

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17885

研究課題名（和文）SLEの増悪に寄与する患者由来膜小胞の性状解析を基盤としたSLEの病態解明

研究課題名（英文）Elucidation of the pathogenesis of SLE based on characterisation of patient-derived membrane vesicles.

研究代表者

加藤 保宏（Kato, Yasuhiro）

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：30837050

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、SLEの患者血清中に含まれているApoptosis derived membrane vesicles (AdMVs)がSLEの病態形成にどのように関わっているかを探索した。先行研究ではAdMVsがISGsおよびtype I IFNを誘導するメカニズムとして、cGAS-STING経路を介した反応であることを示しているが、さらにtype I IFN受容体(IFNAR)の関与を調べるため、IFNAR抗体(IFNAR-Ab)を用いてISGsの誘導活性への影響を調べた。その結果、IFNAR-AbによりAdMVsのtype I IFN誘導能は著明に阻害され、IFNARの関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、IFN-Iを誘導するAdMVsによる過剰なtype-I IFNが産生されるメカニズムの一部にIFNARが関与している可能性が示唆されている。SLEはheterogeneityがある疾患であり、治療薬の効果を予見することが難しい。本研究からすでに上市されているIFNAR-Abの治療ターゲットとして、AdMVsによるIFN誘導活性が強いSLEのサブグループが同定できる可能性があり、新規バイオマーカーの樹立に新たな知見をもたらすことが期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we explored how Apoptosis derived membrane vesicles (AdMVs) in SLE patient serum are involved in the pathogenesis of SLE. Previous studies have shown that the mechanism by which AdMVs induce ISGs and type I IFNs is through the cGAS-STING pathway. To investigate the involvement of the type I IFN receptor (IFNAR), we examined the effect of IFNAR antibody (IFNAR-Ab) on the induction activity of ISGs. The results showed that the type I IFN inducibility of AdMVs was markedly inhibited by IFNAR-Ab, suggesting IFNAR involvement.

研究分野：Rheumatology and immunology

キーワード：SLE AdMVs type I IFN

## 1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス(Systemic Lupus Erythematosus: SLE)は腎臓、中枢神経などの全身の臓器を侵す、若年女性に好発する難治性の自己免疫疾患である。その治療にはステロイドや免疫抑制剤が広く用いられるが、ステロイドや免疫抑制剤による免疫抑制作用は、易感染性をもたらす、生命予後を規定する一因となっている。またステロイドには易感染性以外にも、糖尿病、骨粗鬆症による腰椎圧迫骨折や大腿骨頸部骨折、大腿骨頭壊死などの様々な副作用をもたらす、生活の質(QOL)を大きく低下させる。そのため、SLE の病態生理にもとづいたより副作用の少ない治療法が求められている。

SLE では、以前から type I IFN が病態の中心を形成していると考えられてきた。SLE 患者では、type I IFN が何らかの要因によって産生が亢進し、過剰な type I IFN が獲得免疫系を刺激することで自己抗体の産生を促し、その自己抗体そのもの、あるいは自己抗体により形成された免疫複合体が組織障害をきたすと考えられている。そのため、type I IFN シグナルの阻害が治療の標的の一つになるが、type I IFN は通常、ウイルス感染症に対する防御機構として働くため、type I IFN シグナルをユビキタスに阻害するとウイルス感染症のリスクが増加すると考えられる。実際、type I IFN 受容体抗体(Anifrolumab)の第 IIB 相の治験では、インフルエンザやヘルペスといったウイルス感染症の発症率がプラセボ群に比べて高くなっている (Furie R et. al., Arthritis Rheumatol 69: 376-386, 2017)。一方で、SLE はその症状のみならず遺伝子発現プロファイルに至るまで非常にヘテロジーニアスな疾患であり、type I IFN 抗体の有効性を予測するバイオマーカーが求められている。血球の type I IFN signature genes(ISGs)の測定はその候補であるが、患者の type I IFN signature の測定は PCR ベースに行われており、実臨床での利用には至っておらず、依然として臨床の現場では治療効果予測が可能となるバイオマーカーが必要である。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、SLE の病態解明および病態生理にもとづいた血清中のバイオマーカーの探索である。特に、ヘテロジーニアスな SLE の層別化マーカーを同定することにより、既存および新規薬剤を適切に選択できるようにすることで、副作用のデメリットを上回る効果が期待できる患者層の同定を可能にすることを旨とする。本研究では、患者血清を用いて検討することで、臨床現場への還元が期待される。

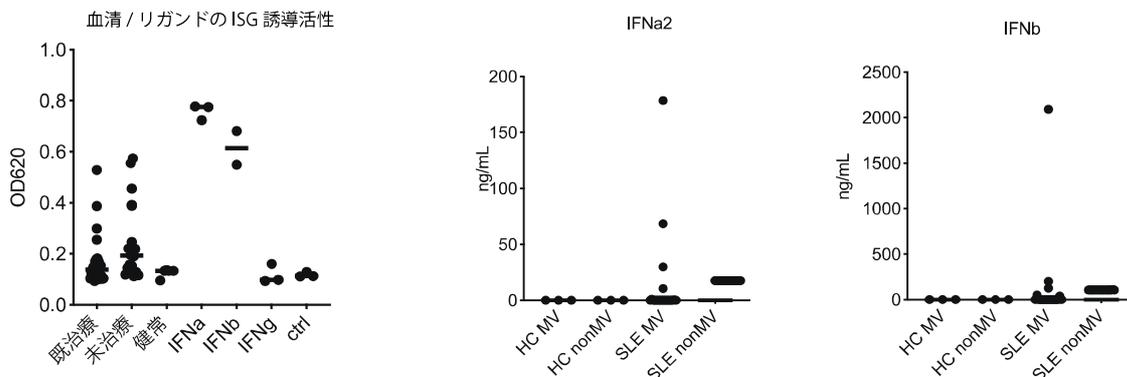
## 3. 研究の方法

SLE のバイオマーカーの確立をめざす端緒として、まずは申請者らが先行研究で示している Apoptosis derived membrane vesicles (AdMV)に着目して研究を進める。AdMV は SLE 血清中に存在し、type I IFN ならびに ISGs の誘導活性を有し、SLE の病勢とも関連する。AdMV に含まれる dsDNA や膜タンパクなどの成分を分析し、type I IFN を誘導する AdMV の産生機序および過剰な type-I IFN が産生されるメカニズムを解明し、バイオマーカーへの応用を目指す。さらに、本研究期間中にあらたに判明した知見に基づき、SLE の患者血清中からあらたなバイオマーカー候補について検討をおこなった。

- (1) SLE 患者血清由来の AdMV による type I IFN、ISG 誘導能を測定し、臨床症状との関連を解析し、患者層別化が可能か検討する。また、SLE における type I IFN 過剰産生の分子メカニズムを明らかにする。患者血清から遠心法により AdMV を分離し、そのサイズ、量、含有している核酸やタンパクの分析について検討した。
- (2) SLE 患者血清由来の AdMV による type I IFN 産生誘導に対して、既存の SLE 治療薬を用いた阻害実験を実施した。この阻害効果の評価により、AdMV による type I IFN 誘導能のバイオマーカーとしての有用性について検証した。
- (3) 本研究期間中に SARS-CoV-2 による COVID-19 パンデミックが発生し、生体の抗ウイルス応答として重要な、type I IFN に関して、あらたな知見が多数報告されるようになった。そのなかでも、SARS-CoV-2 感染者における重症病態に関連する因子として、感染前の type I IFN に対する抗体、抗 IFN-alpha 抗体が注目されるようになった。SLE が多くの種類の自己抗原に対する自己抗体産生を特徴とする自己免疫疾患であり、また、type I IFN が SLE の病態の中心も担っていることから、抗 IFN-alpha 抗体が SLE 患者の病態に関わり、病勢マーカーになり得ないか検討した。

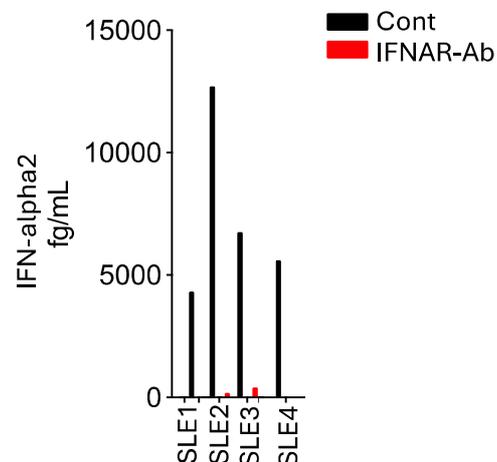
#### 4. 研究成果

(1). SLE の患者血清中に含まれている Apoptosis derived membrane vesicles(AdMV)が SLE の病態形成にどのように関わっているかを本研究では探索した。まず、先行論文で示されている、interferon stimulated genes(ISGs)および type I IFN の誘導能を確認したところ、高い再現性をもって ISGs 誘導能を確認できた。AdMV による type I IFN 誘導活性は SLE の病勢の臨床指標である SLEDAI との相関が確認でき、また、補体との逆相関が確認され、血清学的病勢と



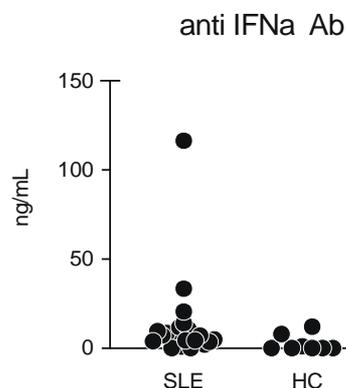
の関連が示唆された。腎炎などの臨床病型との関連は見出せなかった。AdMV 内包タンパクを明らかにするための質量分析について、LC-MS/MS の実施を検討したが、研究期間内に患者検体から分離できる AdMV が充分量得られず実施できなかった。

(2). AdMV による type I IFN 誘導活性を阻害する薬剤について検証を行ったところ、type I IFN 受容体抗体(IFNAR-Ab)による阻害効果が認められた。これは、AdMV による ISG 誘導活性が cGAS-STING を介したものである既報からは、予想外の結果であったが、type I IFN の autocrine, paracrine 作用による増強効果をキャンセルした可能性も示唆されるものと考えられた。IFNAR-Ab は SLE の治療薬として上市されているが、上述のように副作用が問題となっている。今後、症例数を増やすことで、投与前の効果予測バイオマーカーとしての有用性について検討が可能であると考えられた。



右図; SLE 患者血清由来の AdMV の刺激により、単球が産生する type I IFN (IFN-alpha2). IFNAR-Ab の添加により、産生される type I IFN の量が減少している。

(3). COVID-19 パンデミックで新たに注目を浴びようになった抗 IFN-alpha 抗体について、SLE の病態と関連しないかどうかについて検討を行ったところ、SLE 患者血清中の抗 IFN-alpha 抗体は健常者と比較して高値の症例が存在することがわかった。今回の検討では陽性症例数が少なく、病態との関連については解析が困難であり、今後症例数を集積することで病態との関連の解析が可能になると考えられた。



上図; SLE 患者血清および健常者血清中の抗 IFN-alpha 抗体(anti IFNα Ab)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shimagami Hiroshi, Yamaguchi Yuta, Kato Yasuhiro, Kumanogoh Atsushi	4. 巻 15
2. 論文標題 Marked increase of interferon- after BNT162b2 mRNA vaccination: a case of polyarthritis with pleurisy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMJ Case Reports	6. 最初と最後の頁 e246533 ~ e246533
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/bcr-2021-246533	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加藤保宏
2. 発表標題 Type I interferonを標的とすることの期待と不安
3. 学会等名 第31回 日本リウマチ学会近畿支部学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 島上洋、加藤保宏、熊ノ郷淳
2. 発表標題 胸膜炎と血清IFN- の関連が示唆されるmRNAワクチン接種後発症の多関節炎2症例の比較
3. 学会等名 第66回 日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------