

## 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

#### 分担研究年度終了報告書 1

### 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アレルギー・臨床免疫学 教授

#### 研究要旨

末梢血単核球（PBMC）の網羅的遺伝子発現解析により、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 を新規に投与した RA 患者 40 症例（トレーニングコホート）を 6 ヶ月間経過観察した。DNA マイクロアレイ（Agilent 社製遺伝子発現用マイクロアレイ Human Whole Genome [19,416 遺伝子、41,000 プローブ]）を用いて治療前の PBMC の遺伝子発現を包括的に解析した。治療 6 ヶ月での治療効果判定を医師総合評価および CDAI (Clinical Disease Activity Index) 変化により判定し、無効群と有効群で発現シグナル値に有意差のあるプローブを抽出した。

トレーニングコホートにおいて無効例と有効例で TCZ 投与前の PBMC におけるシグナル値に有意差を認め、かつ一定のシグナル強度を示す 68 プローブを同定した。それらの中で、重複して同定されたもの、同一ファミリー遺伝子、および免疫あるいは炎症反応に直接関連する 19 遺伝子 23 プローブを同定した。それらの中には、メタロチオネイン 1/11 (4 遺伝子、6 プローブ)、インターフェロン関連遺伝子 (4 遺伝子、4 プローブ)、ケモカイン/ケモカイン受容体 (2 遺伝子、3 プローブ) 等が含まれていた。

#### A. 研究目的

末梢血単核球（PBMC）の網羅的遺伝子発現解析により、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 を新規に投与した RA 患者 40 症例（トレーニングコホート）を 6 ヶ月間経過観察した。0 週、12 週の時点で全血 5 mL をヘパリン採血し、Ficoll を用いて速やかに PBMC を分離後、mRNA を抽出し DNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現を包括的に解析した。DNA マイクロアレイはかずさ 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 (19,416 遺伝子、41,000

プローブ) を用いて行った。治療 6 ヶ月での治療効果判定を医師総合評価および CDAI (Clinical Disease Activity Index) 変化により判定し、無効群と有効群で発現シグナル値に有意差のあるプローブを抽出した。

#### C. 結果

トレーニングコホートにおいて無効例 (n=8) と有効例 (n=29) で TCZ 投与前の PBMC におけるシグナル値に有意差を認め (図 1)、かつ一定のシグナル強度を示す 68 プローブを同定した。それらの中で、重複して同定されたもの、同一ファミリー遺伝子、および免疫あるいは炎症反応に直接関連する 19 遺伝子 23 プローブに注目した。それらの中には、メタ

ロチオネイン I/II (4 遺伝子、6 プローブ)、インターフェロン関連遺伝子 (4 遺伝子、4 プローブ)、ケモカイン/ケモカイン受容体 (2 遺伝子、3 プローブ) 等が含まれていた。

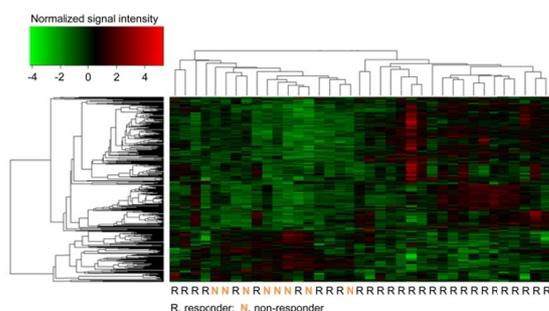


図 1. 無効例と有効例の間でシグナル値が有意に異なったプローブのクラスター解析

#### D. 考察

これらの候補遺伝子の発現を定量的リアルタイム PCR で確認し、さらに独立したコホートによりその薬効予測値を確認し、予測モデルの確立を行った。

#### E. 結論

PBMC の網羅的遺伝子発現解析により、TCZ の薬効予測候補遺伝子が同定された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

英文

- Sanayama Y, Ikeda K, Saito Y, Kagami S, Yamagata M, Furuta S, Kashiwakuma D, Iwamoto I, Umibe T, Nawata Y, Matsumura R, Sugiyama T, Sueishi M, Hiraguri M, Nonaka K, Ohara O, Nakajima H. Prediction of therapeutic responses to tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis: biomarkers identified by analysis of gene expression in peripheral blood mononuclear cells using genome-wide DNA microarray. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:1421-31.

- Saito Y, Kagami S, Sanayama Y, Ikeda K, Suto A, Kashiwakuma D, Furuta S, Iwamoto I, Nonaka K, Ohara O, Nakajima H. AT-rich-interactive domain-containing protein 5A functions as a negative regulator of retinoic acid receptor-related orphan nuclear receptor gamma-induced Th17 cell differentiation. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:1185-94.

#### 国際学会

- Sanayama Y, Ikeda K, Saito Y, Kagami S, Yamagata M, Furuta S, Kashiwakuma D, Iwamoto I, Umibe T, Nawata Y, Matsumura R, Sugiyama T, Sueishi M, Hiraguri M, Nonaka K, Ohara O, Nakajima H. Prediction of therapeutic responses to tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis using biomarkers identified by genome-wide dna microarray analysis in peripheral blood mononuclear cells. *2014 European Colleague Against Rheumatism Congress*, Jun 2014, Paris.

#### 国内学会

- 齊藤ゆかり、加々美新一郎、眞山快枝、池田啓、岩本逸夫、小原収、中島裕史。AT-rich interactive domain-containing protein 5a functions as a negative regulator of ROR $\gamma$ t-induced Th17 cell differentiation. 第 42 回日本免疫学会 総会・学術集会。2013 年 12 月, 千葉。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

- 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
- 実用新案登録  
なし
- その他  
なし