

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17888

研究課題名（和文）自己免疫疾患におけるMEFV遺伝子変異の病態修飾に関する研究

研究課題名（英文）Research on modification of Mediterranean fever gene variants in autoimmune diseases

研究代表者

遠藤 友志郎（Endo, Yushiro）

長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・客員研究員

研究者番号：10831571

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）：CRISPER-Cas9により、全身性エリテマトーデス(SLE)のモデルマウスであるMRL/lprマウスへのMEFV exon2 E148QのKIマウス(MEFV E148Q KI MRL/lpr)を作製した。MEFV E148Q KI MRL/lprでは自己抗体価やメモリーBcell、樹状細胞の割合が有意に低下し、腎炎重症度が軽減する傾向が見られた。また、SLE患者検体を用いたMEFV遺伝子の全エクソン解析に関しては、マウスモデルと一致して、MEFV多型が存在により、SLEにおける腎炎の発症が抑制される結果であり、MEFV多型はループス腎炎発症には保護的に働くことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SLEを含めた自己免疫疾患は、T細胞やB細胞のみならず、自然免疫担当細胞の関与も注目されているが、これまで自己免疫疾患のモデルマウスを用いたMEFV遺伝子の機能的解析を行った先行研究はなく学術的な独自性が高く、今回の研究では自己炎症性疾患と自己免疫疾患という別カテゴリーの疾患が互いの病態に与える影響やその機序を解くことで、その他の自己炎症性疾患や自己免疫疾患についても更なる理解や研究が進むきっかけになることが期待される点で学術的意義が高く、自己炎症性疾患に関連する遺伝子に注目することで、自己免疫疾患の病態解明につながる可能性を秘めている点において社会的意義も高い。

研究成果の概要（英文）：We reviewed the case of Japanese patients with SLE. Also, we partially introduced human exon 2 of the MEFV gene with or without E148Q variant into those in MRL/lpr mice (MRL/lpr hMEFV WT vs MRL/lpr hMEFV E148Q). Patients with MEFV variants exhibited significant lower presence of lupus nephritis than those without MEFV variants. We counted the total number of MEFV variants exhibited in each patient. The total number of MEFV variants in patients with lupus nephritis was significantly lower than those lacking lupus nephritis. Consistent with the data from patients with SLE, MRL/lpr hMEFV E148Q showed the tendency of less severity in lupus nephritis (Not significant) and showed significantly less autoantibody production. The differences in those phenotypes was suggested to be attributed by less induction of dendritic cells followed by less memory B cells. Our results suggested that presence of MEFV variants provides protection from the development of lupus nephritis in patients with SLE.

研究分野：自己免疫・自己炎症性疾患

キーワード：家族性地中海熱 遺伝性自己炎症性疾患 全身性エリテマトーデス 自己免疫疾患

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

家族性地中海熱 (Familial Mediterranean Fever; FMF) は、地中海沿岸地方を中心とした *MEFV* 遺伝子の異常で発症する遺伝性自己炎症性疾患であるが、近年本邦での FMF 症例報告も増えている。本邦の FMF 患者で多く認められる *MEFV* 遺伝子の Exon 2 における多型は、本邦の健常人でも 2~3 割存在しており、これまで、ヒト *MEFV* 遺伝子のノックインマウスにより *MEFV* 遺伝子の Exon 10 変異の病的意義は確認されているが、Exon 2 の多型の病的意義に関しては未解明な部分が多い。また近年の臨床研究では、*MEFV* 遺伝子変異/多型の存在が SLE などの自己免疫疾患の病態を修飾することが報告されており、特に本邦の FMF の特徴である *MEFV* 遺伝子の Exon 2 における多型の存在は、SLE におけるループス腎炎の発症に抑制的に働く可能性が示唆されている (Deniz R et al. *Lupus* 24: 705-711, 2015) が、その真偽や機序は不明である。

### 2. 研究の目的

本研究では、*MEFV* 遺伝子の Exon 2 の多型のノックインマウスを用いることで Exon 2 の多型の自己免疫疾患である SLE における病的意義や自己免疫疾患への影響を動物実験により解明を試みることで、また臨床研究として全 SLE 患者に *MEFV* 遺伝子解析を実施し、その変異/多型が SLE の臨床病態に与える影響を解析することを目的とした。

### 3. 研究の方法

CRISPER-Cas9 を用いて遺伝設計を行い、全身性エリテマトーデス (SLE) のモデルマウスとして知られる MRL/lpr マウスへの *MEFV* exon 2 E148Q hetero 多型の E148Q ノックインマウス (MRL/lpr<sup>hMEFV E148Q</sup>) を作製、コントロールとして point mutation を伴わない同部位のヒト *MEFV* exon 2 をノックインさせた MRL/lpr<sup>hMEFV WT</sup> マウスを作製し、体重変動や生存率、蛋白尿や自己抗体価の推移といった臨床評価、腎臓や皮膚などの組織学的評価、フローサイトメトリーによる B 細胞や T 細胞、単球等の細胞発現の評価、培養実験によるインフラマソーム活性化の評価を実行する。また、SLE 患者検体を用いた *MEFV* 遺伝子の全エクソン解析を行い、その有無に伴う臨床所見や検査所見を比較すること、*MEFV* 遺伝子多型を伴う SLE 患者における臨床的特徴を明らかにして、マウスから得られた結果との一貫性を検証した。

### 4. 研究成果

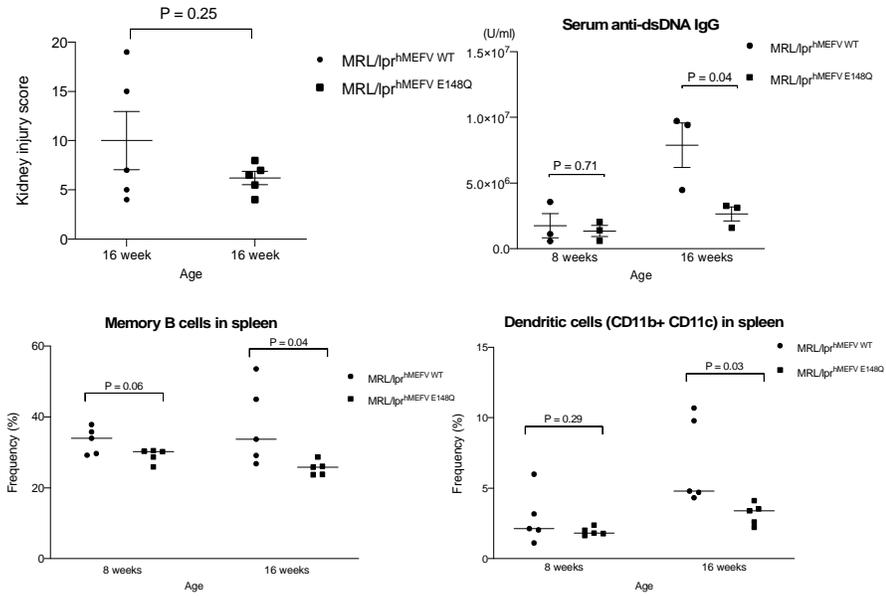
(1) *MEFV* 遺伝子多型を伴う SLE 患者は、それを伴わない患者と比較して、ループス腎炎の発症率が有意に低く、多変量解析にて、*MEFV* 遺伝子多型の保有数は、ループス腎炎の発症に有意に関連を示した。

End point	Variables		Odds rate (95% CI)	P-value
Lupus nephritis	Age at onset	1 increase	1.013 (0.963 to 1.065)	0.63
	Male gender	Presence	0.754 (0.053 to 10.741)	0.84
	Low CH50	Presence	4.758 (0.869 to 26.052)	0.07
	Anti-dsDNA Ab positivity	Presence	5.159 (0.761 to 34.950)	0.09
	Total number of <i>MEFV</i> variants	1 increase	0.359 (0.137 to 0.942)	0.04

(2) モデルマウスによる検討では、腎炎の組織学的な重症度判定において、有意差は認めないものの、MRL/lpr<sup>hMEFV E148Q</sup>マウスで腎炎が軽減する傾向が見られた。

また、血清の自己抗体価やフローメイトメトリー解析におけるメモリーB細胞や樹状細胞の割合は有意にMRL/lpr<sup>hMEFV E148Q</sup>マウスで低下しており、腎炎の軽減との一貫性を認めた。

以上の結果より、MEFV多型はループス腎炎発症には保護的に働くことが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Hao Li, Afroditii Boulougoura, Yushiro Endo, George C Tsokos	4. 巻 132
2. 論文標題 Abnormalities of T cells in systemic lupus erythematosus: new insights in pathogenesis and therapeutic strategies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Autoimmun	6. 最初と最後の頁 102870
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jaut.2022.102870	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 Atsushi Kawakami, Yushiro Endo, Tomohiro Koga, Koh-Ichiro Yoshiura, Kiyoshi Migita	4. 巻 42
2. 論文標題 Autoinflammatory disease: clinical perspectives and therapeutic strategies.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Inflamm Regen	6. 最初と最後の頁 37
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41232-022-00217-7	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 Yushiro Endo, Yasutomo Funakoshi, Tomohiro Koga, Hirofumi Ohashi, Mami Takao, Kiyonori Miura, Koh-Ichiro Yoshiura, Tadashi Matsumoto, Hiroyuki Moriuchi, Atsushi Kawakami	4. 巻 235
2. 論文標題 Large deletion in 6q containing the TNFAIP3 gene associated with autoimmune lymphoproliferative syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Immunol	6. 最初と最後の頁 108853
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.clim.2021.108853	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 Tomohiro Koga, Masataka Umeda, Nobuya Yoshida, Yushiro Endo, Atsushi Kawakami, George C Tsokos	4. 巻 62
2. 論文標題 Inhibition of calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV in arthritis: dual effect on Th17 cell activation and osteoclastogenesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Rheumatology (Oxford)	6. 最初と最後の頁 861-871
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/keac381	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 Endo Yushiro, Koga Tomohiro, Otaki Hiroki, Furukawa Kaori, Kawakami Atsushi	4. 巻 227
2. 論文標題 Systemic lupus erythematosus overlapping dermatomyositis owing to a heterozygous TREX1 Asp130Asn missense mutation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 108732 ~ 108732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clim.2021.108732	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 Endo Y, Koga T, Nakashima M, Mishima H, Yoshiura K, Kawakami A	4. 巻 37
2. 論文標題 Atypical phenotype without fever in a Japanese family with an autosomal dominant transmission of familial Mediterranean fever due to heterozygous MEFV Thr577Asn mutations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Rheumatology	6. 最初と最後の頁 161-162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Endo Y, Koga T, Furukawa K, Sumiyoshi R, Ichinose K, Kawakami A	4. 巻 37
2. 論文標題 Late-onset protracted febrile myalgia syndrome successfully treated with colchicine owing to heterozygous MEFV exon 2 variants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Rheumatology	6. 最初と最後の頁 166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Endo Y, Koga T, Furukawa K, Umeda M, Sasaki D, Yanagihara K, Kawakami A	4. 巻 59
2. 論文標題 Successful hydroxychloroquine treatment for familial Mediterranean fever in a Japanese patient with concurrent systemic lupus erythematosus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 903-905
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yushiro Endo, Tomohiro Koga, Atsushi Kawakami
2. 発表標題 Presence of Mediterranean Fever Gene Variants Provides Protection from the Development of Lupus Nephritis in Patients with Systemic Lupus Erythematosus
3. 学会等名 American College of Rheumatology Convergence 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024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
---------	---------