

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17887

研究課題名（和文）CD226を標的とした全身性エリテマトーデスに対する新規治療法の開発

研究課題名（英文）Roles of CD226 in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus

研究代表者

綾野 雅宏（Masahiro, Ayano）

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：40773677

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）：本研究では全身性エリテマトーデス（SLE）の疾患感受性遺伝子であるCD226に関して、CD226陽性B細胞および可溶性CD226とSLEの関連を調査した。B細胞のCD226陽性率はSLE患者で増加しており、その陽性率は疾患活動性を反映し、SLEおよび腎炎の予後に関連していた。また血清可溶性CD226濃度は高疾患活動性SLE患者で高値を示しており、疾患活動性および中枢神経病変の重症度を反映し、累積再発率に関連していた。CD226陽性B細胞はSLE・腎炎の病態に関与し、B細胞のCD226陽性率および血清可溶性CD226濃度はSLEにおける有用なバイオマーカーになり得る。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全身性エリテマトーデス（SLE）は治療薬や治療戦略の進歩に伴い長期予後は改善しつつあるが十分ではなく、依然として腎炎や中枢神経病変など難治性病態が残存している。本研究では、B細胞のCD226陽性率および血清可溶性CD226濃度がSLEの難治性病態および予後を反映しSLE診療における有用なバイオマーカーになり得ることを示した。これらを用いることでSLE診療の質の向上、長期予後の改善につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to reveal the involvement of CD226 in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE) by assessing the relationship between CD226-expressing B cells or soluble CD226 and the disease activity, clinical manifestations, and prognosis of SLE. We demonstrated that the proportion of CD226+ B cells increased in SLE patients and could be associated with disease activity and prognosis. We also showed that serum soluble CD226 levels were elevated in active SLE patients and were associated with disease activity and flares. Thus, CD226+ B cells and soluble CD226 may be useful biomarkers for SLE, and its monitoring allows for more precise SLE management.

研究分野：膠原病内科学

キーワード：CD226 全身性エリテマトーデス ループス腎炎 B細胞 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス(SLE)は自己免疫異常を基盤として発症し、多彩な自己抗体の出現、免疫複合体による組織障害を特徴とする全身性炎症性疾患である。SLEの病態には樹状細胞・T細胞・B細胞の相互作用による過剰な自己への免疫応答が関与しており、ステロイド・免疫抑制剤などの従来治療に加えて、B細胞(CD20、BAFF)やI型IFN受容体を標的とした生物学的製剤が使用されつつある。しかしながら関節リウマチに対する抗サイトカイン療法(TNF- α 、IL-6)がパラダイムシフトを起こしたほどのインパクトはなく、効果は限定的である。SLEの長期予後は現在でも十分とは言えず、腎炎や中枢神経病変など難治性病態が残存している現状を考えると、SLEに対する新規治療法の確立が望まれる。

近年SLEの新規疾患感受性遺伝子として報告されたCD226は、NK細胞・T細胞の膜表面に恒常的に発現する共刺激分子であり、細胞傷害活性やCD4陽性T細胞の分化において重要な役割を担っている(J Exp Med.2003;198:1829, J Immunol.2013;191:3673)。これまでの研究でCD226は、抗原提示細胞(APC)や血管内皮細胞に発現するCD155/CD112をリガンドとし、抑制性レセプターTIGITと共同して免疫活性を調整することが明らかとなった(Curr Opin Rheumatol.2012;24:246)。この関係はすでに自己免疫疾患・悪性腫瘍で治療標的となっているCD80/CD86 - CD28/CTLA-4の相互作用と同様のものであり、CD155/CD112 - CD226/TIGITは新規の免疫制御機構として重要と考えられる。

B細胞におけるCD226の機能については十分な研究がなされていないが、申請者はこれまでの予備研究から、SLE患者でCD226陽性B細胞が増加していること、健常者B細胞をBCR + CpGで刺激(TLR9刺激)するとCD226発現レベルが亢進することを見出しており、機能が未解明のCD226陽性B細胞がSLEの病態に関与し、CD226を標的とした治療がB細胞に直接的な作用を示す可能性がある。またCD226のリガンドCD155が形質細胞様樹状細胞に高発現していることも加味すると、CD226を標的とする治療はSLE病態を形成する樹状細胞・T細胞・B細胞を多面的に制御する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、SLEの病態形成におけるCD226の重要性および機能を明らかにし、CD226を標的とする治療法を確立することである。

3. 研究の方法

(1) CD226陽性B細胞の解析

B細胞におけるCD226陽性率の測定

SLE患者48名と健常者24名におけるB細胞と各B細胞サブセットのCD226発現をフローサイトメトリーで測定し、両群で陽性率を比較した。

CD226陽性B細胞とSLE疾患活動性の関連

SLE患者B細胞のCD226陽性率と、SLEの活動性指標(SLE Disease Activity Index 2000: SLEDAI-2K)、臨床症状、血液検査所見との関連を解析した。一部の患者では治療前後のCD226陽性率の変化、治療前CD226陽性率と治療開始12か月後の疾患活動性との関連を解析した。

CD226陽性B細胞とループス腎炎の関連

活動性ループス腎炎を有するSLE患者について、B細胞のCD226陽性率と腎炎の活動性との関連、治療前CD226陽性率と治療開始12か月後の疾患活動性との関連を解析した。

(2) 可溶性CD226(sCD226)の解析

血清sCD226の測定

SLE患者58名と健常者33名における血清sCD226濃度をELISA法で測定し、両群で比較した。

sCD226とSLE疾患活動性の関連

SLE患者の血清sCD226濃度と、SLEDAI-2K、臨床症状、血液検査所見との関連を解析した。一部の患者では治療前後のsCD226濃度の変化とSLEDAI-2Kの変化の関連、sCD226濃度陽性率とその後2年間の累積再発率との関連を解析した。

sCD226と中枢神経ループスの関連

中枢神経ループスを有するSLE患者について、血清sCD226濃度と中枢神経病変の活動性・重症度との関連を解析した。

4. 研究成果

(1) CD226陽性B細胞の解析

B細胞におけるCD226陽性率の測定

SLE 患者では健常者と比較し B 細胞、全 B 細胞サブセット（ナイーブ B 細胞、IgD 陽性メモリー B 細胞、スイッチメモリー B 細胞、形質芽細胞）における CD226 陽性率が有意に増加していた（図 1）。B 細胞サブセットの比較では特に、より分化の進んだスイッチメモリー B 細胞や形質芽細胞において CD226 陽性率が増加していた。

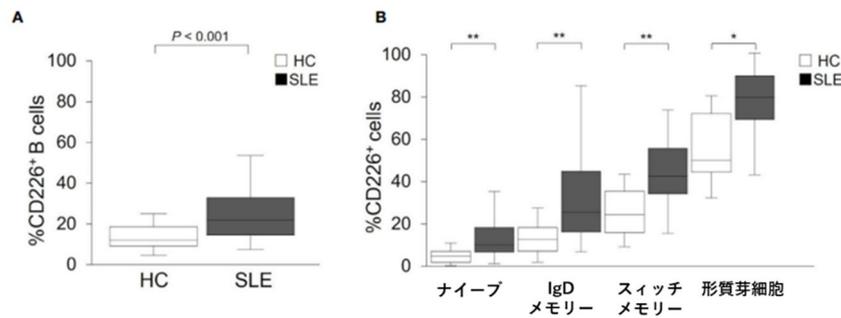


図 1 B細胞におけるCD226陽性率

CD226 陽性 B 細胞と SLE 疾患活動性の関連

疾患活動性との関連では B 細胞における CD226 陽性率は SLEDAI-2K と有意な正の相関（ $r = 0.40$; $P = 0.005$ ）を認め、検査値では抗 dsDNA 抗体価と正の相関（ $r = 0.41$; $P = 0.004$ ）、補体と負の相関（ $r = -0.28$; $P = 0.055$ ）を認めた。各 B 細胞サブセットではスイッチメモリー B 細胞、形質芽細胞で同様の結果であった。臨床症状との関連では腎、筋骨格、血液病変を有する SLE 患者で B 細胞における CD226 陽性率が増加していた。

活動性 SLE 患者 5 名の B 細胞における CD226 陽性率を治療前後で解析すると、治療後 SLE の改善・悪化に連動して CD226 陽性率は減少・増加していた。また研究開始時点の B 細胞における CD226 陽性率と 12 か月後の予後との関連を解析すると、12 か月後に低疾患活動性（Lupus Low Disease Activity State: LLDAS）を達成した患者では、LLDAS を達成できなかった患者と比較して研究開始時点の B 細胞における CD226 陽性率は低値であった（中央値：寛解達成 27.9% vs 非達成 63.2%; $P = 0.136$ ）。

CD226 陽性 B 細胞とループス腎炎疾患活動性の関連

活動性腎炎を有する SLE 患者の B 細胞における CD226 陽性率は増加（中央値：腎炎あり 26.4% vs なし 18.3%; $P = 0.025$ ）しており、腎の疾患活動性と相関（ $r = 0.37$; $P = 0.009$ ）を認めた。12 か月後に腎寛解を達成できなかった患者では、研究開始時点の B 細胞における CD226 陽性率が高値であった（中央値：寛解達成 23.8% vs 非達成 63.2%; $P = 0.058$ ）。

(2) sCD226 の解析

sCD226 の測定

SLE 全患者と健常者の比較では血清 sCD226 濃度に明らかな差は見られなかったが、高疾患活動性 SLE 患者（SLEDAI-2K 20）で血清 sCD226 濃度が有意に高かった（図 2）。

sCD226 と SLE 疾患活動性の関連

疾患活動性との関連では血清 sCD226 濃度は SLEDAI-2K と有意な正の相関（ $r = 0.39$; $P = 0.003$ ）を認め、検査値では抗 dsDNA 抗体価と有意な正の相関（ $r = 0.28$; $P = 0.035$ ）、補体と負の相関（ $r = -0.17$; $P = 0.19$ ）を認めた。臨床症状との関連では中枢神経、筋骨格、皮膚、血液病変を有する SLE 患者で血清 sCD226 濃度が高値であった。

SLE 患者 11 名の血清 sCD226 濃度を治療前後で解析すると、その変化量と SLEDAI-2K の変化量は有意な正の相関を認めた。また血清 sCD226 濃度 10ng/ml を基準として sCD226 高値群と低値群に分けると、高値群で 2 年間の累積再発率が有意に高かった（図 3）。

sCD226 と中枢神経ループスの関連

活動性中枢神経病変を有する患者は既往のある患者と比較して血清 sCD226 濃度が高く（中央値：活動性 1.43ng/ml vs 既往 0.15ng/ml）、重症度の高い病変でより高値であった（中央値 8.68ng/ml vs 0.49ng/ml）。

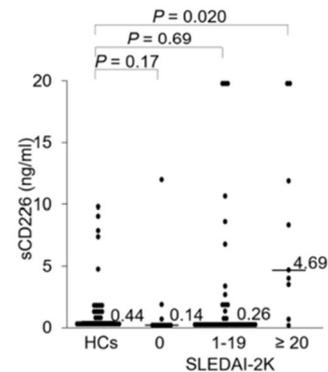


図 2 血清sCD226濃度

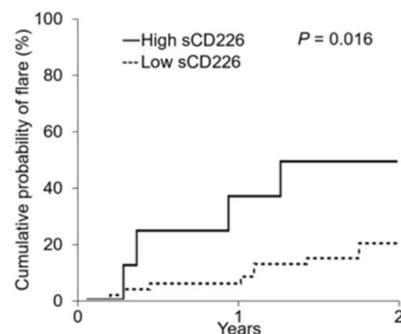


図 3 累積再発率

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Nakano Miki, Ayano Masahiro, Kushimoto Kazuo, Kawano Shotaro, Higashioka Kazuhiko, Inokuchi Shoichiro, Mitoma Hiroki, Kimoto Yasutaka, Akahoshi Mitsuteru, Ono Nobuyuki, Arinobu Yojiro, Akashi Koichi, Horiuchi Takahiko, Niiro Hiroaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Increased Proportion of CD226+ B Cells Is Associated With the Disease Activity and Prognosis of Systemic Lupus Erythematosus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2021.713225	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 -

1. 著者名 Nakano Miki, Ayano Masahiro, Kushimoto Kazuo, Kawano Shotaro, Higashioka Kazuhiko, Inokuchi Shoichiro, Mitoma Hiroki, Kimoto Yasutaka, Akahoshi Mitsuteru, Ono Nobuyuki, Arinobu Yojiro, Akashi Koichi, Horiuchi Takahiko, Niiro Hiroaki	4. 巻 11
2. 論文標題 Association of elevated serum soluble CD226 levels with the disease activity and flares of systemic lupus erythematosus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-95711-2	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 -

1. 著者名 Ayano Masahiro, Kimoto Yasutaka, Mitoma Hiroki, Akahoshi Mitsuteru, Ono Nobuyuki, Arinobu Yojiro, Akashi Koichi, Horiuchi Takahiko, Niiro Hiroaki	4. 巻 32
2. 論文標題 Hydroxychloroquine versus tacrolimus for the treatment of persistently active systemic lupus erythematosus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 345 ~ 350
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/mr/roab010	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 -

1. 著者名 Irino Kensuke, Arinobu Yojiro, Ayano Masahiro, Kawano Shotaro, Kimoto Yasutaka, Mitoma Hiroki, Akahoshi Mitsuteru, Akashi Koichi, Horiuchi Takahiko, Niiro Hiroaki	4. 巻 30
2. 論文標題 Predictive factors of fetal and maternal pregnancy outcomes in Japanese patients with systemic lupus erythematosus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lupus	6. 最初と最後の頁 1637 ~ 1643
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/09612033211031989	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 -

1. 著者名 Kushimoto Kazuo, Ayano Masahiro, Nishimura Keisuke, Nakano Miki, Kimoto Yasutaka, Mitoma Hiroki, Ono Nobuyuki, Arinobu Yojiro, Akashi Koichi, Horiuchi Takahiko, Niiro Hiroaki	4. 巻 23
2. 論文標題 HLA-B52 allele in giant cell arteritis may indicate diffuse large-vessel vasculitis formation: a retrospective study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-021-02618-4	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 -

1. 著者名 Ayano Masahiro, Arinobu Yojiro, Tsukamoto Hiroshi, Ota Shun-ichiro, Misaki Kenta, Nishimura Keisuke, Kimoto Yasutaka, Mitoma Hiroki, Akahoshi Mitsuteru, Akashi Koichi, Horiuchi Takahiko, Niiro Hiroaki	4. 巻 40
2. 論文標題 Shoulder ultrasound and serum lactate dehydrogenase predict inadequate response to glucocorticoid treatment in patients with polymyalgia rheumatica	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology International	6. 最初と最後の頁 1101 ~ 1109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00296-020-04512-9	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5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 綾野 雅宏、木本 泰孝、三苫 弘喜、小野 伸之、有信 洋二郎、赤司 浩一、堀内 孝彦、新納 宏昭
2. 発表標題 全身性エリテマトーデスに対する初回寛解導入治療後の早期寛解達成に関連する因子の検討
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 綾野 雅宏、木本 泰孝、三苫 弘喜、小野 伸之、有信 洋二郎、赤司 浩一、堀内 孝彦、新納 宏昭
2. 発表標題 活動性残存全身性エリテマトーデスに対する追加治療：ヒドロキシクロロキン vs タクロリムス
3. 学会等名 第62回九州リウマチ学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 綾野 雅宏、赤星 光輝、木本 泰孝、三苫 弘喜、 有信 洋二郎、赤司 浩一、堀内 孝彦、新納 宏昭
2. 発表標題 全身性エリテマトーデスに対するヒドロキシクロロキンのステロイド減量効果：タクロリムスとの比較検討
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野 未来、綾野 雅宏、久志本 和郎、河野 正太郎、木本 泰孝、三苫 弘喜、赤星 光輝、有信 洋二郎、赤司 浩一、堀内 孝彦、新納 宏昭
2. 発表標題 全身性エリテマトーデス患者における血清可溶性CD226濃度の臨床的意義
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 綾野 雅宏、三苫 弘喜、塚本 浩、柏戸 佑介、 木本 泰孝、赤星 光輝、有信 洋二郎、 赤司 浩一、堀内 孝彦、新納 宏昭
2. 発表標題 全身性強皮症に対する自家造血幹細胞移植の長期成績
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2019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
---------	---------