

令和 3 年 10 月 19 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19600

研究課題名(和文) 全身性エリテマトーデスにおけるRAGE/HMGB1 Axisの病態的関与

研究課題名(英文) Pathological involvement of RAGE/HMGB1 Axis in systemic lupus erythematosus

研究代表者

渡辺 晴樹 (Watanabe, Haruki)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：10761132

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：鉱物油成分であるプリスタン(Pristan)を腹腔内に投与すると炎症が引き起こされ腎炎や関節炎など全身性エリテマトーデス(SLE)に類似した症状が起こる。RAGE遺伝子を欠損させたマウスにプリスタンを投与したところ、RAGEを欠損させていないマウスと比較し生存率が改善する傾向にあり、これにはマクロファージという異物を捕食して消化し清掃屋の役割を果たす細胞の関与が考えられた。また別の自然発症SLEモデルであるMRL/lprマウスのRAGE遺伝子を欠損させたところ蛋白尿が減少し脾臓やリンパ節腫大も改善した。以上よりRAGEはSLEにおいて病気を促進する役割を担っており、治療標的となる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでRAGEのSLEにおける役割については相反する報告があり結論が出ていなかった。RAGEの働きを抑えるsRAGEという物質を、SLEモデルマウスに投与するとSLEが改善したという報告がある一方、別のSLEモデルマウスのRAGE遺伝子を欠失させるとSLEが悪化したという報告がなされていた。後者の報告では軽症のSLEを発症するモデルマウスが使用されており、本研究による2つのモデルマウスの検討から、より強い炎症状態にある重篤な病態においてはRAGEはSLEの有望な治療標的となる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Intraperitoneal administration of pristane causes inflammation and symptoms similar to systemic lupus erythematosus (SLE) such as nephritis and arthritis. When pristane is administered to RAGE deficient C57BL/6 mice, the survival rate tends to be improved as compared to wild-type mice. Resident macrophages seem to ameliorate the alveolar hemorrhage and rescue the survivors. Furthermore, deletion of the RAGE gene in MRL/lpr mice, another spontaneous SLE model, reduced proteinuria and decreased the weight of spleen and lymph nodes. These results indicate that RAGE plays a role in promoting disease in SLE and may be a potential therapeutic target.

研究分野：臨床免疫学

キーワード：SLE RAGE プリスタン

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

### 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)は抗 DNA 抗体などの自己抗体が免疫複合体を形成し諸臓器を傷害する疾患である。若年女性に好発し、ときに腎臓や中枢神経系などの臓器に重篤な障害をもたらす、予後不良となることがある。SLE は本邦の難病法において指定難病とされているが、2019 年度の全国受療患者数は 61,835 人であり、免疫系疾患の中では最も多い。ステロイドや多くの免疫抑制薬が治療に用いられるが、未だ疾患のコントロールが困難で不可逆的な臓器障害に至る症例も存在する。

最終糖化産物受容体 (receptor for advanced glycation endproducts : RAGE) は免疫グロブリンスーパーファミリーに属するパターン認識受容体であり、細胞移動や接着、増殖などに関わる。本来のリガンドである AGE の他、S100/calgranulin や非ヒストン蛋白である HMGB1 (high mobility group box chromosomal protein 1) など内因性リガンドとして報告されており、RAGE を介して炎症促進作用を発揮する。

SLE の病態における RAGE の役割については、RAGE 経路を阻害するデコイ受容体である soluble RAGE (sRAGE) を用いた生体内での検討がなされている。SLE モデルマウスの 1 つである (NZB/NZW) F1 マウスに sRAGE を投与すると、ループス腎炎が改善し、自己抗体も低下したことから、RAGE は SLE の病態を促進していると考えられてきた ( )。一方 Goury らは RAGE ノックアウトマウス (KO) を C57BL/6 背景の *lpr* マウスと戻し交配をしてその表現型を検討したところ、リンパ組織の増大、自己抗体および腎炎の悪化を認めたと報告しており、RAGE が SLE の治療ターゲットとなりうるかは結論が出ていなかった ( )。

### 2. 研究の目的

難治性自己免疫疾患である SLE における RAGE の病態的関与を、ノックアウトマウスを用いて解明する。

### 3. 研究の方法

(1) 8-12 週齢 RAGE ノックアウト C57BL/6 にプリスタン 0.5ml を腹腔内投与し 20~32 週頃にかけて体重、尿蛋白を経時的に観察し疾患活動性を評価した。また C57BL/6 にプリスタン投与後早期に特異的に起こる肺胞出血の評価のため、肺の組織学的観察およびフローサイトメーターを用いた炎症細胞分画に与える影響を解析した。

(2) RAGE ホモノックアウト C57BL/6 マウスオスと代表的な自然発症 SLE モデルである MRL/*lpr* メスを交配させ、RAGE ヘテロノックアウト MRL/*lpr* マウスを作成した。次にヘテロノックアウト MRL マウスメスを MRL/*lpr* オスと交配させて、RAGE ヘテロノックアウト MRL/*lpr* マウス(2 世代)を作製した。以後 10-11 継代繰り返した後 RAGE ヘテロノックアウト MRL/*lpr* マウスオス、RAGE ヘテロノックアウト MRL/*lpr* マウスメスを交配させ RAGE ホモノックアウト MRL/*lpr* マウスメスを得た。次に尿蛋白、血清抗 dsDNA 抗体価を 18 週齢まで経時的に観察し SLE やループス腎炎の活動性を評価した。18 週時の腎組織について光学顕微鏡標本および免疫蛍光染色法を用いて評価し、浸潤細胞についても検討した。

### 4. 研究成果

(1) 野生型と RAGE ノックアウト C57BL/6 マウスにプリスタン 0.5ml を腹腔内投与し 9 か月間観察したところ腎炎の発症はともに認められず、体重やアルブミン尿の推移も両群間で差は認められなかった。また 9 か月間の生存率については RAGE ノックアウトで低下する傾向があった。プリスタン投与 1 週後の肺の病理学的評価をおこなったところ既報通り肺胞出血を認め死因と考えられたが、その出血の範囲や炎症の程度について RAGE 有無による明らかな違いを認めなかった。しかしながら肺組織から得た cell suspension をフローサイトメーターで評価したところ肺胞マクロファージが増加しており、炎症を寛解させ免疫学的ホメオスタシスを維持する作用を発揮していた可能性が示唆された。

(2) RAGE ホモノックアウト MRL/*lpr* マウスは MRL/*lpr* マウスと比較し 18 週齢において尿中アルブミン/クレアチニン比が低く、抗 dsDNA 抗体も低い傾向であった。また脾臓やリンパ節の重量も低下し、糸球体腎炎も有意に改善していた。C57BL/6 背景の *lpr* マウスと戻し交配した既報とは逆の結果となったことについては ( ) モデル動物の背景の違いによる炎症の程度の違いが影響した可能性が考えられるが、既報で示されている RAGE ノックアウトによる CD3+B220+CD4-CD8- 自己反応性 T 細胞の増殖やアポトーシスの低下が本モデルでも認められるか検証し、さらに細胞増殖に関する RAGE の下流シグナル分子の検討も必要と考えられた。

### <引用文献>

Lee SW, Park KH, Park S, Kim JH, Hong SY, Lee SK, Choi D, Park YB, Soluble receptor for advanced glycation end products alleviates nephritis in (NZB/NZW)F1 mice. *Arthritis Rheum*, 65 巻, 2013, 1902-1912

Goury A, Meghraoui-Kheddar A, Belmokhtar K, Vuiblet V, Ortilon J, Jaisson S, Devy J4, Le Naour R, Tabary T, Cohen JH, Schmidt AM, Rieu P, Touré F, Deletion of receptor

for advanced glycation end products exacerbates lymphoproliferative syndrome and lupus nephritis in B6-MRL Fas lpr/j mice, J Immunol, 194 巻、2015、3612-3622

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Watanabe H, Watanabe KS, Liu K, Zeggar S, Hiramatsu S, Katsuyama E, Tatebe N, Akahoshi A, Takenaka F, Hanada T, Akehi M, Sasaki T, Sada KE, Matsuura E, Nishibori M, Wada J. Anti-high mobility group box 1 antibody ameliorates albuminuria in MRL/lpr Lupus-prone mice. Mol Ther Methods Clin Dev 2017: 6, 31-39、査読有

Zeggar S, Watanabe KS, Teshigawara S, Hiramatsu S, Katsuyama T, Katsuyama E, Watanabe H, Matsumoto Y, Kawabata T, Sada KE, Niki T, Hirashima M, Wada J. Role of Lgals9 Deficiency in Attenuating Nephritis and Arthritis in BALB/c Mice in a Pristane- Induced Lupus Model. Arthritis Rheumatol 2018: 70, 1089-1101、査読有

Hiramatsu S, Watanabe KS, Zeggar S, Asano Y, Miyawaki Y, Yamamura Y, Katsuyama E, Katsuyama T, Watanabe H, Narasaki-Takano M, Matsumoto Y, Kawabata T, Sada K, Wada J, Regulation of Cathepsin E gene expression by the transcription factor Kaiso in MRL/lpr mice derived CD4+ T cells. Sci Rep 2019: 9, 3054、査読有

Hiramatsu-Asano S, Sunahori-Watanabe K, Zeggar S, Katsuyama E, Mukai T, Morita Y, Wada J. Deletion of Mir223 Exacerbates Lupus Nephritis by Targeting S1pr1 in Faslpr/lpr Mice. Front Immunol 2021: 11, 616141、査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

渡辺晴樹. SLE モデルマウスにおける最終糖化産物受容体(receptor for advanced glycation endproducts : RAGE)の果たす役割 日本臨床免疫学会 Midwinter Seminar 2019、沖縄、2019年2-3月

Watanabe H, Watanabe KS, Liu K, Yan M, Zeggar S, Hiramatsu S, Zeggar S, Ohashi K, Katsuyama E, Miyawaki Y, Morishita M, Katsuyama T, Narazaki M, Tatebe N, Kawabata T, Sada KE, Nishibori M, Wada J. Effects of Anti-High Mobility Group Box 1 Antibody for MRL/lpr Lupus-Prone Mice. 第82回米国リウマチ学会、ワシントンDC、2016年11月

〔図書〕(計 0 件)

## 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：渡部克枝

ローマ字氏名：(WATANABE, katsue)

研究協力者氏名：佐田憲映

ローマ字氏名：(SADA, ken-ei)

研究協力者氏名：山本博

ローマ字氏名：(YAMAMOTO, hiroshi)

研究協力者氏名：和田淳

ローマ字氏名：(WADA, jun)

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。