

令和元年5月16日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09885

研究課題名(和文) 抗リン脂質抗体症候群の流産モデルマウスの作成

研究課題名(英文) Novel murine model of recurrent miscarriages

研究代表者

奥 健志 (Oku, Kenji)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：70544295

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：抗リン脂質抗体症候群患者(APS)で確認される自己免疫性補体活性化が流産発症と関連するのみならず、不育症一般に関連することを示した。補体C1qに対する自己抗体(aC1q)のうち、陰性荷電リン脂質結合C1qが表出するエピトープを標的とする病原性抗体は補体活性化を促す。aC1qは、APSや原因不明の不育症患者で高率・高力価に発現し、陽性例で補体活性化を認めた。妊娠マウスにモノクローナルaC1qを投与したモデルでは血清C3a値上昇、胎盤組織への補体関連蛋白沈着とこれらと相関して胎仔吸収率亢進、胎仔/胎盤重量低下を認めた。これらはいずれも、抗C5a受容体抗体の投与で対照群と同程度に改善した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗Cq抗体は、不育症や習慣流産における新たな病原性自己抗体である可能性が示唆された。その存在は補体系の活性化を介して胎盤不全を惹起し流産に至ると考えられる。そのため、不育症や流産においてaC1qは新たな治療ターゲットや病態マーカーになる可能性がある。少子化が進む我が国において不育症や習慣流産は大きな問題であり、本研究によってリスク例の抽出や新たな病態理解による新規治療が行われる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that the complement activation detected in the sera of recurrent miscarriages patients is not only related to antiphospholipid syndrome (APS) but generally observed in the recurrent miscarriage patients with or without APS. A pathogenic antibody that targets an uncovered-epitope on the anionic phospholipid-bound triggers the overwhelming activation of the complement system. The aC1q with the complement activation were prevalently observed in the sera of the recurrent miscarriage patients without known etiology as well as the APS patients. In the murine model, which the BALB/c pregnant mouse administered with the monoclonal aC1q, showed the upregulation of the serum C3a level with the increased complement protein depositions in the placenta with the high prevalence of embryonic absorption and the placenta/placental weight loss. These were improved to the same degree as the control group by the pre-administration of the anti-C5a receptor antibody.

研究分野：自己免疫疾患の臨床・基礎研究

キーワード：不育症 補体活性化 C1q 胎盤不全 抗リン脂質抗体症候群

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗リン脂質抗体症候群(APS)は血栓症とともに流産をその主要病態として有するが、研究者はAPS患者での検討から、補体活性化が流産の一因と考え、APS患者を含めた流産患者(不育症や習慣流産など流産を繰り返す患者)に高率に補体古典経路第1蛋白(C1q)に対する自己抗体が出現していることを発見した(抗C1q抗体;aC1q)。当初、aC1q産生はAPSに特徴的と想定した。補体活性化を惹起するpathogenicなaC1qは陰性荷電リン脂質に結合し形態変化をきたしたC1qをターゲットし、これはちょうど陰性荷電リン脂質に結合し形態変化を来した血漿蛋白(2GPIやプロトロンビン)をターゲットとするという抗リン脂質抗体の定義に合致する。一方、既知の抗リン脂質抗体は向凝固能はたかいが補体活性化惹起能は高くなく、aC1qがAPS患者に高率に出現していると考えた。ところが実際は両親の遺伝子異常など明らかな原因を除いた不育症や習慣流産全般にaC1qが発現しており、補体異常がそれらに併存していることが判明した。補体活性化の異常なその進展が流産につながることは既に報告されており、それゆえaC1qもしくはaC1qを中心とした抗リン脂質抗体が不育症の一因と仮説をたてた。

2. 研究の目的

マウスモデルを用いて仮説(aC1qによる流産惹起)を検証する

3. 研究の方法

Balb/cマウスを用いて既報のAPSモデルマウス(APS患者IgGをマウスに投与して流産を惹起する)に準じたスケジュール・量でマウスモノクローナルaC1qを投与し、胎仔吸収率、胎盤・胎仔重量をマクロ的に観察し、同時に胎盤病理所見の観察と血清補体値(補体活性化フラグメントであるC3a)を測定する。流産傾向が明らかでない場合には既存の抗リン脂質抗体の併用や患者IgGの投与を行う予定であった。

4. 研究成果

8-12週齢の妊娠BALB/cマウスにマウスモノクローナルaC1q(JL-1:500µg/kg)、マウスコントロールIgG(500µg/kg)、またはPBSを妊娠8、12日目に経尾静脈的に投与し、妊娠16日目において有意な胎仔吸収率の亢進、胎仔/胎盤重量の低下、血清C3a値の上昇、胎盤組織への補体関連蛋白(C1q,C3,C4d)沈着の亢進を認め、血清C3a値と流産率は逆相関関係を示した。これらはいずれも、抗C5a受容体抗体の前投与でコントロール群と同程度に改善した。血清C1q値はJL-1投与群で軽度上昇する傾向にあったが有意差は認めなかった。

これらから、aC1qは習慣流産における新たな病原性自己抗体である可能性が示唆され、その存在は補体系の活性化を介し胎盤不全を惹起しうると考察され、新たな治療ターゲットおよび病態マーカーになる可能性がある。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計14件)

Ohmura K, Oku K et al. Pathogenic roles of anti-C1q antibodies in recurrent pregnancy loss. Clin Immunol. 2019 8;203:37-44 査読あり

Oku K, Atsumi T. Rheumatology practice in Japan: challenges and opportunities. Rheumatol Int. 2019 ePub ahead 査読あり

Hisada R, Kato M, Ohnishi N, Sugawara E, Fujieda Y, Oku K et al. Antiphospholipid

score is a novel risk factor for idiopathic osteonecrosis of the femoral head in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology(Oxford)* 2019 58(4):645-649 査読あり

Nakamura H, Oku K et al. Alternative pathway activation due to low level of complement factor H in primary antiphospholipid syndrome. *Thromb Res.* 2018 164:63-78 査読あり

Abe N, Oku K et al. Potential therapeutics for antiphospholipid antibody associated thrombocytopenia: A systemic review and meta-analysis. *Mod Rheumatol.* 2018 17:1-21 査読あり

Nakamura H, Oku K et al. Alternative pathway activation due to low level of complement factor H in primary antiphospholipid syndrome. *Thromb Res.* 2018 164;63-68 査読あり

Kaneko K, Mishima S, Goto M, Mitsui M, Tanigaki S, Oku K et al. Clinical feature and anti-phospholipid antibody profiles of pregnancy failure in young women with antiphospholipid antibody syndrome treated with conventional therapy. *Mod Rheumatol.* 2018 28(4):670-675 査読あり

Oku K, Atsumi Y. Systemic lupus erythematosus: nothing stale her infinite variety. *Mod Rheumatol.* 2018 28(5):758-765 査読あり

Nakamura H, Oku K et al. First-line, non-criteria antiphospholipid antibody testing for the diagnosis of antiphospholipid syndrome in clinical practice: A combination of anti-2-Glycoprotein I domain I and anti-phosphatidylserine/prothrombin complex antibodies tests. *Arthritis Care Res(Hoboken).* 2018 70(4):627-634 査読あり

Oku K et al. How to identify High-Risk APS patients: Clinical utility and predictive values of validated scores. *Curr Rheumatol Rep.* 2017 19(8):51 査読あり

Hisada R, Kato M, Sugawara E, Fujieda Y, Oku K et al. Thrombotic risk stratification by platelet count in patients with antiphospholipid antibodies: a longitudinal study. *J Thromb Haemost.* 2017 15(9):1782-1787 査読あり

Oku K et al. Significance of fully automated tests for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Res.* 2016 146:1-6 査読あり

Oku K et al. Complement and thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev.* 2016 15(10):1001-4 査読あり

Oku K et al. Autoantibodies against a complement component 1q subcomponent contribute to complement activation and recurrent thrombosis/pregnancy morbidity in anti-phospholipid syndrome. *Rheumatology(Oxford).* 2016 55(8): 1403-11 査読あり

[学会発表](計11件)

奥健志.抗C1q抗体 の習慣流産における関与. 第55回補体学会, 2018年8月(福岡、小倉)

大村一将, 奥健志, 北折珠央, 吉田美香, 内藤澄悦, 高橋伸彦, 渥美達也, 家子正裕. 抗C1qモノクローナル抗体による流産モデルマウスの検討. 第19回日本検査血液学会学術集会, 2018年7月, (埼玉県, 大宮市)

奥健志.抗リン脂質抗体症候群の最前線. 第40回日本血栓止血学会学術集会. 2018年6月(北海道、札幌市)

Oku K. Antiphospholipid antibodies: assays and their implications. The 10th Congress of the Asian-Pacific Society on Thrombosis and Haemostasis, 2018年6月(北海道、札幌市)

奥健志. 抗リン脂質抗体症候群における抗C1q抗体の意義. 第25回「自己抗体と自己免疫」シンポジウム, 2018年1月(東京都)

Ohmura K, Oku K, Kitaori T, Takahashi N, Naito S, Sugiura-Ogasawara M, Atsumi T, Ieko M. Anti-C1q autoantibodies are associated with recurrent pregnancy loss of unknown etiology. The 29th World Congress of World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine, 2017年11月, (Kyoto, Japan)

大村一将. 抗C1q抗体による流産モデルマウスの確立. TEN TOPICS OF RHEUMATOLOGY 2017. 2017年8月, (北海道, 札幌市)

大村一将. 不育症における抗C1q抗体の病原性. Academy of Immune Response and Tolerance at Hokkaido. 2017年8月, (北海道, 札幌市)

Ohmura K, Oku K, Kitaori T, Hisada R, Nakamura H, Kanda M, Shimizu Y, Bohgaki T, Amengual O, Horita T, Yasuda S, Sugiura-Ogasawara M and Atsumi T. Anti-C1q Antibodies Contribute to the Pathogenesis of Recurrent Pregnancy Loss via Complement Activation. The 61st Japan Colleague of Rheumatology, 2017年4月, (福岡県, 福岡市)

奥健志、大村一将、渥美達也、抗リン脂質抗体症候群と補体活性化、第31回日本生殖免疫学会学術集会. 2016年12月(兵庫 神戸市)

Ohmura K, Oku K, Kitaori T, Hisada R, Nakamura H, Kanda M, Shimizu Y, Bohgaki T, Amengual O, Horita T, Yasuda S, Sugiura-Ogasawara M and Atsumi T. Autoantibodies against complement component 1q subcomponent are associated with recurrent pregnancy loss in patients who do not fulfill the Sapporo Criteria, Sydney revision. The 15th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, 2016年9月, (Girne, Turkish Republic of Northern Cyprus)

〔図書〕(計 1 件)

Oku K, Antiphospholipid antibodies(APLA): Types and Functions in Health and disease, Luke E. Ward(editor), NOVA science publishers, 2018

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 大村 一将

ローマ字氏名: Ohmura Kazumasa

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、研究者個人に帰属されます。