

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15386

研究課題名（和文）ANCA関連血管炎の病態評価に寄与する臨床検査法開発研究

研究課題名（英文）Development of clinical laboratory method for contribute to the evaluation of ANCA-related vasculitis

研究代表者

菊地 良介（Kikuchi, Ryosuke）

名古屋大学・医学部附属病院・主任臨床検査技師

研究者番号：30721435

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、日本人の全国規模の前向き追跡調査コホートサンプルを用いて、血清中の血管内皮成長因子-A（sVEGF-A）およびsVEGF-A165b（VEGF-Aの血管新生阻害アイソフォーム）とAAVの寛解までの期間との関連性を評価した。多発血管炎性肉芽腫症では治療前と治療6カ月後のsVEGF-AとsVEGF-A165bの濃度は同等であった。しかし、治療前と治療6カ月後のsVEGF-AとsVEGF-A165b濃度の差分は、寛解までの期間と逆相関していた。以上より、sVEGF-Aおよび-A165bは、多発血管炎性肉芽腫症患者の寛解までの期間を示すマーカーとなりうることを示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでにANCA関連血管炎について、VEGF-Aの「作用変化」の側面からのアプローチは皆無であった。本研究は、VEGF-Aの「作用変化」とANCA関連血管炎との関連を明らかにすることであった。本研究を通して、ANCA関連血管炎の診断・活動性評価・再燃予測の有効なバイオマーカーの提供と将来的な治療ターゲットとなりうる分子機構解明への新たな概念を提供することを目的とした。研究成果として、sVEGF-Aおよび-A165bは、多発血管炎性肉芽腫症患者の寛解までの期間を示すマーカーとなりうることを示唆された。今後より詳細な解析を行うことでANCA関連血管炎の寛解予測ロジックを確立できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：This study evaluated the clinical associations of serum vascular endothelial growth factor-A (sVEGF-A) and sVEGF-A165b concentrations with time to remission of AAV in a nationwide Japanese prospective follow-up cohort. Results revealed significant reductions in sVEGF-A and sVEGF-A165b concentrations in patients with microscopic polyangiitis and EGPA, respectively. However, despite the comparable concentrations of sVEGF-A and sVEGF-A165b during the 6 months of treatment in granulomatosis with polyangiitis patients, correlation analysis revealed that the differences in log2-transformed concentrations of sVEGF-A and sVEGF-A165b were inversely correlated with time to remission in granulomatosis with polyangiitis patients. These results suggest that sVEGF-A and -A165b can serve as potential markers of time to remission in patients with granulomatosis with polyangiitis.

研究分野：臨床検査医学

キーワード：VEGF-A VEGF-A165b ANCA 血管炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎 (AAV) は、顕微鏡的多発血管炎 (MPA)、多発血管炎性肉芽腫症 (GPA)、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症 (EGPA) の3つの異なる疾患から構成されている。ANCA による白血球や毛細血管内皮細胞の活性化が血管炎発症に関与していると考えられている。AAV の寛解導入療法による治療効果を早期に予測できる場合、綿密なフォローアップや追加療法を選択できる可能性がある。しかし、急性期指標である C-reactive protein (CRP) をはじめ、これまで報告があった候補遺伝子や IL-6 は、AAV の寛解までの期間を予測するには不十分であった。したがって、寛解までの期間を予測できる効果的なマーカーの開発が求められていた。

血管新生の制御には、様々なシグナル分子が関与しており、その中でも血管内皮増殖因子 A(VEGF-A)は、生理的および病的な血管新生に不可欠な因子である。一方、VEGF-A には相反する作用を有する VEGF-A_{165b} が報告されていた。我々はこれまでに、VEGF-A_{165b} と肥満 (*Circulation*, 2014)、末梢動脈疾患 (*Nat. Med.*, 2014)、冠動脈疾患 (*Clin. Chim. Acta.* 2018, *Int. J. Cardiol. Heart. Vasc.* 2018)、慢性腎臓病 (*Clin. Chim. Acta.*, 2017) などの疾患との関連性を報告してきた。これまでに、VEGF-A は CRP と抗ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 抗体価との相関が示されており、VEGF-A は抗 MPO 関連血管炎の疾患活動をモニタリングするための潜在的なマーカーであることが示唆できる。しかし、VEGF-A および VEGF-A_{165b} と AAV の寛解までの関係は不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、血清 VEGF-A (sVEGF-A) および sVEGF-A_{165b} の濃度が、AAV の寛解までの期間と相関しているかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 研究対象者

2011年4月から2013年12月までに「抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎・急速進行性糸球体腎炎の寛解導入治療の現状とその有効性と安全性に関する観察研究」に登録された患者を対象とした。

(2) 各種 VEGF-A 濃度測定

VEGF-A 濃度測定には、Human VEGF Quantikine ELISA Kit (DVE00, R&D 社)を使用した。

VEGF-A_{165b} 濃度測定には、Human Vascular Endothelial Growth Factor-165b ELISA Kit (MyBioSource)を使用した。

(3) 統計解析

AAV 患者の寛解までの期間と、寛解導入前後の対数変換した臨床パラメータの差との相関を評価した。相関分析は、ピアソン相関分析で評価した。P 値は両側検定で、P 値<0.05 を統計的有意差有りとした。統計解析は、SAS ソフトウェア、バージョン 9.4 (SAS Institute Inc.) および Prism 6 ソフトウェアを使用した。

4. 研究成果

1) AAV 患者の診断時および治療後の各種パラメータの変動

診断時の sVEGF-A および sVEGF-A_{165b} 濃度は、AAV サブタイプ間で有意な差を認めなかった。AAV 患者では、投与 6 カ月後に白血球 (WBC) 数 ($P=0.016$), sCRP ($P<0.001$), sVEGF-A ($P<0.001$) および sVEGF-A_{165b} ($P=0.002$) の濃度が有意に低下したことが確認された (図 1)。MPA 患者では、治療開始 6 カ月後に sCRP と血清クレアチニンの濃度が有意に低下した ($P<0.001$), 好中球数が有意に増加した ($P=0.030$)。GPA 患者では、sCRP の濃度が有意に低下した ($P=0.004$)。EGPA 患者では、WBC 数と sCRP 濃度が有意に減少し ($P=0.008$, $P=0.008$), 好中球数が有意に増加した ($P=0.008$)。MPA 患者では sVEGF-A 濃度が有意に低下し ($P<0.001$), EGPA 患者では sVEGF-A_{165b} 濃度が有意に低下した ($P=0.023$) (図 1)。

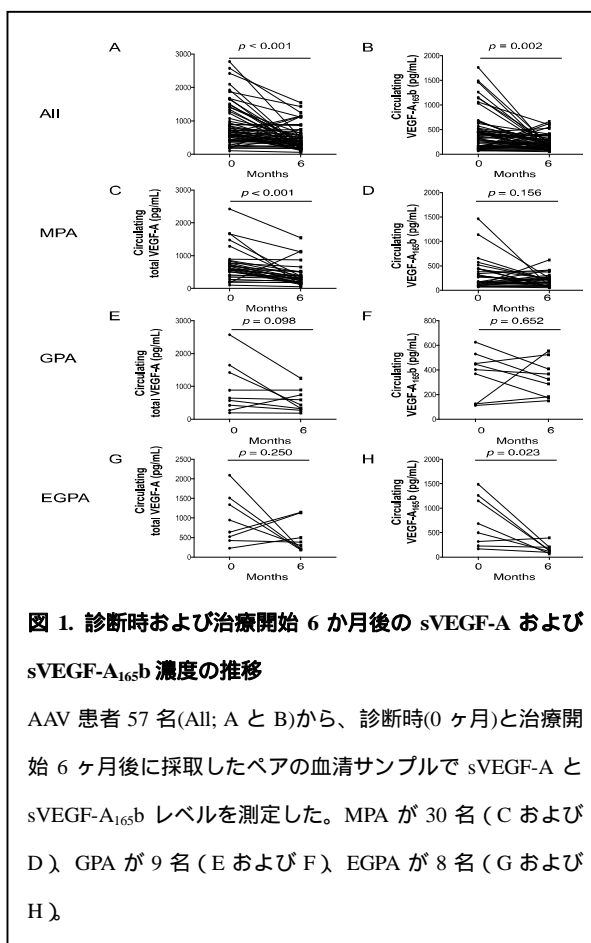


図 1. 診断時および治療開始 6 か月後の sVEGF-A および sVEGF-A_{165b} 濃度の推移

AAV 患者 57 名 (All; A と B) から、診断時 (0 ヶ月) と治療開始 6 ヶ月後に採取したペアの血清サンプルで sVEGF-A と sVEGF-A_{165b} レベルを測定した。MPA が 30 名 (C および D)、GPA が 9 名 (E および F)、EGPA が 8 名 (G および H)。

(2) AAV 患者の寛解までの期間と各種パラメータの相関

AAV 患者の寛解までの期間と各種パラメータとの相関結果を表 1 に示す。

WBC 数と sCRP 濃度は AAV のすべての分類において、寛解までの期間と相関しなかった。

血清クレアチニン濃度は EGPA 患者において寛解までの期間と正の相関を示した ($r=0.82$, $P=0.013$)。興味深いことに、sVEGF-A と sVEGF-A_{165b} は GPA 患者のみ寛解までの期間と逆相関していた ($r=-0.67$, $P=0.046$, および $r=-0.78$, $P=0.014$)。これらの結果から、sVEGF-A および VEGF-A_{165b} は、GPA 患者の寛解までの期間を示すマーカーとなり得ることが示唆された。

表 1. 診断時および治療開始 6 か月後の各種臨床パラメータと寛解までの日数との相関

| | All | | MPA | | GPA |
|------------------------|-------|---------|-------|---------|-------|
| | r | P value | r | P value | r |
| WBC | 0.10 | 0.484 | 0.08 | 0.695 | -0.50 |
| Neutrophil | -0.13 | 0.350 | 0.01 | 0.968 | 0.20 |
| Creatinine | -0.21 | 0.135 | -0.21 | 0.283 | 0.44 |
| CRP | -0.10 | 0.521 | -0.09 | 0.696 | -0.39 |
| Total VEGF-A | -0.03 | 0.811 | 0.07 | 0.737 | -0.67 |
| VEGF-A _{165b} | 0.07 | 0.610 | 0.20 | 0.290 | -0.78 |

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 0件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Kikuchi Ryosuke, Tsuboi Naotake, Sada Ken-Ei, Nakatochi Masahiro, Yokoe Yuki, Suzuki Atsuo, Maruyama Shoichi, Murohara Toyooki, Matsushita Tadashi, Amano Koichi, Atsumi Tatsuya, Takasaki Yoshinari, Ito Satoshi, Hasegawa Hitoshi, Dobashi Hiroaki, Ito Takafumi, Makino Hirofumi, Matsuo Seiichi | 4. 巻 58 |
| 2. 論文標題 Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A and VEGF-A165b are associated with time to remission of granulomatosis with polyangiitis in a nationwide Japanese prospective cohort study | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine | 6. 最初と最後の頁 86 ~ 94 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/0004563220968371 | 査読の有無 有 |
| 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 - |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 菊地良介、坪井直毅、丸山彰一、室原豊明、松下正 |
| 2. 発表標題 VEGF-Aの質に着目したANCA関連血管炎の治療効果評価に寄与する評価法構築に向けて |
| 3. 学会等名 第66回日本臨床検査医学会学術集会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|--|
| 名古屋大学医学部附属病院 医療技術部 臨床検査部門 https://www.med.nagoya-u.ac.jp/labmed/index.html |
|--|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|