Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-11

Circulating cell free DNA: a marker to predict the therapeutic response for biological DMARDs in rheumatoid arthritis

Hashimoto, Teppei

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
2017-03-25

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲第6784号

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006784

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

学位論文の内容要旨

Circulating cell free DNA: a marker to predict the therapeutic response for biological DMARDs in rheumatoid arthritis

遊離 DNA は関節リウマチ患者において生物学的製剤の治療反応性を予測するマーカーとなり得る

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
総合内科学
（指導教員：小川　渉　教授）

橋本　哲平

[目的]
DNA 断片は細胞障害やアポトーシスにより末梢血中に放出される。
この遊離 DNA は健常者でも末梢血中に低濃度で存在しているが、癌患者では腫瘍細胞由来の遊離 DNA が高濃度で存在し、疾患活動性を反映する。敗血症などの炎症性疾患においても遊離 DNA が高濃度で存在すると報告されている。このように、近年、遊離 DNA がさまざまな病気のバイオマーカーとして認識されてきている。
関節リウマチ(RA)は滑膜の腫瘍様増殖が背景にある炎症性疾患であり、遊離 DNA が有用のバイオマーカーになる可能性がある。過去に RA 患者においても血清中の遊離 DNA が上昇しているという報告はあるが、継時的にみたものはなく、その臨床的意義は不明である。
今回、血漿中の遊離 DNA と RA 患者の疾患活動性との関連を評価した。
[方法]
まず、コントロール群として 21 例の健常人について血漿中の遊離 DNA を測定した。血漿中の遊離 DNA の測定は、採取した血液より DNA を抽出し、Alu115 プライマーを用いてリアルタイム PCR により行った。健常人の遊離 DNA は生物学的製剤治療開始前の 30 例の RA 患者と比較した。
次に、生物学的製剤を開始した 30 例の RA 患者について、投与前から 4 週おきに 24 週までの遊離 DNA を測定した。使用した生物学的製剤の内訳は TNF 阻害剤が 10 例、トシリズマブが 8 例、アバタセプトが 12 例だった。
また疾患活動性については SDAI(simplified disease activity index)と DAS28ESR (Disease Activity Score 28)、治療反応性については欧州リウマチ学会（European League Against Rheumatism：EULAR）が作成した EULAR 反応基準を用いて評価した。
さらに、13 例の RA 患者と 12 例の変形性膝関節症(OA)患者の膝関節液を採取し、関節液中の遊離 DNA についても評価した。
[結果]
生物学的製剤による治療を開始する前の RA 患者では、健常人と比較し、血漿中の遊離 DNA 濃度が有意に高かった(6.79 ± 11.9 ng/mL VS 1.20 ±1.25 ng/mL; P = 0.010)。ROC 曲線で解析すると、遊離 DNA 濃度のカットオフ値を 1.28ng/ml としたとき、診断感度は 81%で特異度は 65.5%だった。
生物学的製剤による治療開始後、遊離 DNA 平均は 8 週までに増加し、12 週以降減少していく傾向がみられた。SDAI および DAS28ESR 平均は 8～12 週で改善し、24 週まで低疾患活動性を維持した。
30 例の患者を個々に評価すると、遊離 DNA が 8 週までに増加する患者 13 例と増加しない患者 17 例に分かれた。遊離 DNA 増加に関連する因子を調べるため、遊離 DNA が増加する群と増加しない群にわけて患者背景について解析を行った。両群を比較すると遊離 DNA が増加する群で罹病期間が有意に短く(3.27 ±3.21 年 VS 10.48 ±9.46 年; P = 0.0142)、疾患活動性が有意に改善した(24 週 SDAI 変化量 21.44±11.41 VS 12.04±10.08; P = 0.021)。年

齢、性別、治療前の疾患活動性などその他の患者背景に差はなかった。
次に、生物学的製剤による治療反応性を 12 週での EULAR 治療反応基準で評価すると、15 例の患者は良好改善、9 例が中等度改善、 5 例が改善なしだった。良好改善と中等度改善・改善なしを比較すると、遊離 DNA は良好改善群において 8 週までに増加したが(P=0.042)、中等度改善と改善なし群では増加しなかった。また 8 週時点で測定した遊離 DNA は良好改善群で有意に高かった(38.21±65.36ng/ml VS 6.33±15.84ng/ml P＝0.04)。この 2 群間において、年齢、性別、罹病期間、治療前の疾患活動性などその他の患者背景に差はなかった。
関節液中の遊離 DNA 濃度は RA 患者と OA 患者を比較すると、RA 患者で有意に高かった(5135.4 ±11 148.6 ng/mL VS 224.3 ±227.9 ng/mL; P = 0.00011)。関節液中の遊離 DNA は血中と比較して著明に高濃度であった。この RA 患者 13 例の患者背景は、生物学的製剤を導入した 30 例の RA 患者と同等だった。
[考察]
生物学的製剤導入後、8 週での遊離 DNA 増加が、疾患活動性の改善と関連していた。8 週までの増加により 12 週～24 週までの良好な治療反応が予測されている。RA の目標達成に向けた治療 (Treat to Target: T to T)では、12 週ごとの治療評価と見直しが勧められているが、それよりも早い段階で評価できることから遊離 DNA が早期に治療反応性を予測するマーカーとして利用できる可能性があると考えられる。
では、この血中の遊離 DNA の起源はどこだろうか。今回の研究で RA 患者の関節液中には遊離 DNA が血中の 100 倍以上の濃度で存在していることがわかった。疾患活動性の改善とともに関節液が消失することを考えると、この関節液の血中への再吸収が、遊離 DNA の一時的な増加と関連していると考えられる。過去の報告から腫瘍や炎症細胞から遊離 DNA が放出されることが分かっている。RA の滑膜はパンヌスと呼ばれる滑膜細胞が増殖して形成された組織で、好中球やリンパ球、マクロファージなどさまざまな炎症細胞が含まれる。腫瘍様の増殖とも言われており、これが関節中に放出される遊離 DNA の起源になっていると推測される。
[結論]
遊離 DNA は RA 患者において、早期に生物学的製剤による治療反応性を予測するマーカーとなり得る。