

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	佐々木千代美
論文題目	血液及び尿のメタボロミクス解析による関節リウマチのバイオマーカーの探索		
(論文内容の要旨)			
<p>関節リウマチ(Rheumatoid arthritis : RA)は滑膜の炎症とそれに伴う関節軟骨および骨破壊により、関節のこわばり、腫れ、痛みなどを引き起こす自己免疫疾患である。RAの病態は多種多様であり、また、患者の治療への反応性にも大きなばらつきがある。現在、この多様な活動性や病態の違い、さらには治療への反応性を説明し得るバイオマーカーは無く、有効なバイオマーカーを見いだすことができれば、RAの治療および病態のさらなる解明に役立つと考えられてきた。</p> <p>このような背景のもと、申請者は、RA患者の疾患活動性を評価するバイオマーカーを探索する目的で、CE-Q-TOFMS(capillary electrophoresis quadrupole time-of-flight mass spectrometry)を用いたメタボロミクス解析を実施した。その結果、49名のRA患者と10名の非RAボランティア(コントロール)から採取した血漿と尿から、それぞれ104種と217種の代謝産物が検出された。RA患者とコントロールから検出された代謝産物を比較したところ、24種の代謝産物が有意差のあるものとして見つかった。それらの代謝産物は、解糖系、TCA回路、アミノ酸代謝に関わる経路の主要代謝産物であり、これまでの報告と一致していたことから、本研究で集められたサンプルは例外的なRA患者からのものではないこと、即ち、本研究に用いたRA患者サンプルの妥当性が確認された。次にRA患者の疾患活動性と関連して変動する代謝産物を調べるため、疾患活動性を評価するDAS(disease activity score)28-ESR(erythrocyte sedimentation rate: 血液沈降速度)指標と有意に相関する代謝産物を調べた。その結果、32名の高活動性RA患者(DAS28-ESR<math>\geq</math>3.2)と17名の低活動性RA患者(DAS28-ESR<math>&lt;</math>3.2)の血漿と尿から、DAS28-ESRと弱いながら有意に相関がある代謝産物を、それぞれ15種類と20種類見出した。さらに、低活動性患者と比べ高活動性患者で有意に変動している代謝産物を調べたところ、血漿で9種類、尿では15種類の代謝産物が確認された。これらの結果をふまえ、血漿と尿からDAS28-ESRと有意に相関し、かつ低活動性患者と高活動性患者の比較で有意に変動していた合計11種類の代謝産物の中から、ステップワイズ法を用いてRA疾患活動性の優れたバイオマーカー候補を選出したところ、血漿中からhistidineとguanidoacetic acid、尿中からはhypotaurineの3種類の代謝産物が選択された。これら3種の代謝産物がどの程度疾患活動性を診断する上で優れているかを評価するため、ROC曲線(Receiver Operating Characteristic Curve)を用いて解析したところ、ROC曲線下面積値の高い(AUC=0.8934)モデルが得られた。よってこれら3種の代謝産物レベルがRAの疾患活動性を判別するのに有用なマーカーとなりうる可能性を示した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

我が国において約 1%の人口が RA を発症しており、疾患の病態や発症要因は患者によって様々である。事実、日本で第一選択薬に位置づけられた MTX (Methotrexate)も、単独で使用した場合、寛解の評価に達する患者はわずか 3割ほどで、副腎皮質ステロイドや生物学的製剤と併用するなどしても、疾患活動性を十分にコントロールできない患者が多くいることは、RA 疾患の複雑さを示唆している。疾患活動性と直接連動する代謝産物をマーカーとして評価することができればよりの確な治療ができ、さらには新たな RA の病態生理を理解するきっかけになることを期待し、申請者は CE-Q-TOFMS を用いて RA 疾患活動性のバイオマーカーとなりうる代謝産物を探索した。

検体は DAS28-ESR 指標により高活動性 RA 患者 32 名、低活動性 RA 患者 17 名、および 10 名の非 RA ボランティア (コントロール) から血漿と尿が採取され、その結果、血漿から 107 種、尿からは 217 種の代謝産物が検出された。まず集められた検体は一般的な RA 患者のものであることを示すため、コントロールと比較し RA 患者サンプルにおいて有意に変動していた代謝産物が既報のものとも一致したことを確認した。次に、RA 患者サンプルにおいて DAS28-ESR 指標と弱いながら有意に相関がある代謝産物と、低活動性患者と比べ高活動性患者で有意に変動している代謝産物の中で重複していた代謝産物は 11 種類あることが判明した。これら 11 種類の代謝産物の中から RA の疾患活動性を示す優れたマーカー候補となる代謝産物を選出するため、重回帰分析を実施し、血漿中の histidine と guanidoacetic acid、尿中の hypotaurine の 3 種類の代謝産物が選出された。

この研究成果より、RA の疾患活動性が高い患者の血中では histidine と guanidoacetic acid が低下し、尿中では hypotaurine が上昇していることを新たに見出した。さらに、血漿において高疾患活動性と有意に変動していた代謝産物の多くが Arginine 代謝経路に関与していたことは新たな知見であり、RA 疾患の病態生理を解明する上で注目すべき代謝経路である可能性が示唆された。また尿中における hypotaurine の上昇も Taurine 代謝経路やその近辺の Methionine サイクル、Transsulfuration 経路などに関与する代謝産物の変動が今回の解析で新たに判明したことから、疾患活動性と関わる重要な経路であることが示唆された。

以上のように、本論文は RA 疾患活動性を評価する上で有用なバイオマーカー候補を選出し、RA 疾患と関わる代謝経路を考察したもので、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見が示されており、また、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和 2 年 7 月 8 日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第 8 条の規定により、猶予期間は学位授与日から 3 ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日