

氏名(本籍)	河野美佳(千葉県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第4767号		
学位授与年月日	平成20年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Interleukin 17 gene expression in patients with rheumatoid arthritis (関節リウマチ患者におけるインターロイキン17遺伝子発現)		
主査	筑波大学教授	博士(医学)	土屋尚之
副査	筑波大学教授	医学博士	加藤光保
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	石井朝夫
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	川内康弘

## 論文の内容の要旨

### (目的)

関節リウマチ(以下, RA)の病因は明らかではないが, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6などの炎症性サイトカインの関与が知られており, これらに対する拮抗薬がRAの治療に有効である。しかし, 全てのRA患者にこれらの拮抗薬が有効ではなく, その他のサイトカインの病態への関与も考えられる。なかでも活性化T細胞より産生されるIL-17は, さまざまなケモカインやサイトカインを誘導し, 動物モデルにおいて関節炎誘導期, 進行期の両期にわたって病態に重要であることが明らかにされている。また, ヒトRAの病態におけるIL-17の関与も示唆されているが, 詳細な役割は明らかでない。

IL-17はTNF- $\alpha$ を誘導し, これと協働して関節炎を引き起こすのみならず, TNF- $\alpha$ とは独立して関節炎の病態に関与していることが動物モデルの実験より報告されている。これらの機序がヒトRAにおいても同様であるか否かは不明であるが, 抗TNF- $\alpha$ 治療が無効であるRA患者群でIL-17が優位に影響している可能性は考えられる。

本研究において, 著者は, RA患者関節滑膜および末梢血単核球(以下PBMC)におけるIL-17遺伝子の発現と病態との関連を検討した。また, RA患者PBMCにおけるIL-17遺伝子の発現とTNF- $\alpha$ 遺伝子の発現, 抗TNF- $\alpha$ 治療(インフリキシマブ, エタネルセプト)の有効性との関連を検討した。

### (対象と方法)

対象は, アメリカリウマチ学会分類基準を満たしたRA患者群52名(男性19名, 女性33名)で, うち, 25名がインフリキシマブ, 11名がエタネルセプトを投与された患者である。対照群として健康人34名(男性13名, 女性21名)をとり, 各々, 採血後, PBMCよりcDNAを合成後, リアルタイムPCRにてIL-17遺伝子の発現量を算出し, 各群間で比較した。

また, 人工膝関節置換術の際に得られた関節滑膜(RA12名, 変形性関節症(以下OA)10名)を対象として, 同様にcDNAを合成後, IL-17遺伝子の発現量を算出し, 各群間で比較した。

さらに, 抗TNF- $\alpha$ 薬を投与されたRA患者36名(インフリキシマブ25名, エタネルセプト11名)にお

いて、治療効果を投与前と投与2週後の Disease Activity Score (DAS) の差で算出し、PBMC の TNF- $\alpha$  遺伝子発現、IL-17 遺伝子発現との関連を統計学的に検討した。

#### (結 果)

- 1) RA 患者関節滑膜と OA 患者関節滑膜間では、IL-17 遺伝子発現に有意差を認めなかった。
- 2) RA 患者 PBMC 中の IL-17 遺伝子発現は、健常対照群に比し有意に高かった (RA  $0.0437 \pm 0.1112$ , 健常人  $0.0134 \pm 0.0033$ ,  $p = 0.011$ )。
- 3) RA 患者 PBMC において、IL-17 と TNF- $\alpha$  遺伝子の発現間に相関を認めなかった。また、IL-17 遺伝子発現とデータ (WBC, CRP, ESR, MMP-3) 間にも有意な相関を認めなかった。
- 4) 抗 TNF- $\alpha$  治療前後で、PBMC の IL-17 遺伝子発現に有意差を認めなかった。
- 5) 治療前の PBMC における IL-17/TNF- $\alpha$  遺伝子発現の比が高い患者では抗 TNF- $\alpha$  治療後の DAS の改善が少ない傾向が認められた ( $p = 0.0607$ )。

#### (考 察)

1) ヒト RA の病態に IL-17 がどのように関与しているかについての報告はこれまで数例しかなされていない。著者らの研究では RA 患者と OA 患者滑膜組織での IL-17 遺伝子発現に差が認められなかったが、一般に免疫疾患ではないとされている OA でも、IL-17 が OA 滑膜線維芽細胞からのサイトカイン産生を促進させるという報告があり、IL-17 が RA, OA 双方の滑膜増生、骨破壊の過程に関与している可能性は否定できない。また、RA 患者滑液中の IL-17 蛋白レベルが OA 患者に比して有意に増加しているという以前の報告との乖離に関しては、著者らは、RA と OA 間での IL-17 産生への転写後調節機構の違いが、蛋白レベルの差に一部影響している可能性を推測している。

2) RA 患者 PBMC の IL-17 遺伝子発現が健常対照群と比較して有意に高いことから、著者らは、IL-17 が少なくとも一部の RA 患者における炎症過程に何らかの役割を果たしていると考えしている。また、PBMC の IL-17 遺伝子発現は、個々人で大きく異なったことより、著者らは、IL-17 は RA のある一時期、あるいは一部の患者で重要な役割を果たしている可能性があるかと推測している。今後は RA 患者の縦断的な発現解析が望まれる。

3) PBMC での IL-17, TNF- $\alpha$  遺伝子発現間に相関を認めなかったが、RA は多因子かつヘテロジェネイティの強い疾患であり、本研究から、すべての RA 患者において IL-17 が炎症を決定づける重要な因子であるとの証拠は得られなかった。

4) 抗 TNF- $\alpha$  薬全体での検討では治療前後での IL-17 遺伝子発現に差は認めなかったが、インフリキシマブとエタネルセプトで分けて検討すると、インフリキシマブでは治療前後の差は認めないものの、エタネルセプトでは治療2週後 IL-17 遺伝子発現の有意な増加が認められている。インフリキシマブ、エタネルセプト双方とも抗 TNF- $\alpha$  薬であるが、インフリキシマブは抗体である一方エタネルセプトは受容体であり、インフリキシマブは TNF- $\alpha$  産生細胞にアポトーシスを誘導する効果があること、エタネルセプトには、可溶性 TNF- $\alpha$  とともに、lymphotoxin  $\alpha$  を抑制する効果があることから、両者で違いが認められた可能性があるかと推測される。今後、さらに対象数を増やした検証が望まれる。

5) 治療前の PBMC の IL-17 遺伝子発現が低く、TNF- $\alpha$  遺伝子発現が高い RA 患者ほど抗 TNF- $\alpha$  治療効果が期待できる可能性が高いと考察されている。

#### (結 論)

本研究により、IL-17 がヒト RA の病態に何らかの関わりをもつ可能性が示唆された。また、治療前 PBMC の IL-17/TNF- $\alpha$  遺伝子発現の比が抗 TNF- $\alpha$  治療効果と関連する可能性があり、抗 TNF- $\alpha$  治療有効性の予測因子として用いることができる可能性が示唆された。

## 審査の結果の要旨

本研究は、現在、臨床免疫学の分野において高い注目を集めている IL-17 の、ヒト関節リウマチの病態における役割および抗 TNF 治療応答性予測因子としての意義を、患者試料を用いて検討した貴重な研究であり、価値の高いものである。

著者は、進歩の早い研究分野であるにもかかわらず、最新の文献に至るまでよく勉強してしっかりした背景知識を有し、審査員との間に活発かつ有意義な討論が行うことができた。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。