邊 紀彦  
千葉大学大学院医学研究院遺伝子制御学 准教授

研究要旨

本研究では、関節リウマチに対するトシリズマブの新規薬効評価マーカーの同定と効果発現機序の解明のため、トシリズマブ投与により末梢血 CD4 陽性 T 細胞において発現の変動する遺伝子を抽出することを目的とした。

TCZ を新規に投与した RA 患者 37 症例、またコントロールとしてメトトレキサート (MTX)、インフリキシマブ (IFX)、エタネルセプト (ETN)、アダリムマブ (ADA) ならびにアバタセプト (ABT) を新規に投与した RA 患者それぞれ 5 症例ずつを 6 ヶ月間経過観察した。CDAI 変化量および医師総合評価にて有効であった TCZ 投与 37 症例、ならびにコントロール薬剤投与 16 症例において、0 週から 12 週でのシグナル値の変動が 1.5 倍以上かつ t 検定での P 値が 0.05 未満のプローブをそれぞれ抽出した。その結果、TCZ 投与症例およびコントロール薬剤投与症例において P 値の低いプローブがそれぞれ上位 100 個ずつ抽出された。その中で TCZ 特異的に発現が変動している遺伝子が 18 個抽出され、17 遺伝子は TCZ により発現の低下している遺伝子であった。

TCZ 投与により末梢血 CD4 陽性 T 細胞において TCZ 有効症例特異的に変動する遺伝子が抽出され、TCZ の新規薬効評価マーカーの同定と効果発現機序の解明のための関連候補遺伝子が明らかとなった。

A. 研究目的

関節リウマチに対するトシリズマブの新規薬効評価マーカーの同定と効果発現機序の解明のため、トシリズマブ投与により末梢血 CD4 陽性 T 細胞において発現の変動する遺伝子を抽出することを目的とした。

B. 方法

TCZ を新規に投与した RA 患者 37 症例、またコントロールとしてメトトレキサート (MTX)、インフリキシマブ (IFX)、エタネルセプト (ETN)、アダリムマブ (ADA) ならびにアバタセプト (ABT) を新規に投与

した RA 患者それぞれ 5 症例ずつを 6 ヶ月間経過観察した。0 週、12 週、24 週の時点で全血 10mL をヘパリン採血し、Ficoll-Paque TM PLUS を用いて速やかに PBMC を分離、さらに MACS 細胞分離システムを用いて CD4 陽性 T 細胞に分離し、mRNA を抽出し DNA アレイを用いて遺伝子発現を包括的に解析した。CDAI 変化量および医師総合評価にて有効であった TCZ 投与 17 症例、ならびにコントロール薬剤投与 16 症例において、0 週から 12 週でのシグナル値の変動が 1.5 倍以上かつ t 検定での P 値が 0.05 未満のプローブを、それぞれ抽出した。

## C. 結果

TCZ 投与症例およびコントロール薬剤投与症例において P 値の低いプローブがそれぞれ上位 100 個ずつ抽出された。その中で TCZ 特異的に発現が変動している遺伝子が 18 個抽出され、17 遺伝子は TCZ により発現の低下している遺伝子であった。

## D. 考察

TCZ による薬効評価では血液検査による炎症反応蛋白による治療効果判定が困難であり、他の客観的血液マーカーに対する期待が大きい。上記抽出遺伝子の解析により、TCZ 効果発現機序がより詳細に解明され得るとともに、新規薬効評価マーカーの開発が期待される。抽出遺伝子には IL-6 により発現が誘導され Th17 細胞分化に関わることが知られている Bcl-3 が含まれ、機能的な抽出がなされていると考えられた。

## E. 結論

TCZ 投与により末梢血 CD4 陽性 T 細胞において TCZ 有効症例特異的に変動する遺伝子が抽出され、TCZ の新規薬効評価マーカーの同定と効果発現機序の解明のための関連候補遺伝子が明らかとなった。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

英文

1. Oki M, Watanabe N, Owada T, Oya Y, Ikeda K, Saito T, Matsumura R, Seto Y, Iwamoto I, Nakajima H. A functional polymorphism in B and T lymphocyte attenuator is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol* 2011, in press
2. Oya Y, Watanabe N, Kobayashi Y, Owada T, Oki M, Ikeda K, Suto A, Kagami S, Hirose K, Kishimoto T, Nakajima H. Lack of B and T lymphocyte attenuator exacerbates autoimmune disorders and

induces Fas-independent liver injury in MRL-lpr/lpr mice. *Int Immunol* 2011; 23; 335-44

### 2. 学会発表

国際学会

1. Takahashi K, Kawashima S, Niwa Y, Iwata A, Kobayashi Y, Kagami S, Suto A, Hirose K, Watanabe N, Nakayama T, Nakajima H. (2012) IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. *99<sup>th</sup> Annual Meeting of The American Association of Immunologists*. 2012. Boston, USA

国内学会

1. 牧田 荘平, 鈴木 快枝, 池田 啓, 細川 淳一, 山形 美絵子, 岩本 太郎, 大久保 綾子, 小林 芳久, 中込 大樹, 渡邊 紀彦, 中島 裕史. 全身性エリテマトーデスを合併した関節リウマチ 3 症例に対するアバタセプトの有効性の検討. *第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2012 年 4 月 28 日, 東京.
2. 牧田 荘平, 岩本 太郎, 細川 淳一, 山形 美絵子, 中込 大樹, 池田 啓, 須藤 明, 鈴木 浩太郎, 渡邊 紀彦, 中島 裕史. Calcineurin 阻害剤により posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) を呈した膠原病の 2 例. *第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会*. 2011 年 11 月 11 日, 東京.
3. 大久保 綾子, 岩本 太郎, 鈴木 快枝, 中込 大樹, 川島 広稔, 小林 芳久, 平松 有希子, 池田 啓, 渡邊 紀彦, 中島 裕史. 全身性エリテマトーデスの治療中に腸管囊腫様気腫症および気腫性膀胱炎を合併した一例. *第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2011 年 7 月 19 日, 神戸
4. 池田 啓, 川島 広稔, 高橋 健太郎, 平松 有希子, 横田 雅也, 岩田 有史, 柏熊 大輔, 若新 英史, 高取 宏昌, 須藤 明, 加々美 新一郎, 鈴木 浩太郎, 廣瀬 晃一, 渡邊 紀彦, 中島 裕史. 膠原病ならびにリウマチ性疾患患者の Quality of Life



- 調査. 第55回日本リウマチ学会総会・  
5. 学術集会. 2011年7月19日, 神戸  
横田雅也, 須藤明, 池田啓, 鈴木浩太  
郎, 渡邊紀彦, 中島裕史. 気管支喘息  
患者のQOL調査. 第23回日本アレルギー  
学会春季臨床大会. 2011年5月15日,  
千葉
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
1. 特許取得  
なし  
2. 実用新案登録  
なし  
3. その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）

末梢血単核球の網羅的遺伝子発現解析による関節リウマチに対する  
トシリズマブの薬効予測と効果発現機序の解明に関する研究

分担研究報告書 8

ヒト末梢血 CD4 陽性 T 細胞においてトシリズマブ投与で発現低下する遺伝子 X の  
ヘルパー T 細胞分化および関節炎における役割の解明

研究分担者 加々美 新一郎  
千葉大学大学院医学研究院遺伝子制御学 助教

#### 研究要旨

本研究では、トシリズマブ投与により RA 患者の末梢血 CD4 陽性 T 細胞で発現の低下する遺伝子として抽出された遺伝子 X のヘルパー T 細胞分化および関節炎における役割を解明することを目的とした。

ヒト末梢血およびマウス脾臓由来のナイーブ CD4 陽性 T 細胞から分化誘導した Th1 細胞、Th2 細胞、Th17 細胞、Tfh 細胞、Treg 細胞における候補遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法で解析した。マウス脾臓由来の CD4 陽性 T 細胞に bicistronic retrovirus を用いて遺伝子 X を強制発現させ、各ヘルパー T 細胞の分化誘導条件で培養した際のヘルパー T 細胞分化への影響を細胞内サイトカイン染色法により解析した。また T 細胞特異的 STAT3/ROR $\gamma$ t 欠損マウスの脾臓由来のナイーブ CD4 陽性 T 細胞を各種条件で分化誘導した際の遺伝子 X の発現を解析する。さらに遺伝子 X の T 細胞特異的トランスジェニックマウスあるいはノックアウトマウスを作成し、実験的滑膜炎モデルに対する影響を検討した。

ヒト末梢血およびマウス脾臓由来のナイーブ CD4 陽性 T 細胞から各種条件で分化誘導した細胞では、Th17 細胞において遺伝子 X の mRNA 発現が亢進していた。マウス脾臓由来の CD4 陽性 T 細胞に bicistronic retrovirus を用いて遺伝子 X を強制発現させると、Th17 細胞分化が低下したが、Treg 細胞分化に対する影響はなかった。T 細胞特異的 STAT3 欠損マウス由来の Th17 細胞では遺伝子 X の mRNA 発現が著明に低下していた。

Th17 細胞分化に関連する新規遺伝子 X が同定され、TCZ 特異的薬効評価マーカーならびに新規治療ターゲット経路の候補と考えられた。

#### A. 研究目的

トシリズマブ投与により RA 患者の末梢血 CD4 陽性 T 細胞で発現の低下する遺伝子として抽出された遺伝子 X のヘルパー T 細胞分化および関節炎における役割を解明することを目的とした。

#### B. 方法

ヒト末梢血およびマウス脾臓由来のナイーブ CD4 陽性 T 細胞から分化誘導し

た Th1 細胞、Th2 細胞、Th17 細胞、Tfh 細胞、Treg 細胞における候補遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法で解析した。マウス脾臓由来の CD4 陽性 T 細胞に bicistronic retrovirus を用いて遺伝子 X を強制発現させ、各ヘルパー T 細胞の分化誘導条件で培養した際のヘルパー T 細胞分化への影響を細胞内サイトカイン染色法により解析した。また T 細胞特異的 STAT3/ROR $\gamma$ t 欠損マウスの脾臓由来のナイーブ CD4 陽性 T 細胞を各種

条件で分化誘導した際の遺伝子 X の発現を解析する。さらに遺伝子 X の T 細胞特異的トランスジェニックマウスあるいはノックアウトマウスを作成し、実験的滑膜炎モデルに対する影響を検討した。

### C. 結果

ヒト末梢血およびマウス脾臓由来のナイーブ CD4 陽性 T 細胞から各種条件で分化誘導した細胞では、Th17 細胞において遺伝子 X の mRNA 発現が亢進していた。マウス脾臓由来の CD4 陽性 T 細胞に bicistronic retrovirus を用いて遺伝子 X を強制発現させると、Th17 細胞分化が低下したが、Treg 細胞分化に対する影響はなかった。T 細胞特異的 STAT3 欠損マウス由来の Th17 細胞では遺伝子 X の mRNA 発現が著明に低下していた。

### D. 考察

以上より遺伝子 X は Th17 分化に伴って STAT3 依存性に発現し、Th17 細胞分化を抑制する負のフィードバック機構として働いていることが示唆された。現在遺伝子 X の T 細胞特異的トランスジェニックマウスを作成中であり、実験的滑膜炎モデルに対する影響を検討予定である。

### E. 結論

Th17 細胞分化に関連する新規遺伝子 X が同定され、TCZ 特異的薬効評価マーカーならびに新規治療ターゲット経路の候補と考えられた。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Saito Y, Kagami S-I, Kawashima S, Takahashi K, Ikeda K, Hirose K, Oshitari T, Yamamoto S, Okamoto Y, Nakajima H. Roles of CRTH2+ CD4+ T cells in IgG4-related lacrimal gland enlargement. *Int Arch Allergy Immunol* 2012, in press

2. Oya Y, Watanabe N, Kobayashi Y, Owada T, Oki M, Ikeda K, Suto A, Kagami S, Hirose K, Kishimoto T, Nakajima H. Lack of B and T lymphocyte attenuator exacerbates autoimmune disorders and induces Fas-independent liver injury in MRL-lpr/lpr mice. *Int Immunol* 2011; 23; 335-44

#### 2. 学会発表

国際学会

1. Takahashi K, Kawashima S, Niwa Y, Iwata A, Kobayashi Y, Kagami S, Suto A, Hirose K, Watanabe N, Nakayama T, Nakajima H. (2012) IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. *99<sup>th</sup> Annual Meeting of The American Association of Immunologists*. 2012. Boston, USA

国内学会

1. 山形美絵子, 田中繁, 中込大樹, 岩田有史, 池田啓, 須藤明, 加々美新一郎, 廣瀬晃一, 中島裕史. 膠原病治療中に生じたノカルジア感染症の臨床的検討. *第56回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2012年4月26日, 東京.
2. 加々美新一郎, 細川淳一, 山形美絵子, 池田啓, 廣瀬晃一, 中島裕史. IgG4 関連涙腺腫脹症例における PGD2-CRTH2 経路の役割の解析. *第61回日本アレルギー学会秋季学術大会*. 2011年11月10日, 東京.
3. 池田啓, 川島広稔, 高橋健太郎, 平松有希子, 横田雅也, 岩田有史, 柏熊大輔, 若新英史, 高取宏昌, 須藤明, 加々美新一郎, 鈴木浩太郎, 廣瀬晃一, 渡邊紀彦, 中島裕史. 膠原病ならびにリウマチ性疾患患者の Quality of Life 調査. *第55回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 2011年7月19日, 神戸
4. 古田俊介, 山形美絵子, 松浦功, 柏熊大輔, 岩本逸夫, 吉田象二, 鈴木快枝, 池田啓, 加々美新一郎, 中島裕史. トシリズマブ DNA アレイ解析によるトシリズマブの関節リウマチに対する薬効

予測. 第55回日本リウマチ学会総会・  
学術集会. 2011年7月18日, 神戸

療法の有効性の予測方法」特願 2011-156921

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

「関節リウマチに対する抗 IL-6 受容体抗体