

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

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に関する研究

研究分担者 高取 宏昌

千葉大学医学部附属病院アレルギー・膠原病内科 助教

**研究要旨**

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 20 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 週の時点で全血 10mL をヘパリン採血し、Ficoll-Paque 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。

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 値の低いプロンプがそれぞれ上位 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。

抽出遺伝子中、これまでヘルパー T 細胞分化に関する知見のない遺伝子 AT-rich interactive domain-containing protein 5a (ARID5A) につき機能解析を行った。またその他 3 遺伝子につき現在解析が進行中である。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 20 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 週の時点で全血 10mL をヘパリン採血し、Ficoll-Paque 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。変動遺伝子中、これまでヘルパーT細胞分化に関する知見のない遺伝子AT-rich interactive domain-containing protein 5a (ARID5A)につき機能解析を行った(図1)。またその他3遺伝子につき現在解析が進行中である。

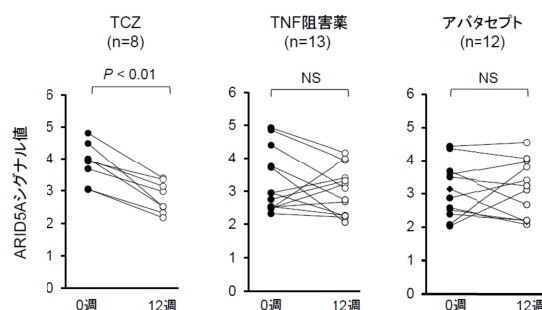


図1. TCZ 治療によるPBMCにおけるARID5Aの発現変動

### 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

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