

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293230

研究課題名(和文)新規抗リン脂質抗体症候群モデルマウスの作成

研究課題名(英文)The establishment of the novel murine model of the antiphospholipid syndrome

研究代表者

渥美 達也(Tatsuya, Atsumi)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20301905

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：抗リン脂質抗体症候群(APS)モデルマウスとして、動脈硬化モデルに病原性自己抗体である抗リン脂質抗体(aPL)を追加投与したが、血栓発症を認めなかった。病理解析から血栓症の母地である血管内皮細胞(EC)へのaPL結合が乏しかった為と考えた。一方、APSで補体活性化がEC活性化を介し病態発症に寄与しその原因が抗C1q抗体(aC1q)である事を我々は報告した。更に、APSで1次的なEC異常としてeNOS異常が指摘されており、補体活性化と共にEC細胞膜上の陰性荷電リン脂質発現を介しaPLのECへの結合・活性化を容易にしている。我々はeNOS KOマウスとaPL, aC1qを用いたモデルを検討中である。

研究成果の概要(英文)：We have strived to develop novel APS animal model using arteriosclerotic mouse model with additional monoclonal aPL administration, however, failed to develop the spontaneous thrombosis. Recently, we have clarified that abnormal acceleration of the complement activation contributes to APS pathogenesis and the autoantibody against first component of the classical pathway (C1q), highly produced in the patients' sera, initiates the activation. Additionally, in APS, primary abnormality of the vascular endothelial cells, especially dysfunction of endothelial NOS(eNOS) secretion is reported. These factors facilitates aPL to bind the cell surfaces of vascular endothelial cells via inducing anionic phospholipids expressions on cell membranes. And these processes result to the up-regulation of pro-thrombotic states of the cells. We are now planning to establish APS model mouse by using eNOS KO mouse with the pathogenic autoantibodies (aPL, anti-C1q antibody) which seems promising

研究分野：膠原病内科学

キーワード：内科 免疫学 脂質 生体分子

1. 研究開始当初の背景

抗リン脂質抗体症候群(APS)は、抗リン脂質抗体(APL)によって引き起こされる血栓傾向が代表的な臨床症状であり、自己免疫性血栓症という概念である。APSの病態解明のために、これまで多くの *in vitro* モデルが作成され、申請者も含めて多くの研究者が APL の病原性を示してきた。しかし、APS には *in vivo* のモデルは存在せず、特異的治療薬開発のためのツールがない。本研究の目的は、APS のモデルマウスとして臓器梗塞、とりわけ日本 APS でもっとも多い脳梗塞を来すマウスを作成し、病態を解析することである。

2. 研究の目的

1. APS の病態機序に関する最近の知見を加味して APS モデルマウスを作成する

2. APS モデルマウスを用いて APS に対する特異的治療の開発を行う

3. 研究の方法

代表的な脳梗塞のリスク因子である動脈硬化プロンマウスを用いて、申請者らが作成樹立した、あるいは新規に樹立する各種モノクローナル APL を導入し、APS 脳梗塞の病理学および分子的発症を誘導する。さらに、申請者らが同定した APS 発症の第二のリスク、補体活性化を利用し、既存の補体活性マウスを交配して APL を導入する。病理学的かつ/または分子的血栓が誘導できたら、それらを抑制するための薬物投与と実験をおこなう。

4. 研究成果

抗リン脂質抗体症候群(APS)は病原性自己抗体である抗リン脂質抗体(aPL)による血栓症や妊娠合併症をきたす疾患だが動物モデルが乏しく、とりわけ血栓症を自然発症する動物モデルは皆無であり、またモノクローナル抗体による流産の発症も明らかではなかった。今回、動脈硬化モデルを用い aPL を追加投与することにより血栓症の誘発を試みたが、認めなかった。一方、APS で特徴的な補体活性化が病態発症に関与することが近年明らかになり、そしてその原因が補体第 1 成分 (C1q) に対する自己抗体(aC1q)であることを我々は発見し、aC1q モノクローナル抗体をマウスに投与することによって高率に流産をきたし、抗補体治療によってそれが回避されることを発見し投稿準備中である。一方、aC1q 投与マウス及び aPL+aC1q 共投与マウスでも、血栓症発症は認めなかった。APS 患者では、1 次的な血管内皮細胞異常も示唆されており、そのうち eNOS 異常に我々は注目し、eNOS KO マウスをはじめとした内皮細胞異常を有するマウスと抗リン脂質抗体および aC1q を用いたモデルの作成を検討中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

1. Amengual O, Forastiero R, Sugiura-Ogasawara M, Otomo K, Oku

K, Favas C, Delgado Alves J, Žigon P, Ambrožič A, Tomšič M, Ruiz-Arruza I, Ruiz-Irastorza G, Bertolaccini ML, Norman GL, Shums Z, Arai J, Murashima A, Tebo AE, Gerosa M, Meroni PL, Rodriguez-Pintó I, Cervera R, Swadzba J, Musial J, Atsumi T. Evaluation

of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody testing for the diagnosis of antiphospholipid syndrome: results of an international multicentre study. *Lupus* (in press). 査読有

2. Oku K, Amengual O, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Sakamoto N, Ieko M, Norman GL, Atsumi T. Significance of fully automated tests for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Res* 査読有 (in press)

3. Noguchi A, Kato M, Kono M, Ohmura K, Ohira H, Tsujino I, Oyama-Manabe N, Oku K, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Nishimura M, Atsumi T. Bi-ventricular interplay in patients with systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension: Detection by cardiac magnetic resonance. *Mod Rheumatol* 査読有 27(3):481-488.2017 doi: 10.1080/14397595.2016.1218597

4. Oku K, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Nakagawa I, Watanabe T, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. Autoantibodies against a component of complement one contribute to complement activation and recurrent thrombosis/pregnancy morbidity in antiphospholipid syndrome. *Rheumatology* 査読有 55: 1403-11, 2016 doi: 10.1093/rheumatology/kew196.

5. Atsumi T, Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Yasuda S, Yamanishi Y, Kita Y, Matsubara T, Iwamoto M, Shoji T, Okada T, van der Heijde D, Miyasaka N, Koike T. The first double-blind, randomised, parallel-group certolizumab pegol study in methotrexate-naive early rheumatoid arthritis patients with poor prognostic factors, C-OPERA, shows inhibition of radiographic progression. *Ann Rheum Dis* 査読有 75: 75-83, 2016. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-207511

6. Yasuda S, Atsumi T, Shimamura S, Ono K, Hiromura K, Sada K, Mori M,

- Takei S, Kawaguchi S, Tamura N, Takasaki Y. Surveillance for the use of mycophenolate mofetil for adult patients with lupus nephritis in Japan. *Mod Rheumatol* 査読有 25:854-7, 2015. doi: 10.3109/14397595.2015.1031444
7. Matsuki Y, Atsumi T, Yamaguchi K, Hisano M, Arata N, Oku K, Watanabe N, Sago H, Takasaki Y, Murashima A. Clinical features and pregnancy outcome in antiphospholipid syndrome patients with history of severe pregnancy complications. *Mod Rheumatol* 査読有 25(2):215-8.2 doi: 10.1007/s00296-014-2951-0.2014.
 8. Oku K, Amengual O, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. An independent validation of the Global Anti-Phospholipid Syndrome Score in a Japanese cohort of patients with autoimmune diseases. *Lupus* 査読有 24(7):774-5.2014. doi: 10.1177/0961203314561284
 9. Amengual O, Horita T, Binder W, Norman GL, Shums Z, Kato M, Otomo K, Fujieda Y, Oku K, Bohgaki T, Yasuda S, Atsumi T. Comparative analysis of different enzyme immunoassays for assessment of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies. *Rheumatology International* 査読有 34: 1225-30, 2014 doi:10.1007/s00296-014-2951-0.
 10. Bertolaccini ML, Amengual O, Andreoli L, Atsumi T, Chighizola CB, Forastiero R, de Groot P, Lakos G, Lambert M, Meroni P, Ortel TL, Petri M, Rahman A, Roubey R, Sciascia S, Snyder M, Tebo AE, Tincani, Willis R. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force. Report on antiphospholipid syndrome laboratory diagnostics and trends. *Autoimmun Rev* 査読有 13: 917-930, 2014 doi: 10.1016/j.autrev.2014.05.001
 11. Devreese KM, Pierangeli SS, de Laat B, Tripodi A, Atsumi T, Ortel TL; Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Phospholipid/Dependent Antibodies. Testing for antiphospholipid antibodies with solid phase assays: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 査読有 12: 792-5, 2014. doi: 10.1111/jth.12537.
 12. Oku K, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid scoring: significance in diagnosis and prognosis. *Lupus* 査読有 23: 1269-72, 2014 doi: 10.1177/0961203314537361.
- [学会発表](計15件)
1. Atsumi T. Cumulative Safety Data for Tocilizumab. 口頭発表, 10th International Congress on Autoimmunity, 6 April 2016 Leipzig Convention center(Leipzig, Germany)国外
 2. Atsumi T and Oku K. Complement and thrombosis in the antiphospholipid syndrome. 口頭発表, 10th International Congress on Autoimmunity, 9 April 2016 Leipzig Convention center(Leipzig, Germany)国外
 3. Atsumi T. Phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody testing for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. 口頭発表, 15th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Girne, ELEXUS Hotel(Turkish Republic of Northern Cyprus), 23 September 2016 国外
 4. Atsumi T and Oku K. Antiphospholipid Scoring. 口頭発表, 15th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Girne, ELEXUS Hotel(Turkish Republic of Northern Cyprus), 23 September 2016
 5. Oku K, Kanetsuka Y, Amengual O, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Norman GL, deLaat B, Atsumi T. A patient-derived autoimmune IgG type monoclonal anticardiolipin antibody that binds to beta 2 glycoprotein domain I but not to total beta 2 glycoprotein I molecule. 口頭発表, The 15th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Girne, ELEXUS Hotel(Turkish Republic of Northern Cyprus), 22 Sep. 2016 国外
 6. Atsumi T and Oku K. How to interpret the antiphospholipid profile. 口頭発表, The 9th Congress of the Asia-Pacific Society on Thrombosis and Haemostasis, Taipei International Convention center(Taipei, Taiwan)7 October 2016 国外
 7. Atsumi T. Recent advances in antiphospholipid antibodies. 口頭発表, The 13th International Workshop on Autoantibodies and Autoimmunity, Kyoto,

- Japan, 13 October 2016 国外
8. Oku K, Kanetsuka Y, Amengual O, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. A novel patient-derived IgG monoclonal anticardiolipin antibody that specifically binds to domain I of beta 2 glycoprotein. □頭発表, The 9th Congress of the Asia-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis, Taipei International Convention center(Taipei, Taiwan), 6-9 Oct. 2016 国外
 9. Oku K, Kanetsuka Y, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. A patient-derived autoimmune IgG monoclonal anticardiolipin antibody that binds to beta 2 glycoprotein I domain I but not to total beta 2 glycoprotein I molecule., □頭発表, The 13th International Workshop on Autoantibodies and Autoimmunity, Kyoto kokusai kaikan(Kyoto, Japan), 13 Oct. 2016, 国内.
 10. Oku K, Amengual O, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Morishita E, Ieko M, Atsumi T. Practical application of antiphospholipid antibodies profiles in the diagnosis and managements of antiphospholipid syndrome: The modified antiphospholipid score. ,ポスター発表,The 80th American College of Rheumatology Annual Meeting, 15 Nov. 2016, Washington Convention center (Washington,DC, USA)国外
 11. Oku K, Shibata Y, Batuca J, Amengual O, Kono M, Nakamura H, Hisada R, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. Autoantibodies against high density lipoprotein-associated proteins are related to elevated oxidized low density lipoprotein levels in antiphospholipid syndrome. ,ポスター発表,The 80th American College of Rheumatology Annual Meeting, 13 Nov.2016, Washington Convention center (Washington,DC, USA)国外
 12. Oku K, Amengual O, Hisada R, Oomura K, Nakagawa I, Watanabe T, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. Markers of thrombotic events in autoimmune diseases:comparison of Antiphospholipid Score (aPL-S) and Global Anti-phospholipid Syndrome Score (GAPSS), □頭発表, The 78th American College of Rheumatology Annual Meeting, 14-19 November, 2014, The Boston Convention Exhibition center (Boston, USA) 国外
 13. Watanabe T, Oku K, Amengual O, Sugawara E, Hisada R, Ohmura K, Shimamura S, Nakagawa I, Noguchi A, Fukui T, Shida H, Kono M, Shimizu Y, Kurita T, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. The protective effects of statins for thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus positive for antiphospholipid antibodies. □頭発表, The 78th Annual Meeting of American College of Rheumatology, November 14-19, 2014, Boston Convention Exhibition center (Boston, USA) 国外
 14. Atsumi T. International multi-centre study in Phosphatidylserine-dependent-antiprothrombin antibodies (aPS/PT) for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. □頭発表, 60th Annual Meeting of the Scientific and Standardization Committee (SSC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). The Wisconsin center(Milwaukee, USA), 23-26 June 2014. 国外
 15. Atsumi T. Antiphospholipid syndrome. □頭発表, 9th International Congress on Autoimmunity. Nice Convention center(Nice, France)26 March 2014. 国外
- { 図書 }(計 2 件)
1. Amengual O, Atsumi T. Pathogenesis of Antiphospholipid Syndrome. In: Tsokos G, editor. Systemic Lupus

- Erythematosus. San Diego: Academic Press; 2016. p.487-94.
2. Amengual O, Bertolaccini ML, Atsumi T. Laboratory markers with clinical significance in the antiphospholipid syndrome. In: Cervera R, editor. Antiphospholipid Syndrome. San Diego: Academic Press; 2016. p.45-67.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

渥美 達也 (TATSUYA ATSUMI)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：20301905

(2)研究分担者

奥 健志 (KENJI OKU)
北海道大学・北海道大学病院・助教
研究者番号：20301905