

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08274

研究課題名（和文）ループス腎炎における補体副経路の役割解明と治療への応用

研究課題名（英文）Role of complement alternative pathway in lupus nephritis and its therapeutic application

研究代表者

金 恒秀（Kim, Hangsoo）

名古屋大学・医学系研究科・特任講師

研究者番号：40745238

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）：補体は全身性エリテマトーデス(SLE)・ループス腎炎の病態に深く関わっており、新たな治療標的になると期待されている。本研究では補体副経路活性化因子のB因子を長期阻害する薬剤や、制御因子であるH因子の機能喪失型遺伝子改変マウスを用いて、自然発症および薬剤性ループス腎炎マウスモデルにおいて、各因子がSLE/ループス腎炎の病態への関わりについて検討した。現在までの結果ではB因子阻害およびH因子の機能喪失によりSLE/ループス腎炎が悪化するという傾向の結果を認めている。これらの結果からは、SLE/ループス腎炎における補体副経路への介入は、標的とする補体因子と治療時期が重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ループス腎炎に対して様々な治療薬が用いられているが、腎不全を回避出来ない患者を認める。自然免疫の一部である補体系は全身性エリテマトーデス(SLE)との関連が以前から報告され、今日の抗補体薬の開発により、新たな治療標的として注目されている。

抗補体薬をSLE/ループス腎炎に対して使用する際に問題となるのは、標的とする補体系のタンパクによっては病態を悪化させる可能性があるということである。本研究では補体の副経路に焦点をあて、その活性系の抑制は病態を悪化させ、一方で制御系の増強によって病態を改善させる方向に働くことを示唆する結果がマウスモデルで得られる可能性があり、臨床的に意義がある。

研究成果の概要（英文）：Complement system is deeply involved in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE) and lupus nephritis, that is expected to become a new therapeutic target.

In this study, we investigated how each factor is involved in the pathogenesis of SLE/ lupus nephritis in spontaneous and drug-induced lupus nephritis mouse models using drugs that are long-term inhibitors of factor B, an activator of the complement alternative pathway, and loss-of-function genetically engineered mice for factor H, a regulator of the same pathway. The results to date have shown that the inhibition of factor B and the inhibition of factor B are related to the pathogenesis of lupus nephritis. Results to date show a trend toward worsening of SLE/ lupus nephritis with factor B inhibition and loss of factor H function. These results suggest that targeted complement factors and timing of treatment are important for intervention of the complement alternative pathway in SLE/ lupus nephritis.

研究分野：補体 腎炎 腹膜透析

キーワード：ループス腎炎 補体副経路 補体制御因子

1. 研究開始当初の背景

ループス腎炎に対して、これまで多くの治療薬が開発されてきたが、未だ腎不全を回避出来ない患者が多数いる。補体系とループス腎炎の関連は以前から報告され、昨今の抗補体薬の登場もあり、新たな治療標的として注目されている(図1)。

既報では、補体副経路の活性因子である B 因子欠損マウスでループス腎炎が軽減したことや、副経路の制御因子である H 因子の減少・遺伝子異常が SLE の患者で報告されており、ループス腎炎において補体副経路は活性系にバランスが傾いていることが示唆される(図2)。申請者は、補体副経路活性の異常亢進により惹起される非典型溶血性尿毒症症候群のマウスモデルを用いてその病態解明・治療法開発に携わり、副経路活性系を抑制あるいは制御系を増強することで腎障害の改善が得られることを明らかにした。ループス腎炎において副経路への同様の介入がその病態を改善させるのかどうかは未だ明らかでない。

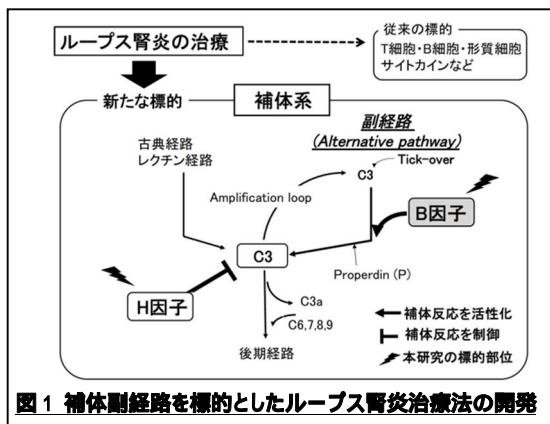


図1 補体副経路を標的としたループス腎炎治療法の開発

補体副経路のバランス

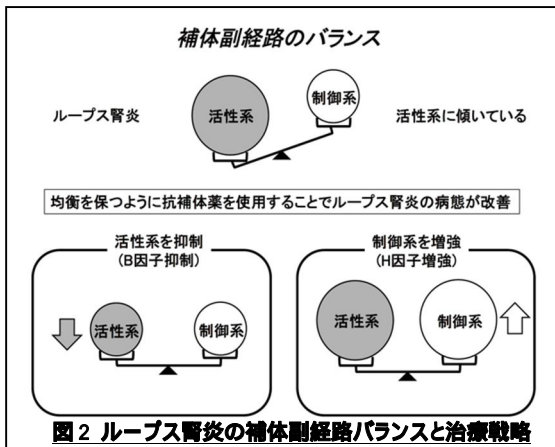


図2 ループス腎炎の補体副経路バランスと治療戦略

2. 研究の目的

これまでの報告から、ループス腎炎において補体副経路は B 因子などの活性系と H 因子などの制御系のバランスが崩れ、活性化に傾いている状態であると考えられた。本研究の目的は、このバランスを戻すことによって病態が改善するという仮説(図2)に沿って、以下の2つの実験を行うことである。つまり、ループス腎炎モデルマウスに対して、

補体副経路の活性系(B因子)を抑制し、腎障害が改善するか確認(実験1)。

補体副経路制御因子(H因子)過剰発現させることで腎障害が改善するか確認(実験2)。

3. 研究の方法

ループス腎炎マウスモデル(MRL/lpr マウス)を用いて、補体副経路活性系(B因子)を抑制した群とコントロール群の腎障害を比較する。B因子の抑制には、以前に開発したアデノ随伴ウイルス(Adeno-associated virus: AAV)をベクターとした長期に補体副経路活性を強力に抑制することの出来

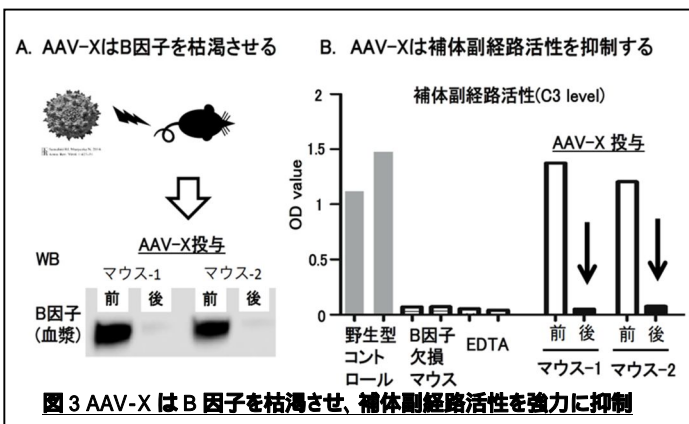


図3 AAV-X は B 因子を枯渇させ、補体副経路活性を強力に抑制

る遺伝子治療薬(AAV-X, 図 3)を用いた。この薬剤により、B 因子阻害による影響を長期に観察することが可能となる。

AAV-X およびコントロール AAV を MRL/lpr 投与後の両群の生存率・尿所見・自己抗体価・腎臓を含む各種臓器障害について検討をおこなった。

補体副経路制御因子(H 因子)のループス腎炎での役割を H 因子機能喪失型遺伝子変異マウス

に薬剤性ループスを惹起させて遺伝子型による相違を検討する(実験 2-a)。最後に、改良型 H 因子(図 4)をループス腎炎モデルマウスに過剰発現させ、コントロール群と腎障害の程度を比較検討する(実験 2-b)。

4. 研究成果

AAV-X によって B 因子を抑制した群において生存率が悪化し、尿所見においても蛋白尿が、副経路抑制群において増加した(図 5)。これらの結果より B 因子の枯渇による副経路活性の抑制は SLE/ループス腎炎の病態を悪化させる可能性が示唆された。

しかし、B 因子の遺伝子欠損マウス($B^{-/-}$)と自然発症 SLE モデルマウス(MRL/lpr)を交配させた既報では、MRL/lpr $B^{-/-}$ が MRL/lpr $B^{+/+}$ と比較して、dsDNA 抗体価や腎炎による腎障害の程度が軽く、B 因子の欠損は SLE の病態に保護的に働いている。また、低分子化合物や ASO によって B 因子を後天的に阻害した研究においても同様に B 因子を阻害した群において、腎障害が軽いと報告されており、本研究の結果は既報とは逆の結果となっている。本研究とこれら既報との実験プロトコルの違いに着目し、B 因子阻害薬を使用すべき SLE/ループス腎炎の時期を今後の更なる研究により明らかにしていきたい。

H 因子の SCR20 に点変異を持つ機能喪失型遺伝子改変マウス(図 6)のヘテロ($FH^{W/R}$)および野生型($FH^{W/W}$)に対して、イミキモドおよびプリスタンによる薬剤性ループスを誘導し、両者の比較を行った。

イミキモドをマウスの耳介に 8 週間塗り、尿所見・腎組織・ds-DNA 抗体価などを確認したところ、 $FH^{W/R}$ の方が、 $FH^{W/W}$ よりも蛋白尿が多く抗体価が高い傾向を認めた。また、腎組織の評価では、C3 や IgG の沈着が $FH^{W/R}$ において高度であった(図 7)。

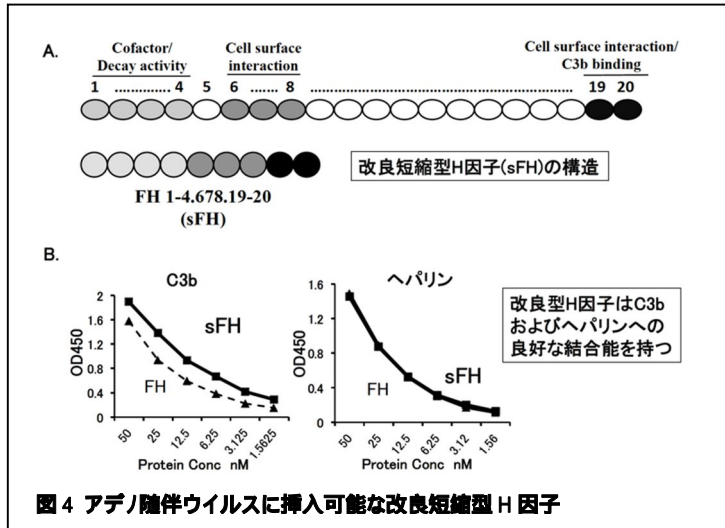


図 4 アデノ随伴ウイルスに挿入可能な改良短縮型 H 因子

図 5 補体副経路活性を抑制すると、ループス腎炎は悪化

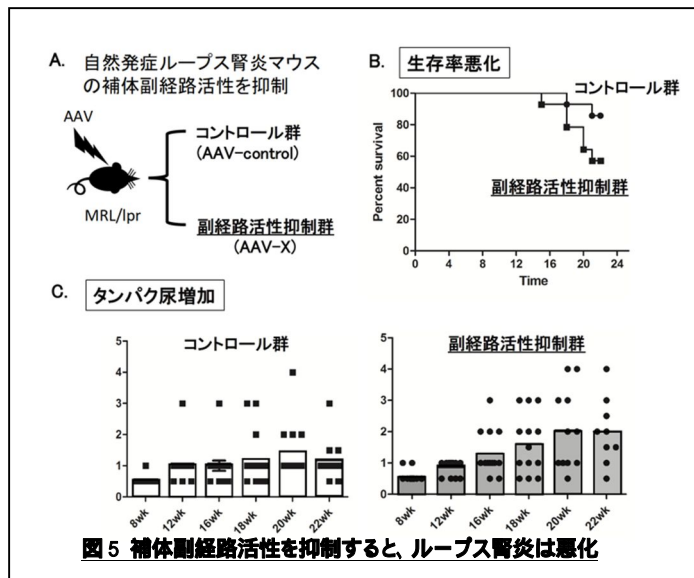


図 5 補体副経路活性を抑制すると、ループス腎炎は悪化

プリスタンによる薬剤性ループスモデルにおいても $FH^{W/R}$ と $FH^{W/W}$ の比較を同様に行っているが、投与後6ヶ月経過時点においても蛋白尿の程度が軽微であり、観察期間を延長している。C57BL/6J を背景にしたマウスで実験を行っているため、腎炎を発症するにはあと数ヶ月継続して観察を要すると考えている。

なお、実験 2-b については COVID-19 パンデミックの影響のもと研究が当初より遅れており、実施はまだ出来ないが今後行う予定である。

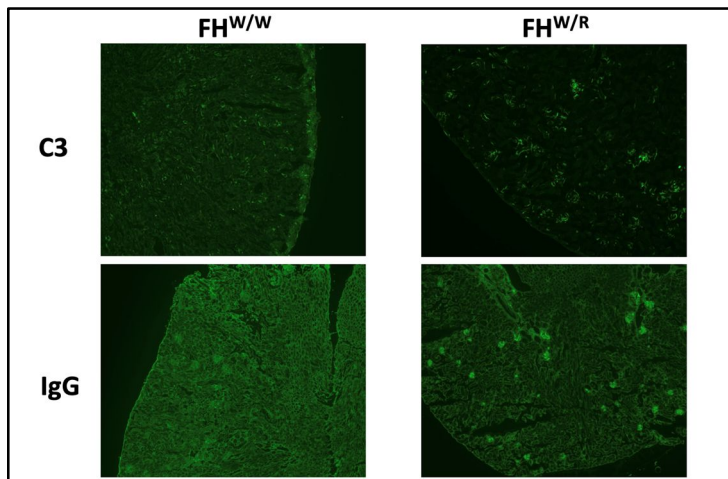
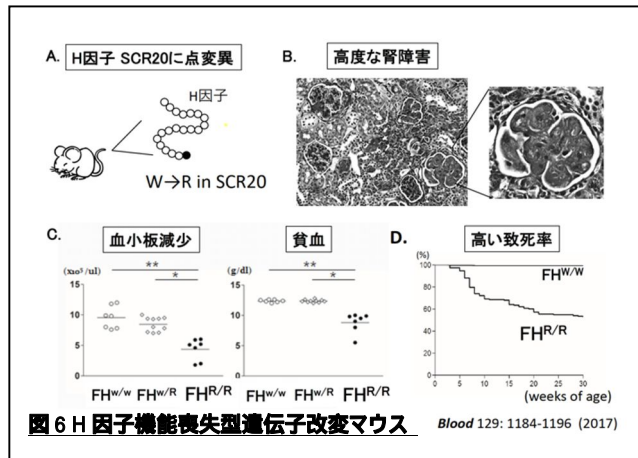


図7 イミキモド誘導薬剤性ループスの腎病理所見

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Kamegai Naoki, Kim Hangsoo, Suzuki Yasuhiro, Fukui Sosuke, Kojima Hiroshi, Maruyama Shoichi, Morgan B Paul, Zelek Wioleta Milena, Mizuno Masashi	4. 巻 214
2. 論文標題 Complement terminal pathway inhibition reduces peritoneal injuries in a rat peritonitis model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Immunology	6. 最初と最後の頁 209-218
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/cei/uxad088	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 Fukui Sosuke, Mizuno Masashi, Tawada Mitsuhiro, Suzuki Yasuhiro, Kojima Hiroshi, Matsukawa Yoshihisa, Imai Masaki, Kim Hangsoo, Kinashi Hiroshi, Mizutani Makoto, Minoshima Kenichi, Maruyama Shoichi, Ito Yasuhiko	4. 巻 24
2. 論文標題 Peritoneal Expression of Membrane Complement Regulators Is Decreased in Peritoneal Dialysis Patients with Infected Peritonitis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9146-9146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms24119146	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 Yamane Ryoko, Yasuda Yoshinari, Oshima Aki, Suzuki Yasuhiro, Kojima Hiroshi, Kim Hangsoo, Fukui Sosuke, Maruyama Shoichi, Ito Yasuhiko, Mizuno Masashi	4. 巻 24
2. 論文標題 Serum and plasma levels of Ba, but not those of soluble C5b-9, might be affected by renal function in chronic kidney disease patients	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BMC Nephrology	6. 最初と最後の頁 26-35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12882-022-03022-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 Kobayashi Kazuma, Ozeki Toshikazu, Kim Hangsoo, Imai Masaki, Kojima Hiroshi, Iguchi Daiki, Fukui Sosuke, Suzuki Masafumi, Suzuki Yasuhiro, Maruyama Shoichi, Ito Yasuhiko, Mizuno Masashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Long-term peritoneal dialysate exposure modulates expression of membrane complement regulators in human peritoneal mesothelial cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Medicine	6. 最初と最後の頁 972592-972601
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmed.2022.972592	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 Ozeki Toshikazu, Mizuno Masashi, Iguchi Daiki, Kojima Hiroshi, Kim Hangsoo, Suzuki Yasuhiro, Kinashi Hiroshi, Ishimoto Takuji, Maruyama Shoichi, Ito Yasuhiko	4. 巻 320
2. 論文標題 C1 inhibitor mitigates peritoneal injury in zymosan-induced peritonitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Renal Physiology	6. 最初と最後の頁 F1123-F1132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajprenal.00600.2020	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Hangsoo Kim, Damodara Gullipalli, Takashi Miwa, Sayaka Sato, Madhu Golla, Matthew Palmer, Wen-Chao Song
2. 発表標題 Partial rescue of complement induced organ injuries in a factor H mutant mouse by MASP3 deficiency
3. 学会等名 ASN Kidney week 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hangsoo Kim, Damodar Gullipalli, Takashi Miwa, Sayaka Sato, Madhu Golla, Matthew Palmer, Wen-Chao Song
2. 発表標題 MASP3 deficiency ameliorates but does not completely prevent alternative pathway complement-mediated tissue injury in a factor H mutant mouse model
3. 学会等名 29th International Complement Workshop (国際学会)
4. 発表年 2023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
研究分担者	水野 正司 (Mizuno Masashi) (20303638)	名古屋大学・医学系研究科・特任教授 (13901)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	鈴木 康弘 (Suzuki Yasuhiro) (20584676)	名古屋大学・医学系研究科・特任講師 (13901)	
研究分担者	石本 卓嗣 (Ishimoto Takuji) (00534835)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	
研究分担者	福井 聡介 (Fukui Sosuke) (90896060)	名古屋大学・医学系研究科・特任助教 (13901)	

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