

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16306

研究課題名（和文）希少膠原病横断的なマルチオミックス解析を用いた高安動脈炎の根治的治療法の探索

研究課題名（英文）Development of treatment for Takayasu arteritis using multiomics approach through rheumatic and musculoskeletal diseases

研究代表者

松本 紘太郎（Matsumoto, Kotaro）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：00815425

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：高安動脈炎は治療抵抗性であり、根治的な治療法は開発されていない。我々は、血管炎に特徴的かつ血管組織に特異的な分子が治療標的になり得ると仮説し、希少膠原病横断的アプローチでオミックス解析を実施した。特に、血清プロテオーム解析と末梢血および組織のトランスクリプトーム解析を組み合わせることで、疾患および組織に特異的な分子を同定し、病態モデルマウスも用いて病態関連分子の産生機構や役割を検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管炎病態の重症度と関連し、予後の層別化、再燃の予測に有用な分子を同定した。IL-6を指標としないため、IL-6阻害治療下であっても再燃に先行して病勢を反映するバイオマーカーとなり得る。さらに、これを治療標的とした新規治療が奏功すれば、高安動脈炎の根治的治療となり得る。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this project is to elucidate the significant molecule to reflect the landscape of Takayasu arteritis. We have identified the novel molecule to reflect the pathogenesis of vasculitis using multiomics analysis. We screened vasculitis-specific molecules by combining the findings from serum proteome analysis and whole blood bulk RNA sequencing. Then, we validated the results using immunohistochemical staining and spatial transcriptome analysis. The molecule we identified can distinguish vasculitis from other rheumatic and musculoskeletal diseases. The longitudinal testing of it can predict clinical response in patients with LVV, and also monitor insidious disease activity. It may have potential as a target for diagnostic or therapeutic agents.

研究分野：リウマチ・膠原病

キーワード：高安動脈炎 巨細胞性動脈炎 バイオマーカー 分子的寛解

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高安動脈炎は若年女性に好発し、慢性・再発性の経過をたどることから、社会への参画や、妊娠・出産は著しく制限される。再燃を繰り返す他、血管の炎症が持続することで、血管狭窄・閉塞、動脈瘤など不可逆的な病変を形成し得る予後不良な疾患である。高安動脈炎の病態の中心は、血管壁マクロファージの活性化に伴って巨細胞を形成し、巨細胞を拠点として T 細胞が持続的に活性化することと考えられている。ステロイドの他、IL-6 および TNF- $\alpha$  を標的とした生物学的製剤が使用されるが、マクロファージおよび巨細胞を標的とした根治的治療法は存在しない。

我々は、これまでに、末梢血免疫細胞サブセット解析および全血トランスクリプトーム解析を実施し、マクロファージなどの自然免疫系が大型血管炎(高安動脈炎および巨細胞性動脈炎)に特徴的であり、病変の拡がりや治療予後不良と関連することを明らかにした。我々は、大型血管炎の治療標的候補分子を同定してきたが、同定した分子群が治療標的となり得るかどうかは明らかとしていない。

### 2. 研究の目的

大型血管炎は大動脈および大動脈の分枝血管に肉芽腫性炎症を伴う全身性の血管炎であり、高安動脈炎および巨細胞性動脈炎に分類される。大型血管炎の病態の中心は、血管壁マクロファージおよび T 細胞の活性化と考えられており、治療戦略はステロイドに依存するが、慢性・再発性の経過をたどり、血管の炎症が持続することで、血管狭窄・閉塞、動脈瘤など不可逆的な病変を形成し得る予後不良な疾患である。我々はこれまでに血管炎を対象とした免疫細胞サブセット解析および全血トランスクリプトーム解析を実施し、血管炎病態が多様であり、免疫系および代謝系が複雑に関与することを明らかにしてきたが、これが大型血管炎に特異的であるかどうかは明らかとしていない。我々は血管炎に特徴的かつ血管組織に特異的な分子が治療標的になり得ると仮説し、希少膠原病横断的なマルチオミックス解析を実施した。

### 3. 研究の方法

本研究では、高安動脈炎(Takayasu arteritis: TAK)、巨細胞性動脈炎(Giant cell arteritis: GCA)、結節性多発動脈炎(Polyarteritis nodosa: PAN)、多発血管炎性肉芽腫症(Granulomatosis with polyangiitis: GPA)、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症(Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis: EGPA)、顕微鏡的多発血管炎(Microscopic polyangiitis: MPA)、ベーチェット病(Behcet disease: BD)、再発性多発軟骨炎(Relapsing polychondritis: RP)、家族性地中海熱(Familial mediterranean fever: FMF)、成人発症スティル病(Adult onset Still disease: AOSD)、健常者(Healthy control: HC)を対象とし、大型血管炎と疾患コントロールとの共通シグナルおよび差次的シグナルを明らかにする。さらに、病態モデルマウスを用いて病態関連分子の産生機構や役割を同定する。

#### 1) 希少膠原病横断的なマルチオミックス解析

末梢血および組織のトランスクリプトーム解析、および、TAK、GCA、PAN、GPA、EGPA、MPA、BD、RP、FMF、AOSD などの希少膠原病を含む疾患横断的なアプローチで血清のプロテオーム解析を実施することで血管炎病態に特徴的かつ血管組織に特異的な分子をスクリーニングし、その有用性を検証する。

#### 2) 病態モデルマウスを用いた病態関連分子スクリーニング

高安動脈炎の病態関連分子として同定した血管壁マクロファージに関わる分子の産生機構や役割を明らかにするため、病態モデルマウスを用いた検討を行う。動脈炎を自然発症する IL-1 受容体アンタゴニストノックアウトマウス(IL1rn<sup>-/-</sup>)を用いて、動脈壁へ浸潤した細胞をシングルセル RNA-seq 解析で網羅的に評価し、大型血管炎に特徴的な細胞群およびパスウェイを同定する。

### 4. 研究成果

本研究は令和3年度～令和4年度の2年間実施し、研究期間内に以下を明らかにした。

#### 1) 希少膠原病横断的なマルチオミックス解析

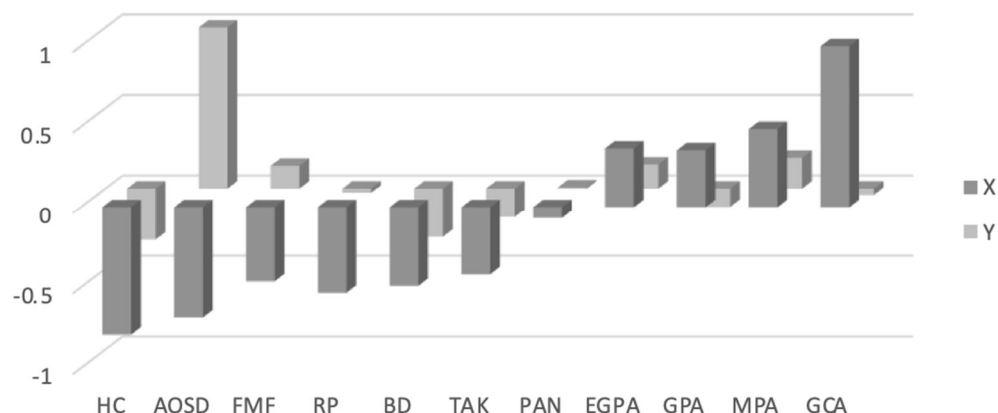
我々は、高安動脈炎の治療抵抗性のメカニズムを解明するため、末梢血免疫細胞サブセット解析および全血トランスクリプトーム解析を解析し、大型血管炎と健常者の間で有意に発現レベルが変動する 468 分子のうち、マクロファージの炎症に関与する分子群が治療後も残存し、再燃リスクと関連することを明らかにした([1] *Clin Transl Immunology* 2021、[2] *Autoimmun Rev* 2022、[3] *Autoimmun Rev* 2023、[4] *Arthritis Res Ther* 2023、[5] *Front Immunol* 2023)。さらに、疾患特異的かつ組織特異的な分子をスクリーニングするため、いくつかの手法でアプロ

一チした。大型血管炎と健常者を含むコホート1では、血清プロテオーム解析と全血のRNAシーケンス解析を実施した。大型血管炎で上昇した血清タンパクについて、全血RNAシーケンスで得られた大型血管炎対健常者比を統合して検討した。コホート2では、希少膠原病横断的に血清プロテオーム解析を実施した。TAK、GCA、PAN、GPA、EGPA、MPA、BD、RP、FMF、AOSD、HCを対象とし、特に、血管炎病態に特徴的な分子を同定した。疾患横断的血清プロテオーム解析の結果、血管炎病態に特徴的な候補分子X、AOSDに特徴的な候補分子Yを同定した。候補分子X・Yはいずれもマクロファージから産生され、血管炎症候群とAOSD、それぞれの疾患に特異的なマクロファージ活性化を反映する可能性を示唆した(図1)。候補分子Xは全血RNAシーケンスでは大型血管炎・健常者いずれでも検出されず、末梢血中の血液細胞にはほとんど発現しない分子であり、組織に特異的な分子であることが推察された。GCAの側頭動脈組織、GPAの肺組織を対象とした空間トランスクリプトーム解析では、マクロファージ(CD68陽性)の一部で候補分子Xが陽性、候補分子X陽性の一部でIL-1が陽性となることを示した(図2)([6]特願2022-173336)。

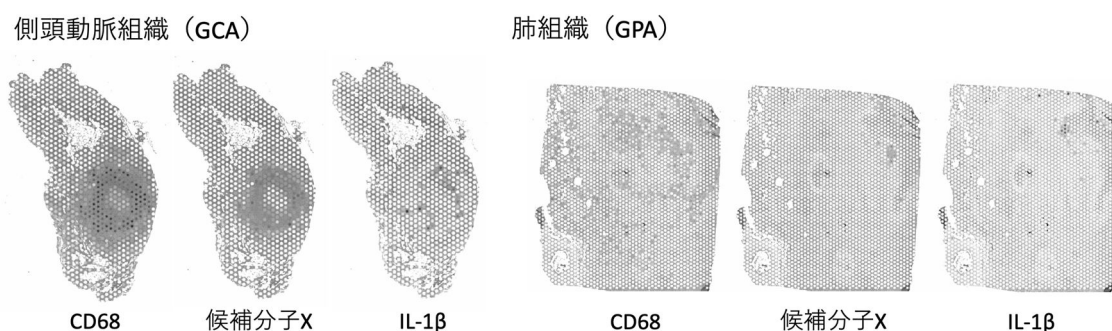
## 2) 病態モデルマウスを用いた病態関連分子スクリーニング

IL1rn<sup>-/-</sup>(16週齢雌)の大動脈弁をコラゲナーゼ処理することによって浸潤細胞を単離し、シングルセルRNA-seq解析(10x Genomics)で網羅的に評価した。動脈壁へ浸潤した炎症細胞を中心に解析することで、候補分子Xを産生する血管壁マクロファージを同定した。さらに、関節、脾臓などの組織マクロファージをコントロールとしてX産生血管壁マクロファージの特徴を明らかにする。今後、Xの誘導因子をスクリーニングする他、Xの阻害活性を有する薬剤をスクリーニングする。

[図1] 希少膠原病横断的血清プロテオーム解析



[図2] 血管炎症候群の空間トランスクリプトーム解析



### <引用文献>

- [1] Matsumoto K, Suzuki K, Yoshimoto K, Ishigaki S, Yoshida H, Magi M, Matsumoto Y, Kaneko Y, Takeuchi T. Interleukin-1 pathway in active large vessel vasculitis patients with a poor prognosis: a longitudinal transcriptome analysis. Clin Transl Immunology 2021;10:e1307.
- [2] Matsumoto K, Suzuki K, Yoshida H, Magi M, Kaneko Y, Takeuchi T. Longitudinal monitoring of circulating immune cell phenotypes in large vessel vasculitis. Autoimmun Rev 2022;21:103160.
- [3] Matsumoto K, Suzuki K, Yasuoka H, Hirahashi J, Yoshida H, Magi M, Noguchi-Sasaki M, Kaneko Y, Takeuchi T. Longitudinal monitoring of circulating immune cell phenotypes

in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Autoimmun Rev* 2023;22:103271.

[4] Matsumoto K, Suzuki K, Yoshida H, Magi M, Matsumoto Y, Noguchi-Sasaki M, Yoshimoto K, Takeuchi T, Kaneko Y. Distinct gene signatures of monocytes and B cells in patients with giant cell arteritis: a longitudinal transcriptome analysis. *Arthritis Res Ther* 2023;25:1.

[5] Matsumoto K, Suzuki K, Takeshita M, Takeuchi T, Kaneko Y. Changes in the molecular profiles of large-vessel vasculitis treated with biological disease-modifying anti-rheumatic drugs and Janus kinase inhibitors. *Front Immunol* 2023;14:1197342.

[6] 出願人：学校法人慶應義塾 発明者：松本紘太郎、金子祐子、鈴木勝也、花岡健二郎、佐々木栄太 出願番号：特願 2022-173336

## 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 3件）

1. 著者名 Matsumoto K, Suzuki K, Yoshimoto K, Ishigaki S, Yoshida H, Magi M, Matsumoto Y, Kaneko Y, Takeuchi T	4. 巻 10
2. 論文標題 Interleukin-1 pathway in active large vessel vasculitis patients with a poor prognosis: a longitudinal transcriptome analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical & Translational Immunology	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/cti2.1307	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 Matsumoto K, Suzuki K, Yoshida H, Magi M, Kaneko Y, Takeuchi T	4. 巻 21
2. 論文標題 Longitudinal monitoring of circulating immune cell phenotypes in large vessel vasculitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Autoimmunity Reviews	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） 10.1016/j.autrev.2022.103160	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 Matsumoto K, Suzuki K, Yoshida H, Magi M, Matsumoto Y, Noguchi-Sasaki M, Yoshimoto K, Takeuchi T, Kaneko Y	4. 巻 25
2. 論文標題 Distinct gene signatures of monocytes and B cells in patients with giant cell arteritis: a longitudinal transcriptome analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Arthritis Research and Therapy	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） 10.1186/s13075-022-02982-9	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 Matsumoto K, Suzuki K, Yasuoka H, Hirahashi J, Yoshida H, Magi M, Noguchi-Sasaki M, Kaneko Y, Takeuchi T	4. 巻 22
2. 論文標題 Longitudinal monitoring of circulating immune cell phenotypes in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Autoimmunity Reviews	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） 10.1016/j.autrev.2023.103271	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 Matsumoto K, Suzuki K, Takeshita M, Takeuchi T, Kaneko Y	4. 巻 14
2. 論文標題 Changes in the molecular profiles of large-vessel vasculitis treated with biological disease-modifying anti-rheumatic drugs and Janus kinase inhibitors	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	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) 10.3389/fimmu.2023.1197342	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0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 MMP12を指標とした免疫介在性炎症性疾患の診断、及びMMP12阻害による免疫介在性炎症性疾患の治療用医薬	発明者 松本紘太郎、金子祐子、鈴木勝也、花岡健二郎、佐々木栄太	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-173336	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------