

令和 6 年 5 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17419

研究課題名（和文）高安動脈炎における新規自己抗体の病原性の解明

研究課題名（英文）Identification of pathogenesis of novel autoantibodies in Takayasu arteritis

研究代表者

武藤 智之（Tomoyuki, Mutoh）

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：10868235

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000円

研究成果の概要（和文）：複数回のPCRアレイによる網羅的遺伝子解析の結果、HDL添加後はCXCL8の著明な増加とCXCL10の著明な減少を、一方でAPC添加後はCCL2の著明な減少を認めた。

外科的処置を受けたTAK患者3名とTAKではない患者から大動脈組織を採取し、免疫組織学的染色にて評価した所、大動脈壁の栄養血管であるvasa vasorum周囲に炎症細胞浸潤を認めた。また障害された大動脈血管腔側の内皮細胞にEPCRとSR-BIの発現を、さらにvasa vasorumにおいてより強い発現を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PCRアレイによる網羅的遺伝子解析の結果により、CXCL8、CXCL10、CCL2などのケモカインの関与が示唆された。これらのケモカインはMAPK(mitogen-activated protein kinase：分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ)シグナル伝達経路が主に関与すると考えられており、さらなる解析により、関与するパスウェイを明らかにすることで、未だ治療法が少ないTAKにおいて、新規治療標的につながる可能性が高いと考えられる。また免疫染色の結果よりvasa vasorumがTAKの炎症の首座となっている可能性も示唆され、病態解明につながったと考えられる。

研究成果の概要（英文）：A comprehensive genetic analysis using multiple PCR arrays showed marked increase in CXCL8 and marked decrease in CXCL10 following HDL addition, while marked decrease in CCL2 was observed following APC addition.

Aortic tissue samples from three surgically treated TAK patients and non-TAK patients were assessed by immunohistological staining, which showed inflammatory cell infiltration around the vasculature, a nutritive vessel in the aortic wall. In addition, EPCR and SR-BI expression was observed in endothelial cells on the luminal side of the damaged aortic vessels, with stronger expression in the vasa vasorum.

研究分野：Rheumatology

キーワード：高安動脈炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

TAK (Takayasu arteritis; 高安動脈炎) は大動脈とその主要分枝を傷害する大型血管炎である。血管内皮細胞表面分子に対する自己抗体である AECA (anti-endothelial cell antibodies; 抗血管内皮細胞抗体) が TAK において高率に存在し、病態形成への関与が報告されていた。TAK における細胞表面に局在する、AECA の自己抗原は未だ同定されておらず。申請者らはレトロウイルスベクターによる蛋白質発現系とフローサイトメトリーによる細胞ソーティングを用いた SARF (serological identification system for autoantigens using a retroviral vector and flow cytometry) により、世界で初めて AECA に対する膜蛋白質自己抗原である EPCR (endothelial protein C receptor; プロテイン C 受容体) と SR-BI (scavenger receptor class B type I; スカベンジャー受容体クラス B タイプ I) を同定することに成功し、TAK における AECA の主要抗原が EPCR と SR-BI であることを明らかにした。また自己抗体活性が TAK の疾患活動性と相関し、さらに自己抗体の有無により TAK 患者の臨床的特徴を層別化することが可能となった。また機能的側面として、TNF- α (tumor necrosis factor- α ; 腫瘍壊死因子- α) で刺激後活性化した血管内皮細胞を、EPCR のリガンドである APC (activated protein C; 活性化型プロテイン C) あるいは SR-BI のリガンドである HDL (high-density lipoprotein; 高密度リポ蛋白質) でさらに刺激することでその活性化が抑制されることが示された。この活性化は、接着分子 (E-selectin, VCAM-1 [vascular cell adhesion molecule], ICAM-1 [intracellular adhesion molecule 1]) の発現上昇にて評価し、フローサイトメトリーと定量リアルタイム PCR 法を用いて解析を行った。加えて抗 EPCR 活性と抗 SR-BI 活性を強く持つ TAK 患者から抽出した IgG で添加することにより、APC あるいは HDL による血管内皮細胞に対する保護的效果を解除させることが明らかとなり、B 細胞を介した血管内皮障害の可能性を示した。しかしながら、この背景にある詳細なシグナル伝達経路については未解明であり、また実際のヒトの大型血管における EPCR と SR-BI の発現局在も不明である。

2. 研究の目的

(1) EPCR のリガンドである APC あるいは SR-BI のリガンドである HDL の血管内皮細胞に対する抗炎症作用に対する、抗 EPCR 抗体と抗 SR-BI 抗体の抑制効果に関するシグナル伝達機構の解明である。

(2) ヒトの大型血管における EPCR と SR-BI の発現を評価することである

3. 研究の方法

(1) 患者血清からプロテイン A/G カラムを用いて抗 EPCR 活性あるいは抗 SR-BI 活性のある IgG を分離する。その後血管内皮細胞である HUVEC (ヒト臍帯血静脈内皮細胞) を、TNF- α 、EPCR のリガンド (APC) あるいは SR-BI のリガンド (HDL) と共培養させ、遺伝子発現の変化に関して PCR アレイを用いて網羅的に解析する。

(2) TAK 患者の大血管組織における EPCR と SR-BI の発現を蛍光免疫染色法にて検討し、その局在を解析する。

4. 研究成果

(1) 複数回の PCR アレイによる網羅的遺伝子解析の結果、HDL 添加後は CXCL8 の著明な増加と CXCL10 の著明な減少を (表 1、一方で APC 添加後は CCL2 の著明な減少を認めた (表 2)。これらケモカインである CCL2 と CXCL8、CXCL10 は各種細胞の遊走に関与する一方、CXCL8 は血管新生を誘導するとされ、MAPK (mitogen-activated protein kinase: 分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ) シグナル伝達経路が主に関与すると考えられている。これらの結果により、新規自己抗体は MAPK シグナル伝達経路に作用することで、TAK の慢性炎症を維持させる役割を発揮する可能性が示唆された。

(2) 外科的処置を受けた TAK 患者 3 名と TAK ではない患者から大動脈組織を採取し、免疫組織学的染色にて評価した所、大動脈壁の栄養血管である vasa vasorum 周囲に炎症細胞浸潤を認めた。また障害された大動脈血管腔側の内皮細胞に EPCR と SR-BI の発現を、さらに vasa vasorum においてより強い発現を認めた。

Layout	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	BCL6	C3	C3AR1	CCL11	CCL13	CCL16	CCL17	CCL19	CCL2	CCL21	CCL22	CCL23
	1.02	-1.29	-1.29	2.22	-1.29	-1.76	-1.52	-1.29	1.73	-1.29	-1.29	-3.79
B	CCL24	CCL3	CCL4	CCL5	CCL7	CCL8	CCR1	CCR2	CCR3	CCR4	CCR7	CD14
	-1.29	-1.29	-1.29	-2.79	2.67	-1.29	-1.29	-2.79	-1.29	-1.29	-1.29	-1.85
C	CD40	CD40LG	CEBPB	CRP	CSF1	CXCL1	CXCL10	CXCL2	CXCL3	CXCL5	CXCL6	CXCL9
	-1.52	-1.29	6.96	-1.29	-2.56	1.66	-63.87	1.79	-2.51	-2.75	-1.34	-2.15
D	CXCR1	CXCR2	CXCR4	FASLG	FOS	IFNG	IL10	IL10RB	IL15	IL17A	IL18	IL1A
	-1.29	-1.23	4.47	-1.29	-1.29	-1.29	-1.29	1.27	-1.63	-1.29	-1.08	6.57
E	IL1B	IL1R1	IL1RAP	IL1RN	IL22	IL23A	IL23R	IL5	IL6	IL6R	CXCL8	IL9
	-1.29	-2.15	-1.07	-1.29	3.13	-1.29	-1.29	-1.29	-1.03	1.16	14.76	-1.29
F	ITGB2	KNK1	LTA	LTB	LY96	MYD88	NFKB1	NOS2	NR3C1	PTGS2	RIPK2	SELE
	-1.29	-1.29	-1.39	-2.64	1.29	-2.48	1.30	-1.29	1.19	2.52	-1.07	-2.35
G	TIRAP	TLR1	TLR2	TLR3	TLR4	TLR5	TLR6	TLR7	TLR9	TNF	TNFSF14	TOLLIP
	1.19	-1.29	-1.29	-2.15	-1.73	-1.29	-1.38	-1.29	-1.29	-1.29	-1.29	1.53

表 1 TNF- と HDL 刺激による HUVEC における遺伝子変化

Layout	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	ACE	ADAM17	AGT	AGTR1	ALOX5	ANGPT1	ANXA5	APOE	BAX	BCL2	BCL2L1	CALCA
	-2.89	-2.23	1.07	1.07	1.07	1.07	-1.61	1.07	-3.33	1.07	-2.63	1.07
B	CASP1	CASP3	CAV1	CCL2	CCL5	CDH5	CFLAR	COL18A1	CX3CL1	EDN1	EDN2	EDNRA
	-3.37	-2.04	-3.52	-5.37	1.28	-2.75	-2.61	-1.87	-2.94	-2.70	1.07	-1.50
C	ENG	F2R	F3	FAS	FASLG	FGF1	FGF2	FLT1	FN1	HIF1A	HMOX1	ICAM1
	-1.02	-1.66	1.34	-2.72	-1.59	1.07	-2.89	1.01	-2.14	-2.29	-1.43	-2.46
D	IL11	IL1B	IL3	IL6	IL7	ITGA5	ITGAV	ITGB1	ITGB3	KDR	KIT	KLK3
	1.07	1.07	1.25	-2.30	1.07	-1.27	-1.25	-1.33	-1.76	-1.77	-1.62	1.07
E	MMP1	MMP2	MMP9	NOS3	NPPB	NPR1	OCLN	PDGFRA	PECAM1	PF4	PGF	PLAT
	-1.38	-1.72	1.07	-2.05	1.07	-1.18	-1.25	-2.54	-1.99	1.07	-1.04	1.07
F	PLAU	PLG	PROCR	PTGIS	PTGS2	PTK2	SELE	SELL	SELPLG	SERPINE1	SOD1	SPHK1
	-1.49	1.07	-1.42	-2.80	-1.01	-1.94	-2.10	-3.21	1.07	-1.29	1.02	1.03
G	TEK	TFPI	TGFB1	THBD	THBS1	TIMP1	TNF	TNFSF10	TYMP	VCAM1	VEGFA	VWF
	-1.60	-3.52	-1.08	-1.03	-1.74	-1.45	1.07	-2.79	1.07	-2.33	-1.08	-1.36

表 2 TNF- と APC 刺激による HUVEC における遺伝子変化

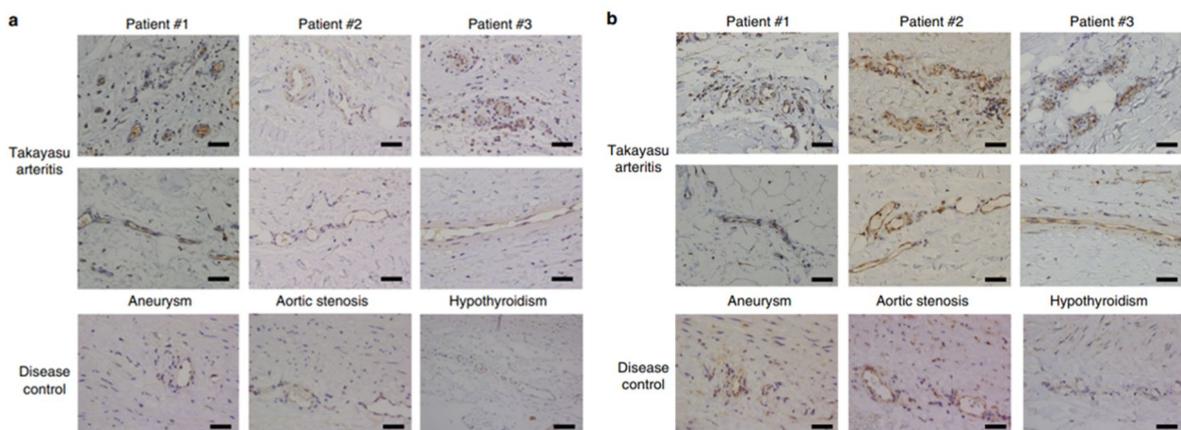


図 1 大血管組織における EPCR(a) と SR-BI (b) の免疫組織学的染色(上 2 段 TAK、最下段非 TAK)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 7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 Mutoh Tomoyuki, Kudo Masataka, Tsukada Akira	4. 巻 43
2. 論文標題 Ixekezumab for brodalumab-induced articular involvement in psoriatic arthritis: beyond IL-17A inhibition	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Rheumatology International	6. 最初と最後の頁 1559 ~ 1561
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00296-023-05329-y	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 Mutoh Tomoyuki, Chikamatsu Sonoko, Sasaki Takatsuna, Seino Hiroto, Sakamoto Kazuhiro, Kudo Masataka	4. 巻 6
2. 論文標題 Relapsing Polychondritis following PD-1 Blockade by an Immune Checkpoint Inhibitor	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 JMA Journal	6. 最初と最後の頁 552 ~ 555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.31662/jmaj.2023-0071	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 Mutoh Tomoyuki, Narita Mamoru, Nagai Taichi, Furudate Sadanori, Taniuchi Shinji, Kudo Masataka, Fujii Hiroshi	4. 巻 76
2. 論文標題 Clinical Images: Multiple punched out ulcerations on the abdomen in anti-melanoma differentiation-associated gene 5 dermatomyositis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Arthritis & Rheumatology	6. 最初と最後の頁 150 ~ 151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.42521	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 Mutoh Tomoyuki, Sasaki Ryoto, Sakamoto Kazuhiro, Kudo Masataka	4. 巻 -
2. 論文標題 Clinical Images: Hairy kidney in IgG4 related disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Arthritis & Rheumatology	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) 10.1002/art.42761	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 Mutoh Tomoyuki, Shrai Tsuyoshi, Fujii Hiroshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Comment on: Association of anti-HSC70 autoantibodies with cutaneous ulceration and severe disease in juvenile dermatomyositis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Rheumatology	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) 10.1093/rheumatology/keac589	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 Mutoh Tomoyuki, Takahashi Mikihiro, Nagai Taichi, Kudo Masataka	4. 巻 50
2. 論文標題 Does the BNT162b2 Vaccine Trigger Antimelanoma Differentiation-Associated Gene 5 Antibody-Positive Interstitial Lung Disease?	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Rheumatology	6. 最初と最後の頁 293 ~ 294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3899/jrheum.220730	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 Watanabe Ryu, Oshima Megumi, Nishioka Norihiro, Sada Ken-Ei, Nagasaka Kenji, Akiyama Mitsuhiro, Ando Taiki, Higuchi Tomoaki, Inoue Yoshino, Kida Takashi, Mutoh Tomoyuki, Nakabayashi Akihiko, Onishi Akira, Sakai Ryota, Waki Daisuke, Yamada Yosuke, Yajima Nobuyuki, Tamura Naoto, Kaname Shinya, Harigai Masayoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Systematic review and meta-analysis for 2023 clinical practice guidelines of the Japan Research Committee of the Ministry of Health, Labour, and Welfare for Intractable Vasculitis for the management of ANCA-associated vasculitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	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) 10.1093/mr/roac114	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 Mutoh Tomoyuki, Ohashi Keiichi, Nagai Taichi, Sugiura Akira, Kudo Masataka, Fujii Hiroshi	4. 巻 43
2. 論文標題 Upfront rituximab therapy for thrombotic thrombocytopenic purpura in systemic lupus erythematosus: a case-based review	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Rheumatology International	6. 最初と最後の頁 373 ~ 381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00296-022-05182-5	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 Takahashi Mikihiro, Mutoh Tomoyuki, Ohtsu Susumu, Tsukada Akira	4. 巻 135
2. 論文標題 Blistering Distal Dactylitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The American Journal of Medicine	6. 最初と最後の頁 e418 ~ e419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amjmed.2022.05.026	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 Mutoh Tomoyuki, Nagai Taichi, Shirai Tsuyoshi, Okazaki Soshi, Sato Hiroko, Fujii Hiroshi	4. 巻 25
2. 論文標題 Predictive factors for retention of golimumab over a median 4 year duration in Japanese patients with rheumatoid arthritis in a real world setting: A retrospective study and literature review	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 335 ~ 343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1756-185X.14281	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 Mutoh Tomoyuki, Shirai Tsuyoshi, Sato Hiroko, Fujii Hiroshi, Ishii Tomonori, Harigae Hideo	4. 巻 -
2. 論文標題 Multi-targeted therapy for refractory eosinophilic granulomatosis with polyangiitis characterized by intracerebral hemorrhage and cardiomyopathy: a case-based review	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Rheumatology International	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) 10.1007/s00296-021-04950-z	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 Mutoh Tomoyuki, Shiota Yuko, Ito Azusa, Fujii Hiroshi, Ishii Tomonori, Nakazawa Toru, Harigae Hideo	4. 巻 Sep
2. 論文標題 One after another retinal involvement in lupus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Rheumatology	6. 最初と最後の頁 3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5152/eurjrheum.2020.20022	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 Tsuyoshi Shirai, Tomoyuki Mutoh, Hiroshi Fujii, Tomonori Ishii, Hideo Harigae
2. 発表標題 Endothelial protein C receptor and scavenger receptor class B type 1 negatively regulate endothelial activation and represent novel autoantigens in Takayasu arteritis
3. 学会等名 EULAR2020（国際学会）
4. 発表年 2020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
---------	---------