

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08455

研究課題名（和文）免疫老化現象の回復によるANCA関連血管炎寛解への挑戦

研究課題名（英文）The remission strategy of ANCA-associated vasculitis through the recovery from immune aging

研究代表者

下島 恭弘 (Shimajima, Yasuhiro)

信州大学・学術研究院医学系・准教授

研究者番号：50436896

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）：ANCA関連血管炎（AAV）において、サーチュイン遺伝子（Sirt1）の賦活化によるBAFFやAPRILの制御を目的とした。BAFFおよびAPRIL産生細胞のSirt1形質移入でBAFFおよびAPRILの制御効果は得られなかった。レスベラトロールの抗酸化作用実験では、産生細胞内に発現するBAFFおよびAPRILの発現は有意に亢進した。細胞内のSOCS3の発現は低下を示し、BAFFおよびAPRILの発現と逆相関していた。リン酸化STAT1およびSTAT3は亢進していた。以上より、AAVにおけるBAFFとAPRILの産生亢進は、SOCS3-STAT1/STAT3シグナルが関与することが考慮された。

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ではBAFFに対する中和抗体薬（ベリムマブ）が保険収載されているが、AAVではベリムマブの臨床効果が期待できない検証結果が報告された。申請者は、APRILもAAV患者の自己反応性B細胞の発現に寄与して病態に深く関わることを解明し、BAFFとAPRILをともに制御することがAAVの寛解維持に重要であることを報告した。膠原病患者のBAFF/APRIL産生細胞に着目した研究は類がなく、BAFFとAPRILの双方を産生細胞レベルで制御すればAAVの病態に即した疾患修飾療法になると確信する。

研究成果の概要（英文）：The purpose of our study was to clarify the efficacy of Sirt1 activation for regulating B-cell activation factor of the TNF family (BAFF) and a proliferation-inducing ligand (APRIL) in ANCA-associated vasculitis (AAV). However, no significant suppression of intracellular BAFF and APRIL expression in CD14+ cells was observed by the induction of Sirt1 and redox reaction of resveratrol (RVL). Meanwhile, increased intracellular expression of BAFF and APRIL, which was significantly correlated with the reduction of SOCS3, was demonstrated after the treatment with RVL. Moreover, phosphorylated STAT1 and STAT3 were simultaneously promoted in RVL-treated CD14+ cells. Our study suggests that SOCS3-STAT1/STAT3 signal is implicated in overproduction of BAFF and APRIL in AAV.

研究分野：膠原病

キーワード：ANCA関連血管炎 BAFF APRIL

1. 研究開始当初の背景

抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎 (AAV) は、生命予後にも影響する難治性の全身性血管炎である。治療戦略は進歩しているが、既存の免疫抑制療法を継続しても再発・再燃することが多く、根治療法につながる治療標的の解明が求められることから本研究を計画した。

申請者は、免疫システムの老化現象と制御性T細胞 (Treg) を中心に全身性血管炎の病態を研究してきた。更に、BAFF (B-cell activation factor of the TNF family) と APRIL (a proliferation-inducing ligand) は AAV の重要臓器障害に関与する病態因子であることを報告した。B細胞の維持・活性化に働く BAFF と APRIL は、ANCA 産生に寄与する。一方で、難治性 AAV 患者にリツキシマブを投与し臨床的寛解が得られても血清中の BAFF は増加することを発見、予備実験から BAFF/APRIL 産生細胞の制御には不十分であることを示した。すなわち、BAFF/APRIL の過剰産生が残存し、再び自己反応性B細胞が活性化されて、再発・再燃を引き起こすと考えた。血管炎患者の Treg も、臨床的寛解後に制御機能は回復しない。原因として、患者の Treg では長寿遺伝子 (サーチュイン遺伝子 [Sirt1]) の活性が低下して免疫老化現象が進むことを明らかにした。この経験を生かして先行研究を行い、AAV 患者の BAFF/APRIL 産生細胞でも Sirt1 の活性が低下していることを発見した。免疫の老化現象は慢性炎症に傾くことを意味するが、Sirt1 は抗酸化ストレス作用とともに免疫系細胞内で転写因子の制御によるシグナルの安定化に働き、免疫老化を抑制する。以上より、Sirt1 の活性低下が BAFF や APRIL の過剰産生に寄与して AAV の再発・再燃の原因になると想定された。

2. 研究の目的

AAV 患者を対象として、BAFF および APRIL の産生にかかわる免疫担当細胞の長寿遺伝子を賦活化して、BAFF および APRIL の過剰産生が制御できることの証明を目指した。「免疫老化現象の回復」による検証実験を通じて、完全寛解を目指した免疫調整療法としての臨床応用に結びつけることを目的とした。

3. 研究の方法

AAV 患者 45 名、患者群と同齢の健常者 (HC) 30 名を対象として、以下の研究を行った。

Sirt1 の遺伝子形質移入や活性化因子を用いた Sirt1 の賦活化で、標的細胞 (CD14 陽性細胞) から産生される BAFF、APRIL および他の AAV 関連病態因子 (活性酸素 (ROS) や炎症性サイトカイン) が制御できるか検証した。

BAFF、APRIL および他の病態因子と Sirt1 との相関性を検証した。

当初予定した には成果が見いだせないことから、レスベラトロール (RVL) を用いた CD14 陽性細胞の刺激実験を追加し、BAFF および APRIL 産生促進に作用する因子の検索を行った。

4. 研究成果

研究の方法 に掲げた実験に関して、Sirt1 遺伝子形質移入実験では、CD14 陽性細胞内に発現する BAFF や APRIL の細胞内産生の抑制に有効性は示されなかった。一方で、RVL を用いた CD14 陽性細胞の刺激実験では BAFF および APRIL の産生は亢進に傾く傾向が示され、SOCS3 は mRNA レベルで発現が低下していた。以上から、AAV 患者における CD14 細胞の BAFF/APRIL 産生に関わる

SOCS3 シグナルとの関連性を検証した。

刺激を行う前の CD14 陽性細胞内環境に関して、以下 I および II を確認した。

I. AAV 患者では健常コントロールに比して、

BAFF および APRIL の細胞内発現は健常者に比べて有意に亢進していた。

mRNA レベルで測定した SOCS3 の発現は健常者に比べて有意に低下していた。

リン酸化 (p) STAT1 と pSTAT3 の発現は健常者に比べて有意に亢進していた。

II. AAV 患者に関して、

BAFF および APRIL の発現は SOCS3 の発現と逆相関していた。

BAFF および APRIL は pSTAT3 と相関を示した。

SOCS3、pSTAT1 および pSTAT3 との間に相関性は証明されなかった。

RVL 刺激によって AAV 患者の CD14 陽性細胞内環境は以下を示した。

SOCS3 の発現は刺激前に比べて発現は有意に低下した。

pSTAT1 および pSTAT3 は刺激前に比べて発現が有意に上昇した。

細胞内活性酸素の発現は有意に低下した。

健常者の CD14 陽性細胞では、RVL 刺激の前後で活性酸素の細胞内発現は明らかに低下する一方で、BAFF、APRIL、SOCS3、pSTAT1 および pSTAT3 の発現に有意差を認めなかった。

本研究では、Sirt1 活性や RVL の抗酸化作用によって BAFF および APRIL の産生制御に有意な効果は示さなかったが、何かしらの影響で SOCS3-STAT1/STAT3 シグナルを亢進させて BAFF および APRIL の発現を亢進させることを証明する結果となった。以上より、SOCS3-STAT1/STAT3 シグナルは AAV における BAFF/APRIL 産生の抑制に関わる上流の標的因子として重要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 5件）

1. 著者名 Shimojima Yasuhiro, Kishida Dai, Ichikawa Takanori, et al.	4. 巻 24
2. 論文標題 Hypertrophic pachymeningitis in ANCA-associated vasculitis: a cross-sectional and multi-institutional study in Japan (J-CANVAS)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-022-02898-4	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 Shimojima Yasuhiro, Kishida Dai, Ichikawa Takanori, Takamatsu Ryota, Nomura Shun, Sekijima Yoshiki	4. 巻 12
2. 論文標題 Oxidative Stress Promotes Instability of Regulatory T Cells in Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 789740
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.789740	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 Shimojima Yasuhiro, Kishida Dai, Ichikawa Takanori, Takamatsu Ryota, Nomura Shun, Sekijima Yoshiki	4. 巻 213
2. 論文標題 Features of BAFF and APRIL receptors on circulating B cells in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Immunology	6. 最初と最後の頁 125 ~ 137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cei/uxad024	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 Shimojima Yasuhiro, Sekijima Yoshiki	4. 巻 22
2. 論文標題 Hypertrophic pachymeningitis in ANCA-associated vasculitis: Clinical and immunopathological features and insights	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Autoimmunity Reviews	6. 最初と最後の頁 103338 ~ 103338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.autrev.2023.103338	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 Nomura Shun, Shimojima Yasuhiro, Ichikawa Takanori, Miyazaki Daigo, Uruha Akinori, Kishida Dai, Sekijima Yoshiki	4. 巻 42
2. 論文標題 Immunopathological features of myopathy associated with small-to-medium-sized vessel vasculitis and differences from autoimmune myositis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Rheumatology	6. 最初と最後の頁 786 ~ 794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.55563/clinexprheumatol/hpoapl	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 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 下島恭弘
2. 発表標題 Hypertrophic pachymeningitis in ANCA-associated vasculitis: a multicenter survey in Japan
3. 学会等名 EULAR 2022 Congress (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下島恭弘
2. 発表標題 ANCA関連血管炎患者の制御性T細胞障害と誘発因子の解明
3. 学会等名 第66回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下島恭弘
2. 発表標題 全身性血管炎の診断と治療 ~ 最近の話題 ~
3. 学会等名 第151回日本内科学会信越地方会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下島恭弘
2. 発表標題 ANCA関連血管炎における制御性T細胞の障害と酸化ストレス
3. 学会等名 第50回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下島恭弘
2. 発表標題 Relationships between the signaling pathway of BAFF/APRIL and circulating B cells in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis
3. 学会等名 European Congress of Rheumatology EULAR 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 下島恭弘
2. 発表標題 ANCA関連血管炎におけるBAFF/APRILシグナルとB細胞の特徴
3. 学会等名 第67回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Shimojima Yasuhiro	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Nova Science Publishers	5. 総ページ数 26
3. 書名 Chapter 4. Hypertrophic pachymeningitis related to ANCA-associated vasculitis: Advances in Health and Disease	

〔産業財産権〕

〔その他〕

信州大学医学部内科学第三教室ホームページ（研究成果報告）
<http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/medicine/chair/i-3nai/theme04.html>
信州大学医学部ホームページ（研究成果報告）
<https://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/medicine/topics/2022/01/25162060.php>

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
---------	---------