

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 2 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08775

研究課題名(和文) 難治性SLEに対するRP105陰性形質芽細胞を標的とした新規治療法の開発

研究課題名(英文) A novel therapy targeting RP105-negative plasmablasts for refractory SLE

研究代表者

小荒田 秀一 (Koarada, Syuichi)

国際医療福祉大学・福岡保健医療学部・教授

研究者番号：50304887

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：SLE(全身性エリテマトーデス)患者および正常者の後期B細胞を抗CD19、CD138、RP105標識抗体により染色し、ナイーブB細胞、活性化B細胞、前形質芽細胞、形質芽細胞、後形質芽細胞、形質細胞の6分画の分布とその表面分子について解析した。形質芽細胞特異的抗原に対する抗体を用いて、候補となる抗原を活動期、寛解期に分け解析を行った。疾患活動性期のみならず、寛解期も、分布とフェノタイプの異常が存在することが解明された。現在、予備的研究であるが、t-SNE法を用いたクラスター解析において、病的自己抗体産生形質芽細胞の同定につながる有望な結果を得ている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、SLEの自己免疫病態の中核に位置し、難治性病態において既存治療では除去されることなく残っている疾患特異的形質芽細胞自体を直接の標的とした世界初の治療法の開発計画である。世界的にみても同様の研究は行われておらず、全く新しい画期的な治療法となりうる。また、同研究の最終目標は疾患特異的な病的細胞のみを標的とし、通常のB細胞への影響がない治療法と考えられる。RP105陰性B細胞はさまざまな自己免疫病態で存在していることが分かっており、SLEの治療への応用の試みは、広く自己免疫病態の解明と安全かつ有効な治療法の樹立につながり、薬害防止と治療関連死の回避に有用で人類の福祉に広く貢献する。

研究成果の概要(英文)：Late-stage B cells from SLE (systemic lupus erythematosus) patients and normal subjects were stained with anti-CD19, CD138, and RP105-labeled antibodies and analyzed for the distribution and their surface molecules of six fractions of naive B cells, activated B cells, preplasmablasts, plasmablasts, late-plasmablasts, and plasma cells. Using antibodies against plasmablast-specific antigens, candidate antigens were analyzed in active and remission phases. It was elucidated that distribution and phenotypic abnormalities exist not only in the active phase of the disease but also in the remission phase. Currently, in a preliminary study, cluster analysis using the t-SNE method has yielded promising results leading to the identification of pathological autoantibody-producing plasmablasts.

研究分野：膠原病リウマチ学

キーワード：形質芽細胞 全身性エリテマトーデス 自己免疫疾患 B細胞 治療法 RP105 (CD180) 自己免疫疾患
フェノタイプ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

SLEを含むその他の全身性自己免疫疾患では、いまだに様々な難治性病態が存在し、治療は立ち遅れている。最近、膠原病治療において B 細胞標的療法の重要性和有用性が提唱されているが、その中で、病的自己抗体の産生形質芽細胞そのものを標的とした治療法が有用であると想定される。以上が本研究の着想に至った経緯である。自己抗体産生形質芽細胞のみを標的とすれば、正常 B 細胞に影響を与えず、安全かつ有効な治療となると考えられる。自己免疫疾患では特徴的な形質芽細胞のフェノタイプが存在することを研究代表者らはこれまでの研究で明らかにしている。そこで、自己免疫疾患患者由来の病的形質芽細胞に特異的に発現する細胞表面分子を同定し、それを標的とする治療は、疾患特異的治療法となる可能性がある。

研究代表者や関連する国内外の研究者により、様々な免疫疾患における CD180 (RP105) 陰性 B 細胞の重要性が解明されてきている動向がある(既報では CD180 としての報告が多い)。B 細胞が病態に重要であると考えられているシェーグレン症候群や皮膚筋炎はもとより、最近は、ANCA 関連血管炎、ベーチェット病や関節リウマチ、強皮症などの病態にも関与している可能性があることがわかってきている。また、全身性自己免疫疾患にとどまらず、臓器特異的な自己免疫疾患である視神経脊髄炎 Neuromyelitis optica (NMO) や炎症性疾患である IgG4 関連疾患でも関与が報告されている。このように、本研究の課題である CD180 陰性形質芽細胞の治療標的としての重要性は SLE にとどまらず、様々な自己免疫疾患や免疫関連疾患、加齢などによる免疫変化にも広く応用することができる位置づけにある。

2. 研究の目的

全身性エリテマトーデス(SLE)をはじめとした膠原病は、短期的な予後は確かに改善しているようにみえるが、実際は若年女性の罹患率が高く、長期的予後は必ずしも良好とは言えない。また、難治性病態がいまだに存在しており、あらゆる治療が無効な病態が存在し、多くの貴重な生命が失われている。したがって、副作用が少なく、生命予後を改善する新たな治療法の開発は喫緊の課題である。SLE の病態において、自己抗体の産生は最も重要な免疫異常である。この自己抗体の産生を行っているのは、自己抗体産生細胞である。この細胞を制御する治療は、最も理想的な方法であると考えられる。自己抗体産生細胞のみに発現する抗原に対する標的療法は、その治療戦略と独創性・独自性があり有用であると考えられる。

本研究では、SLE の難治性病態において新しく発見された RP105 陰性 B 細胞のみに発現する抗原分子を標的とした治療法の開発を世界で初めて試み、疾患特異的で画期的な有効で安全な治療法の開発を世界に先駆けて行う。

3. 研究の方法

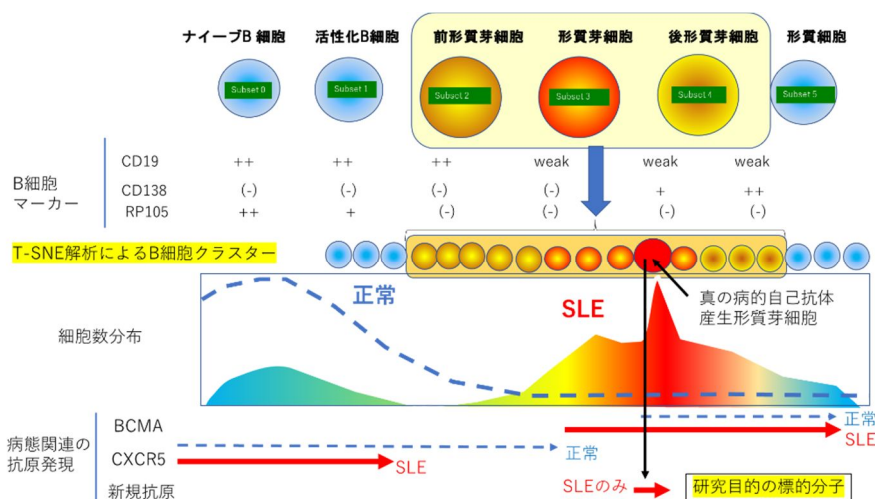
SLE をはじめとした難治性自己免疫疾患の疾患特異的な RP105 陰性病的形質芽細胞を標的とした治療法の確立のために、SLE 患者および正常者の後期 B 細胞を抗 CD19、CD138、CD180 標識抗体により染色し、ナイーブ B 細胞、活性化 B 細胞、前形質芽細胞、形質芽細胞、後形質芽細胞、形質細胞の 6 つの分画についてセルソーターを用いて純化し、病的形質芽細胞特異的抗原を Gene Chip 法により同定する。同定された抗原に対する抗体を作成し新規治療の開発を行う。開発は、in vitro, in vivo、臨床的解析の 3 つの経路で上記内容についてヒト、マウスで並行して研究する。本研究では、SLE の病的自己抗体産生を行う RP105 陰性形質芽細胞にのみ特異的に発現する抗原分子を同定し、抗体を作成し、治療標的として適切かどうかを明らかとする。それと同時に臨床的に同分子の発現が疾患活動性とどのような関連があるのかを明らかにし、今後の生物学的製剤としての新薬開発の基盤となりうるかを明らかにする。

4. 研究成果

研究代表者らは SLE や IgG4 関連疾患(IgG4-RD)、ANCA 関連血管炎、シェーグレン症候群、皮膚筋炎等の自己免疫疾患において、RP105 陰性 B 細胞が増加し、B 細胞の様々なサブセットがある中で病態に深く RP105 陰性形質芽細胞が関与していることを解明した。これらの B 細胞サブセットの分布とフェノタイプは疾患によって、違いが認められ、疾患での B 細胞の病態への関与の解明に役立つ成果が得られている。また、それぞれの疾患において活動期のみならず、治療効果が現れていると考えられる寛解期のサブセットにおいても、患者によっては、その病態に依じて疾患特異的な B 細胞が増加したままであり、そのフェノタイプが特徴的な形質を有したままであることも解明した。予備的研究中であるが、t-SNE 法を用いたクラスター改正において、病

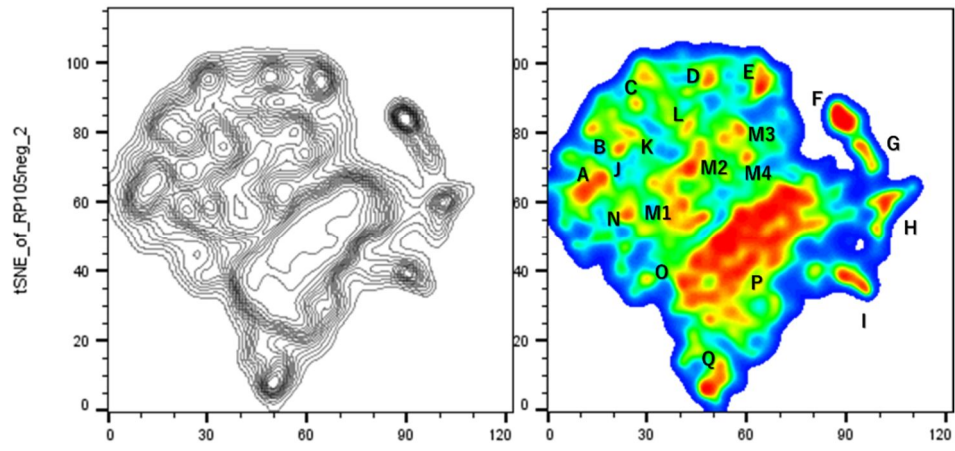
的自己抗体産生形質芽細胞の同定につながる有望な結果を得た。この成果は今後、個別化医療の基礎となるデータとして利用あるいは臨床的な解析をまっしてさらなる治療への応用などの有用性が期待できる。

自己免疫疾患の治療には、ガイドライン等で大まかな治療方針は示されているが、ステロイド治療や免疫抑制剤による治療、あるいは抗サイトカイン療法などさまざまな治療法が存在し、その治療の選択、予測は実臨床では難しい。また、種々の抗体製剤間でのB細胞免疫への影響はあまり検討されていないのが現状であるが、今回、治療方法によってB細胞分画およびそのフェノタイプの変化の相異についてもその解明の糸口が得られてきている。今後、さまざまな自己免疫疾患に対しての治療による臨床的効果とB細胞の変化を比較検討することで、臨床効果の予測や副作用との関連性などについても解明していく端緒となりうると考えられる。



RP105 陰性 B 細胞クラスターの分布と病態関連の抗原発現

種別	RP105の発現	疾患
ヒト	RP105陰性B細胞数 ↑ ↑	全身性エリテマトーデス(SLE) シェーグレン症候群(SS) 皮膚筋炎 (DM) IgG4関連疾患 (IgG4-RD) ANCA関連血管炎(AAV) 視神経脊髄炎(NMO) 加齢
	RP105陰性B細胞数 ↑	関節リウマチ(RA) 強皮症(SSc) ベーチェット病(BD) 混合性結合組織病(MCTD) 多発性筋炎(PM)
	B細胞表面での発現 ↑ 刺激単球での発現 ↓	川崎病 原発性胆汁性胆管炎(PBC)
マウス	RP105陰性B細胞数 ↑ ↑	BWF1マウスのSLE病態



t-SNE 法による SLE における RP105 陰性 B 細胞のクラスター解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 Maruyama Akihito, Kokuzawa Ayako, Yamauchi Yusuke, Kirino Yohei, Nagai Hideto, Inoue Yasushi, Ota Toshiyuki, Chifu Yutaka, Inokuchi Satomi, Koarada Syuichi, Ohta Akihito, Iwamoto Masahiro, Tada Yoshifumi	4. 巻 31
2. 論文標題 Clinical features of elderly-onset Adult-onset Still's disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 862 ~ 868
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2020.1829340	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tada Yoshifumi, Ono Nobuyuki, Koarada Syuichi	4. 巻 2021
2. 論文標題 Immediate Effect of Baricitinib on Arthritis and Biological Disease-Modifying Antirheumatic Drug-Induced Psoriasis-Like Skin Lesions in Two Patients with Rheumatoid Arthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Case Reports in Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2021/8876847	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tada Yoshifumi, Ono Nobuyuki, Koarada Syuichi	4. 巻 2021
2. 論文標題 Immediate Effect of Baricitinib on Arthritis and Biological Disease-Modifying Antirheumatic Drug-Induced Psoriasis-Like Skin Lesions in Two Patients with Rheumatoid Arthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Case Rep Rheumatol .	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2021/8876847	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17件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小荒田 秀一, 前崎 哲宏, 堺 真梨子, 中尾 嘉修, 竹山 悠希子, 白濱 裕梨, 田代 知子, 丸山 暁人, 赤星 光輝, 多田 芳史
2. 発表標題 全身性自己免疫疾患における自己抗体産生RP105陰性形質芽細胞の解析
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小荒田 秀一, 副島 幸子, 前崎 哲宏, 小野 行秀, 堺 真梨子, 丸 山 暁人, 赤星 光輝, 多田 芳史
2. 発表標題 関節炎先行乾癆性関節炎の臨床的特徴
3. 学会等名 日本脊椎関節炎学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堺 真梨子, 前崎 哲宏, 中尾 嘉修, 竹山 悠希子, 丸山 暁人, 赤星 光輝, 小荒田 秀一, 多田 芳史
2. 発表標題 肺高血圧症を合併した一次性シェーグレン症候群の1例
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中尾 嘉修, 前崎 哲宏, 堺 真梨子, 竹山 悠希子, 丸山 暁人, 赤星 光輝, 小荒田 秀一, 多田 芳史
2. 発表標題 多発脳梗塞を呈した好酸球性多発血管炎性肉芽腫症の一例
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹山 悠希子, 前崎 哲宏, 堺 真梨子, 中尾 嘉修, 丸山 暁人, 赤星 光輝, 小野 伸之, 小荒田 秀一, 多田 芳史
2. 発表標題 メトトレキサート内服時の不耐症状の発現とカフェイン摂取量の関連についての研究
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山 暁人, 石澤 彩子, 桐野 洋平, 山内 雄介, 井上 靖, 永井 秀人, 千布 裕, 小荒田 秀一, 中尾 嘉修, 堺 真梨子, 猪口 仁美, 大田 俊行, 大田 明英, 岩本 雅弘, 多田 芳史
2. 発表標題 成人スチル病の治療 成人発症Still病(AOSD)のDrug-free寛解に影響する要因の解析
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 多田 芳史, 丸山 暁人, 石澤 彩子, 桐野 洋平, 山内 雄介, 永井 秀人, 井上 靖, 千布 裕, 猪口 仁美, 大田 俊行, 竹山 悠希子, 赤星 光輝, 小荒田 秀一, 大田 明英, 岩本 雅弘
2. 発表標題 成人スチル病の特性 成人スチル病の重症度分類は予後予測に有用か
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小荒田 秀一, 前崎 哲宏, 堺 真梨子, 中尾 嘉修, 竹山 悠希子, 白濱 裕梨, 丸山 暁人, 赤星 光輝, 小峯 光徳, 多田 芳史
2. 発表標題 関節炎先行乾癆性関節炎の脊椎体軸病変は早期診断に寄与するか
3. 学会等名 第61回九州リウマチ学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森山 良太, 太田 昭一郎, 小荒田 秀一
2. 発表標題 新型コロナウイルス抗体検出キットを用いた疫学調査
3. 学会等名 国際医療福祉大学学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野田 亮介 , 堺 真梨子 , 前崎 哲宏 , 中尾 嘉修 , 竹山 悠希子 , 丸山 暁人 , 赤星 光輝 , 小荒田 秀一 , 多田 芳史
2. 発表標題 著明な腹水貯留と高クレアチニン血症をきたした家族性地中海熱の 1 例
3. 学会等名 第 6 1 回九州リウマチ学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 赤星 光輝 , 前崎 哲宏 , 堺 真梨子 , 中尾 嘉修 , 竹山 悠希子 , 丸山 暁人 , 小荒田 秀一 , 多田 芳史
2. 発表標題 抗 ARS 抗体を伴った関節リウマチ患者の臨床像
3. 学会等名 第 6 1 回九州リウマチ学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野田 亮介 , 堺 真梨子 , 前崎 哲宏 , 中尾 嘉修 , 竹山 悠希子 , 丸山 暁人 , 赤星 光輝 , 小荒田 秀一 , 多田 芳史
2. 発表標題 膀胱破裂による著明な腹水貯留と偽性腎不全をきたした家族性地中海熱の 1 例 九州リウマチ
3. 学会等名 第 6 1 回九州リウマチ学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平野 純 , 高山 真紀子 , 武富 康起 , 廣瀬 聖 , 前田 夢海 , 宮嶋 優依子 , 毛利 穂乃香 , 小荒田 秀一
2. 発表標題 関節エコーによる若年健常者における下肢腱附着部の正常構造の解析
3. 学会等名 第 6 3 回九州リウマチ学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小荒田 秀一 , 堺 真梨子 , 中尾 嘉修 , 竹山 悠希子 , 貞永 裕梨 , 田代 知子 , 丸山 暁人 , 小野 伸之 , 多田 芳史
2. 発表標題 関節リウマチにおいてエコー完全寛解はバイオフィリー寛解維持の予測指標となるか
3. 学会等名 第117回日本内科学会総会・講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小荒田 秀一 , 堺 真梨子 , 中尾 嘉修 , 竹山 悠希子 , 白濱 裕梨 , 丸山 暁人 , 田代 知子 , 小野 伸之 , 小峯 光徳 , 多田 芳史
2. 発表標題 関節炎が先行する乾癬性関節炎の早期診断
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小荒田 秀一
2. 発表標題 完全寛解を目指したB細胞を標的としたSLEの治療法
3. 学会等名 SLE expert Meeting in Saga (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小荒田 秀一 , 前崎 哲宏 , 堺 真梨子 , 中尾 嘉修 , 竹山 悠希子 , 白濱 裕梨 , 丸山 暁人 , 赤星 光輝 , 小峯 光徳 , 多田 芳史
2. 発表標題 関節炎先行乾癬性関節炎の脊椎体軸病変は早期診断に寄与するか
3. 学会等名 第61回 九州リウマチ学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 Koarada S	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Bentham Science Publishers	5. 総ページ数 362
3. 書名 Systemic Lupus Erythematosus: A Systematic Approach to Arthritis of Rheumatic Diseases	

1. 著者名 Koarada S (ed)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Cambridge Scholars Publishing	5. 総ページ数 448
3. 書名 A Comprehensive Rheumatological and Immunological Approach to Diagnosis of Psoriatic Arthritis	

1. 著者名 koarada S (ed)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Nova Science Pub Inc	5. 総ページ数 287
3. 書名 IgG4 Related Disease: Illustrated Pathology of Novel Systemic Disease (Immunology and Immune System D)	

〔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
研究分担者	多田 芳史 (Tada Yoshifumi) (70284627)	佐賀大学・医学部・准教授 (17201)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	丸山 暁人 (Maruyama Akihito) (90508730)	佐賀大学・医学部・助教 (17201)	

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