

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08295

研究課題名（和文）好中球異常を伴う自己炎症性疾患の病態解明と治療法開発

研究課題名（英文）Pathogenesis Elucidation and Therapeutic Development for Autoinflammatory Diseases Accompanied by Neutrophil Abnormalities

研究代表者

尾崎 富美子（OZAKI, FUMIKO）

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号：60795277

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）：PAMI（PSTPIP1-associated myeloid-related proteinemia inflammatory）症候群は、好中球浸潤を伴う進行性関節炎、細胞減少症、血清S100A8/A9および亜鉛の高値を特徴とする単発性の重症自己炎症性疾患である。好中球と単球/マクロファージがこの疾患の進行に主要な役割を果たしている。iPS細胞を用いた疾患モデルは、PAMI症候群の分子および細胞病態を解明し、その重篤な炎症におけるS100A8/A9の重要な役割を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、PAMI症候群特異的疾患 iPS細胞モデルにより、好中球や単球・マクロファージにおける異常の分子基盤を同定した。さらに重要なことに、PAMI症候群で表現型の異常を呈する好中球や単球・マクロファージのS100A8/9の遺伝子破壊が、分子的・細胞的異常のほとんどを逆転させたことから、当該疾患においてS100A8/9が病因の中心にあることを明らかにした。本研究の成果により、iPS由来の好中球および単球/マクロファージが、貪食機能障害を伴う疾患の病態を精査し、治療法を開発するための重要なツールであることを示した。

研究成果の概要（英文）：PAMI (PSTPIP1-associated myeloid-related proteinemia inflammatory) syndrome is a severe autoinflammatory disease characterized by progressive arthritis with neutrophil infiltration, cytopenia, and elevated serum levels of S100A8/A9 and zinc. Neutrophils and monocytes/macrophages play a major role in the progression of this disease. Using iPS-based disease models has elucidated the molecular and cellular pathogenesis of PAMI syndrome and revealed the critical role of S100A8/A9 in its severe inflammation.

研究分野：免疫

キーワード：PAPA症候群 自己炎症性疾患 PSTPIP1 iPS細胞

1. 研究開始当初の背景

PAPA 症候群は、乳児期に発症する好中球浸潤を主とする化膿性無菌性関節炎と壊疽性膿皮症、嚢胞性ざ瘡を主症状とする、早世な疾患である。PAPA 症候群の原因遺伝子である PSTPIP1 は、インフラマソームの構成因子である pyrin を介して炎症性サイトカインの調節に関与するだけでなく、細胞骨格や細胞の遊走、T 細胞の活性化に関与するなどその機能は多岐にわたる大変興味深い分子である (Curr Genomics., 2010, 519-527.)。PSTPIP1 変異を伴う類似の症状を呈する疾患として、海外においても PASH 症候群や PsPASH 症候群、PAPASH 症候群などが知られており、これらの疾患群は、IL-1 の産生異常と好中球の反応異常を伴う PSTPIP1 と疾患を結びつける疾患群 (PAPA 関連症候群、あるいは PSTPIP1 関連自己炎症性疾患 (PAIDs)) に分類され (J Clin Immunol., 2019, 832-835)、好中球性化膿性皮膚疾患における多様な自己炎症の存在が考えられている。本疾患群は、PSTPIP1 機能不全を伴う好中球の機能異常が病態の中心であると考えられているが、PSTPIP1 の変異による機能異常や好中球の異常がどのように化膿性無菌性関節炎や難治性の皮膚症状に関与するかは、未だ不明である。現在、これら PAIDs を対象として盛んに病態解析が進められており、PAPA 症候群に対しても抗 IL-1 抗体療法が導入されたが、炎症抑制がみられる症例がある一方、部分的な改善にとどまる症例や治療不応例もあり (Curr Opin Rheumatol. 2016, 550-9.)、本疾患に対する標準的な治療法は無い。より有効性の高い治療法を開発する為には、PAPA 症候群や PAIDs の疾患モデルを構築するなどして明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

自己炎症性疾患の一つである PAPA (Pyogenic Arthritis, Pyoderma gangrenosum and Acne) 症候群は、PSTPIP1 遺伝子の機能獲得型変異が、無菌性に進行性の化膿性関節炎及び、難治性の皮膚症状を引き起こす疾患である。本疾患は、好中球の機能亢進が病態に関与していると推測されている。しかし、PSTPIP1 変異がどのような分子メカニズムで好中球の機能異常を来すのか、また PSTPIP1 変異による好中球異常と病態形成の機序についての本質的な原因は不明な点が多く、本疾患に対する効果的な治療法は未だ確立されていない。本研究では、PAPA 症候群疾患特異的 iPS 細胞を用いて PSTPIP1 の変異が本疾患の病態に及ぼすメカニズムを明らかにするとともに、PAPA 症候群をはじめ PSTPIP1 関連自己炎症性疾患や好中球性化膿性皮膚疾患の治療法の開発と、基礎医学と難病の治療に貢献することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術により遺伝子変異導入を実施し、PSTPIP1 の変異部位の異なる PSTPIP1-E250K (PAMI に関連する変異)、-E250Q (PSTPIP1 関連疾患の重症度が低い型に関連する変異)、および-WT を保有する iPS 細胞 (iPSC) から分化させた好中球を用いた。好中球の機能的、細胞的、分子的性質を適切に評価できるように、分化法を最適化した。この研究では、iPS 細胞由来の単球 / マクロファージも使用した。

PSTPIP1 遺伝子変異による好中球機能異常を引き起こす詳細な分子メカニズムと、PAPA 症候群や PAIDs における PSTPIP1 変異好中球の病態形成への関与について、免疫学的手法

に加え、トランスクリプトーム解析、プロテオーム解析による比較検討も併用し、PSTPIP1 変異部位の違いと好中球の表現型の違いについてもより深く検証を行う。

4. 研究成果

本研究では、PAMI 症候群特異的疾患 iPSC 細胞モデルにより、好中球における活性酸素種の産生増加、細胞自然死の増加、S100A8/A9 産生増加や、炎症性サイトカイン産生増加を伴う表現型異常の単球/マクロファージが認められた。また、RNAseq/qRT-PCR によってこれらの異常の分子基盤を同定した。さらに重要なことに、PAMI 症候群で表現型の異常を呈する好中球や単球・マクロファージの S100A8/9 の遺伝子破壊が、分子的・細胞的異常のほとんどを逆転させたことから、当該疾患において S100A8/9 が病因の中心にあることを示した。

本研究の成果により、iPSC 由来の好中球および単球 / マクロファージが、貪食機能障害を伴う疾患の病態を精査し、治療法を開発するための重要なツールであることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Sonn Iki, Honda-Ozaki Fumiko, Yoshimatsu Sho, Morimoto Satoru, Watanabe Hirotaka, Okano Hideyuki | 4. 巻 42 |
| 2. 論文標題 Single transcription factor efficiently leads human induced pluripotent stem cells to functional microglia | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration | 6. 最初と最後の頁 1 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41232-022-00201-1 | 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 Kase Naoya, Terashima Madoka, Ohta Akira, Niwa Akira, Honda-Ozaki Fumiko, Kawasaki Yuri, Nakahata Tatsutoshi, Kanazawa Nobuo, Saito Megumu K. | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Pluripotent stem cell-based screening identifies CUDC-907 as an effective compound for restoring the in vitro phenotype of Nakajo-Nishimura syndrome | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Stem Cells Translational Medicine | 6. 最初と最後の頁 455 ~ 464 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/sctm.20-0198 | 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 Sugie Manabu, Nawa Nobutoshi, Noguchi Yusuke, Taki Atsuko, Kashimada Ayako, Honda Izumi, Koyama Akira, Okazaki Kaoru, Kondo Masatoshi, Miyahara Hiroyuki, Ito Kazuyuki, Yamauchi Takeru, Kondo Tsutomu, Honda-Ozaki Fumiko, Kusuda Satoshi, Morioka Chikako, Fujiwara Takeo, Morio Tomohiro, Kashimada Kenichi | 4. 巻 272 |
| 2. 論文標題 Stage III Chorioamnionitis is Associated with Reduced Risk of Severe Retinopathy of Prematurity | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Pediatrics | 6. 最初と最後の頁 114085 ~ 114085 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jpeds.2024.114085 | 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 Miyamoto Takayuki, Izawa Kazushi, Masui Sho, et al. | 4. 巻 76 |
| 2. 論文標題 Clinical Characteristics of <sc>Cryopyrin Associated</sc> Periodic Syndrome and <sc>Long Term Real World</sc> Efficacy and Tolerability of Canakinumab in Japan: Results of a Nationwide Survey | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Arthritis & Rheumatology | 6. 最初と最後の頁 949 ~ 962 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/art.42808 | 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 2件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Fumiko Honda-Ozaki, Eri Matsumoto, Tomohiro Morio |
| 2. 発表標題 Pathophysiological analysis and therapeutic exploration using PSTPIP1-associated myeloid-related proteinemia inflammation (PAMI) syndrome disease-specific induced pluripotent stem cell model |
| 3. 学会等名 The 20th Biennial Meeting of (European Society for Immunodeficiencies) ESID 2022 (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 尾崎 富美子、清水 正樹、森尾 友宏 |
| 2. 発表標題 疾患特異的iPS細胞を用いたPAMI症候群の病態モデルを用いたカルプロテクチン抑制療法の検討 |
| 3. 学会等名 第6回日本免疫不全・自己炎症学会学術集会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 谷田けい、大橋若奈、杉田ひなた、岡野翼、尾崎富美子、能勢哲、堀口泰典、加藤善一郎、大西秀典、今井耕輔、森尾友宏、長谷耕二、金兼弘和。 |
| 2. 発表標題 本邦で発見したB細胞欠損女児における新奇SLC39A7遺伝子変異とZIP7機能異常 |
| 3. 学会等名 第5回日本免疫不全・自己炎症学会・学術総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 谷田けい、大橋若菜、杉山ひなた、岡野翼、尾崎富美子、能勢哲、堀口泰典、加藤善一郎、大西秀典、今井耕輔、森尾友宏、長谷耕二、金兼弘和 |
| 2. 発表標題 ZIP7異常によるB細胞欠損女児 |
| 3. 学会等名 第49回日本臨床免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 K. Tanita, H. Sugiyama, F. HONDA-OZAKI, T. Okano, T. Nose, Y. Horiguchi, Z. Kato, H. Ohnishi, W. Ohashi, K. Imai, T. Morio, K. Hase, H. Kanegane |
| 2. 発表標題 A NOVEL SLC39A7 VARIANT AND ZIP7 DISORDER IN A B-CELL DEFICIENT JAPANESE GIRL |
| 3. 学会等名 The 20th Biennial Meeting of (European Society for Immunodeficiencies) ESID 2022 (国際学会) |
| 4. 発表年 2022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 |
|---------|---------|
| | |