

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

AT-rich interactive domain-containing protein 5a (ARID5A)のヘルパーT細胞分化における役割の解明に関する研究

研究分担者 池田 啓

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

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 AT-rich interactive domain-containing protein 5a (ARID5A) の、ヘルパーT細胞分化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 細胞から各種条件下で分化誘導した細胞では、Th17 細胞において ARID5A の mRNA 発現が亢進していた。興味深いことに、マウス脾臓由来の CD4 陽性 T 細胞にレトロウイルスベクターを用いて ARID5A を強制発現させると、Th17 細胞分化が低下した。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 ARID5A の mRNA 発現が著明に低下していた。レポーター解析では ARID5A の強制発現は ROR γ t による IL-17 発現を抑制し、またウェスタンブロットにより ARID5A と ROR γ t の直接結合が示された。

RA 患者の末梢血 CD4 陽性 T 細胞において、TCZ 投与により発現低下する遺伝子として ARID5A が同定され、Th17 細胞分化の新規抑制分子であることが示された。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。

RA 患者の末梢血 CD4 陽性 T 細胞において、TCZ 投与により発現低下する遺伝子として ARID5A が同定され、Th17 細胞分化の新規抑制分子であることが示された。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 AT-rich interactive domain-containing protein 5a (ARID5A) の、ヘルパーT細胞分化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 ARID5A 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 細胞にレトロウイルスベクターを用いて ARID5A を GFP と共に強制発現させ、各ヘルパーT細胞の分化誘導条件下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 γ t 欠損マウスの脾臓由来のナイーブ CD4 陽性 T 細胞を各種条件下で分化誘導した際の ARID5A の発現を解析した。

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 ARID5A の mRNA 発現が亢進していた (図 1)。興味深いことに、マウス脾臓由来の CD4 陽性 T 細胞にレトロウイルスベクターを用いて ARID5A を強制発現させると、Th17 細胞分化が低下した (図 2)。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 ARID5A の mRNA 発現が著明に低下していた。レポーター解析では ARID5A の強制発現は ROR γ t による IL-17 発現を抑制し (図 3) またウェスタンブロットにより ARID5A と ROR γ t の直接結合が示された。

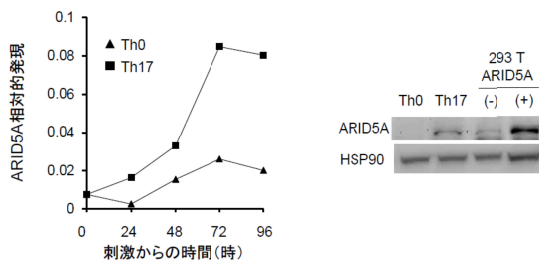


図 1. マウス Th17 分化における ARID5A の発現

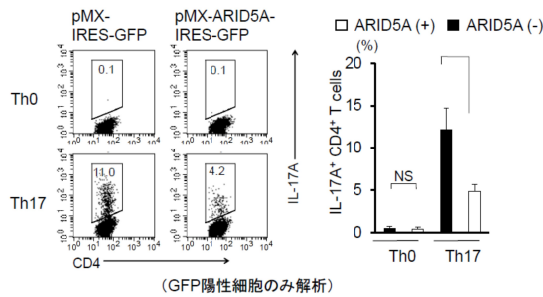


図 2. マウス CD4 陽性 T 細胞における ARID5A の強制発現による Th17 細胞分化の低下

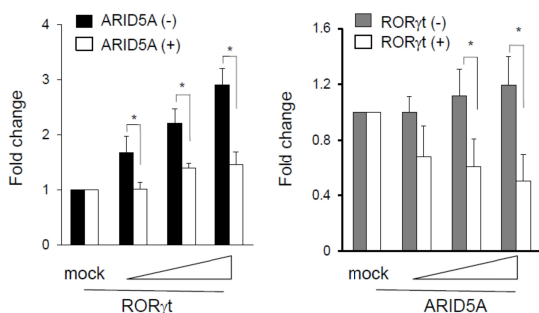


図 3. ARID5A および ROR γ t の強制発現によ

る IL-17 プロモーター活性の変化

D. 考察

ARID5A 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、その分子機構として ROR γ t との直接結合による阻害が示唆された。

E. 結論

RA 患者の末梢血 CD4 陽性 T 細胞において、TCZ 投与により発現低下する遺伝子として ARID5A が同定され、Th17 細胞分化の新規抑制分子であることが示された。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

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

1. 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

1. 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 γ 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

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