



プログラム・抄録集

2024年2月17日(土) 13:00~17:40

会場：TKP 札幌駅カンファレンスセンター ホール3B (ハイブリッド開催)

当番幹事：石津明洋 (北海道大学大学院保健科学研究院 病態解析学分野)

第5回血管炎病因病態研究会の開催に寄せて

第5回血管炎病因病態研究会を令和6年2月17日（土）に札幌で開催致します。本研究会は、血管炎の動物モデル・細胞モデル・分子モデルなどの基礎研究に携わる研究者の情報共有の場として、2019年に第1回が開催されました。当初は、何回続くか不安も抱えての立ち上がりでしたが、この度5回目を迎え、軌道に乗ってきたことを、世話人の一人として嬉しく思います。これもひとえに、日々血管炎の病因病態解明研究に取り組んでこられたみなさまのご尽力によるものと御礼申し上げます。



今回の特別講演では、三重大学大学院医学系研究科 幹細胞発生学 山崎英俊先生に「骨髄及び胸腺での神経堤細胞の寄与とその機能」についてご講演いただきます。血管炎の構成要素である脈管組織や浸潤細胞を発生学の視点から紐解いていくことは、血管炎の病因病態を理解する上で大いに役立つと思います。また、シンポジウム「ANCA 血管炎モデル研究の最前線」では、ANCA 関連血管炎のモデル動物の総論及び各論ならびに新たなモデル開発の現況について、3名のシンポジストにご発表いただきます。Up-to-dateなお話が聞けるものと楽しみにしています。一般演題には7題の演題登録をいただきました。いずれも午後の半日でアレンジするのがもったいないほど密度の濃い内容ですが、一題一題しっかりと議論を深めるこの研究会の良い点を維持できるよう、プログラムを編纂したつもりです。

オンラインでもご参加いただけるよう、ハイブリッド開催とさせていただきました。会場参加のみなさまとオンライン参加のみなさまで、空間を越えて、血管炎の病因と病態について熱い議論ができることを期待しています。

血管炎病因病態研究会世話人

第5回研究会当番幹事

北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学分野

石津明洋

会場のご案内



■ アクセス

札幌市北区北7条西2丁目9 ベルヴュオフィス札幌3階

<https://www.kashikaigishitsu.net/facilitys/cc-sapporo-eki/access/>

- 参加費：2,000円（クレジットカード等の取り扱いはありません）
学部学生無料（受付にて学生証をご提示ください）

オンライン参加の皆様へ

研究会開催の3日前までに、ご登録のE-mailアドレスに開催通知（URL情報等）をお送りいたします。また、研究会終了後に、ご登録の住所にオンライン参加費（2,000円）の振込用紙を送付させていただきます。

開催にあたり、オンライン参加の皆様には以下のお願い事項をご確認いただき、ご理解とご協力をお願い申し上げます。

- 研究会中はカメラおよび音声をオフにしてご参加ください。
- 研究会中のスクリーンショットや、録画を含む記録は禁止となります。

- ご質問はチャットにご記入いただくか、発表終了後にカメラと音声をオンにしてご発言ください。

発表要項

- 特別講演：発表 50 分，質疑応答 10 分
- 一般演題：発表 12 分，質疑応答 3 分
- シンポジウム：演者により異なります。

演者の皆様へ

下記の要領にてパソコンによる発表のご準備をお願いいたします。

- 口演会場には液晶プロジェクターを準備いたします。（一面映写）
- 発表データは USB フラッシュメモリもしくは PC 本体をお持ちください。
- 会場に用意している発表用 PC は Windows のみとなります。Macintosh の方は必ず PC 本体をご持参ください。
- 発表に使用されるデータに動画ファイルを使用している場合は、PC 本体をご持参ください。
- 発表の際は演台に設置しておりますマウスもしくはキーボードを使って、演者ご本人により操作をお願いいたします。

《USB フラッシュメモリ持込の際の注意点》

運営事務局で、会場にご用意する発表用パソコンは、下記の通りです。

- OS : Windows10
- アプリケーションソフト: Microsoft MS PowerPoint 2013, 2019
- データファイル作成時のフォントは MSP ゴシック、MS ゴシック、Meiryu UI (メイリオ)、MSP 明朝または MS 明朝書体等の標準フォントを使用してください。
- 必ず事前にご自身でウイルスチェックを行ってください。
- 発表データは、必ず作成した PC 以外で画像等を確認してからお持ちください。
- コピーしたデータは、本大会終了後、主催者側で責任を持って消去いたします。

《PC 持込の際の注意点》

会場でご用意する PC ケーブルコネクタの形状は HDMI 端子または VGA (アナログ RGB、D-Sub) 端子です。

この形状にあった PC をご用意ください。また、この形状に変換するコネクタを必要とする場合には必ずご自身でお持ちください。



HDMI端子 (デジタル)



VGA端子 (アナログ)

PC 本体の AC アダプター (電源ケーブル) は必ずご持参ください。

会場で用意している液晶プロジェクターの解像度は WXGA (1280×800) です。

スクリーンセーバー、スリープモード等、発表の妨げとなるモードはあらかじめオフに設定しておいてください。

念のため、バックアップデータを USB フラッシュメモリでお持ちください。

プログラム

13:00-13:05 開会のご挨拶 石津明洋

Session 1: 13:05~13:50

座長 宮崎龍彦（岐阜大学）

1. 川崎病冠動脈炎増悪における自然免疫制御機構 IL-33/ST2 系の関与
山口大学大学院医学系研究科医学専攻 小児科学講座 岡田清吾ほか
2. 乳酸菌細胞壁菌体成分（LCWE）誘導のマウス冠動脈炎、狭窄に対するアンギオテンシン受容体拮抗薬（ARB）の有効性
埼玉県立小児医療センター 感染免疫・アレルギー科 菅沼栄介ほか
3. カンジダ細胞壁多糖誘導川崎病血管炎モデルにおける Syk 阻害薬による血管炎抑制効果 第2報
東邦大学医療センター大橋病院 病理診断科 浅川奈々絵ほか

(休憩 10分)

Session 2: 14:00~15:00

座長 中沢大悟（北海道大学）

4. 慢性腎臓病の動脈硬化病変における好中球の役割に関する研究
北海道大学大学院医学研究科 免疫・代謝内科学教室 三好敦子ほか
5. ガスターミン D は好中球細胞死を駆動して結晶誘発血栓性微小血管症の病態形成に関与する
Renal Division, Department of Medicine IV, LMU University Hospital,
Munich, Germany Kanako Kusunoki et al.
6. 組換え近交系マウスを用いた血管炎治療モデルの解析について
岐阜大学医学部附属病院 病理部・病理診断科 宮崎龍彦ほか

7. 炎症制御におけるリンパ管の役割 -Tenascin-C の新しい分子機能
三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理 今中恭子ほか

(休憩 10分)

シンポジウム『ANCA 関連血管炎モデル研究の最前線』：15:10～16:30
座長 石津明洋（北海道大学）

S1. ANCA 関連血管炎モデル—能動免疫，受動免疫，自然発症モデルの使い分けと応用

北海道大学大学院医学研究院 免疫・代謝内科学教室 中沢大悟

S2. ANCA 関連血管炎能動免疫モデルを用いた好中球機能阻害の評価

北海道大学大学院保健科学研究院 病態解析学分野 西端友香

S3. 抗 MPO 抗体を活用した新たな ANCA 関連血管炎マウスモデルの樹立と治療への応用

大阪大学大学院医学系研究科 呼吸器・免疫内科学 西出真之

(休憩 10分)

<特別講演・保健科学セミナー> 16:40～17:40

座長 高橋 啓（東邦大学）

『骨髄及び胸腺での神経堤細胞の寄与とその機能』

三重大学大学院医学系研究科 幹細胞発生学 山崎英俊

閉会のご挨拶 石津明洋

懇親会(18:30 開始予定)

会費 5000 円

<特別講演・保健科学セミナー>

『骨髄及び胸腺での神経堤細胞の寄与とその機能』

山崎英俊

三重大学大学院医学系研究科 幹細胞発生学

神経堤細胞は胎児期に神経管癒合部から発生する特殊な細胞集団であり、様々な分化能を持ち、様々な器官形成にかかわることが知られている。神経堤由来細胞は交感神経を含む末梢神経系細胞のみならず間葉系細胞への分化能を有し、頭部・顔面骨のみならず長管骨の骨髄や胸腺の間葉に寄与することがわかってきた。また神経堤細胞の異常が様々な器官の異常を示すことも知られている。今回、我々は神経堤由来細胞を標識及び欠損させることのできるマウスを用いて、これらの細胞が造血器官である骨髄や胸腺の器官形成に寄与していることや多分化能について検討した。また、神経堤由来細胞の欠損により骨髄でのB細胞の異常や胸腺でのT細胞の異常が認められたので報告したい。

<シンポジウム：ANCA 関連血管炎モデル研究の最前線>

S1. ANCA 関連血管炎モデル—能動免疫，受動免疫，自然発症モデルの使い分けと応用

中沢大悟

北海道大学大学院医学研究院 免疫・代謝内科学教室

ANCA (Anti Neutrophil Cytoplasmic antibody) 関連血管炎 (ANCA-associated vasculitis : AAV) は、腎臓や肺に重篤な糸球体腎炎や肺泡出血が見られ、病理学的に壊死性血管炎を呈することが特徴的である。本疾患は、獲得免疫異常による ANCA の産生と、ANCA を含む血清因子により異常活性化された好中球が血管炎を引き起こす機序が想定されている。活性化好中球は、活性酸素種 (ROS: reactive oxygen specie) や neutrophil extracellular traps (NETs) の放出を介して血管内皮障害に繋がる現象が解明されつつあり、こうした病態機序の解析には有用な動物モデルが欠かせない。現状、ANCA 関連血管炎のモデルは、1) AAV を自然発症するモデル、2) ANCA を人工的に産生させる能動免疫モデル、3) ANCA を移入する受動免疫モデル、の大きく分けて 3 種類のタイプがある。自然発症モデルの代表である SCG/Kj マウスは、ANCA の産生から血管炎発症 (半月体型生成腎炎) フェーズがあり、人に近い臨床経過を見ることが出来る。一方で、本モデルは AAV とは異なる臓器障害や組織像が見られる点を考慮する必要がある。また個体により発症時期や表現系のばらつきがあり、治療実験として用いる場合は注意が必要である。能動免疫モデルとしては、ヒトやマウスの MPO を野生型マウスやラットに免疫するタイプが汎用されており、ANCA の産生から血管炎症状を呈するまで評価できる利点があるが、表現系が弱く second trigger が必要となることが多い。受動免疫モデルとしては MPO ノックアウトマウスに mouse MPO を免疫して人工的に得られた抗 MPO 抗体や抗 MPO 抗体産生脾細胞を、他の野生型マウスや Rag 欠損マウスに移入する方法があり、血管炎の発症時期が予測しやすいため治療実験として用いやすい。ただし、受動モデルであるため免疫寛容破綻に関する評価はできない。

いずれの動物モデルにもメリットとリミテーションがあり、個々の研究目的に応じたモデルを用いて評価することが重要である。本講演では、これらの動物モデルの特徴を概説し、基礎研究から見た AAV 研究を展望する。

S2. ANCA 関連血管炎能動免疫モデルを用いた好中球機能阻害の評価

西端友香¹⁾、荒井粹心¹⁾、谷口 舞¹⁾、小川帆貴¹⁾、益田紗季子¹⁾、中沢大悟²⁾、
外丸詩野³⁾、清水喬史⁴⁾、William Sinko⁴⁾、長倉 延⁴⁾、寺田 央⁴⁾、石津明洋¹⁾

- 1) 北海道大学 大学院保健科学研究院病態解析学分野
- 2) 北海道大学 大学院医学研究院免疫・代謝内科学教室
- 3) 北海道大学病院 病理部/病理診断科
- 4) モジユラス株式会社

【背景・目的】MPO-ANCA 関連血管炎 (MPO-AAV) は MPO-ANCA 産生と全身の壊死性小型血管炎を特徴とする疾患である。MPO-ANCA によって誘導される好中球細胞外トラップ (NETs) が AAV の病態に関与し、NETs の形成には好中球エラスターゼ (NE) が重要な役割を果たしていることが最近の研究で明らかになっている。カテプシン C (CatC) は、NE、プロテイナーゼ 3、カテプシン G など、顆粒球内のセリンプロテアーゼ (NSP) の活性化プロセスにおいて、NSP の不活性型を活性型に変換する重要な酵素として機能している。本研究では MPO-AAV 能動免疫モデルを用いて、新規 CatC 阻害剤である MOD06051 の MPO-AAV に対する有効性を示すことを目的とした。

【方法】4 週齢の WKY ラットにヒト MPO を免疫し、MPO-AAV モデルを作製した。モデルラットを疾患群、低用量薬剤投与群、高用量薬剤投与群の 3 群に分け (各群 n=8)、vehicle (0.5% メチルセルロース) または MOD06051 (0.3 または 3mg/kg bid) を 42 日間経口投与した。2 週間毎に採血、Day40 に採尿、Day42 に解剖を行い、血清学的ならびに組織学的評価を行った。

【結果】各群間で体重や摂餌量に有意差は認めず、全群で MPO-ANCA の産生を同等に認めた。尿潜血の程度と肺泡出血数は、疾患群に比べて高用量薬剤投与群で有意に低下した。糸球体病変割合と糸球体内好中球数および糸球体内マクロファージ数は薬剤投与群で有意に低下した。尿細管赤血球円柱数および、早期腎障害マーカーである尿中 neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) 濃度は、高用量薬剤投与群で有意に減少した。さらに本薬剤は、末梢血中と組織中の NETs 形成好中球数を濃度依存的かつ有意に減少させた。

【結論】新規 CatC 阻害剤 MOD06051 は、MPO-AAV 能動免疫モデルにおける NETs 形成を抑制し、肺における肺泡隔壁の毛細血管障害および腎臓における糸球体病変と尿細管障害を改善した。MOD06051 は MPO-AAV の新規治療薬候補となり得る。

S3. 抗 MPO 抗体を活用した新たな ANCA 関連血管炎マウスモデルの樹立と治療への応用

西出 真之¹⁾、水野 裕美子¹⁾、熊ノ郷 淳¹⁾

1) 大阪大学大学院医学系研究科 呼吸器・免疫内科学

抗 MPO モノクローナル抗体が MPO-ANCA 関連血管炎を誘発することを示す研究はこれまでにない。我々はリコンビナント MPO タンパク質で免疫した MPO-KO マウスから脾細胞を採取し、脾臓 B 細胞から高親和性抗 MPO 抗体を精製した。精製された抗体を野生型マウスに投与したところ、抗体単独では糸球体腎炎を引き起こさなかった。しかし、特定の抗体の組み合わせにより、重症の糸球体腎炎を誘発することができた。これらの抗体は活性化した好中球の表面に結合し、好中球細胞外トラップ (NET) の形成を促進した。また、細胞表面のタンパクを分解せずに検出する Native-PAGE 法により、抗体の組み合わせを使用した場合は好中球の表面で免疫複合体が形成されていることを示した。

本研究は抗 MPO モノクローナル抗体を用いた新しい ANCA 関連血管炎のマウスモデルの開発に成功しただけでなく、好中球の細胞表面の免疫複合体形成が小血管炎の病態惹起に重要であり、治療標的になり得るといふ洞察を提供するものである。

<一般演題>

1. 川崎病冠動脈炎増悪における自然免疫制御機構 IL-33/ST2 系の関与

岡田清吾¹⁾、大西佑治¹⁾、元永貴大¹⁾、安戸裕貴²⁾、深野玲司¹⁾、鰐石貴子¹⁾、長谷川俊史¹⁾

1) 山口大学大学院医学系研究科医学専攻 小児科学講座

2) 杏林大学医学部 臨床検査医学教室

【背景】近年、川崎病発症に自然免疫の異常が関与しているという報告が散見される。インターロイキン (IL) -33 は IL-1 ファミリーに属するサイトカインで、様々な細胞の核内で恒常的に発現しており、受容体 (ST2) を発現する細胞を活性化する alarmin としての機能を有する。わたしたちは冠動脈中膜平滑筋由来の IL-33 が川崎病冠動脈炎増悪に関与している可能性を細胞レベルで報告した (Inflammation 2023)。

【方法】川崎病冠動脈炎症増悪における IL-33/ST2 系の関与をより生体内に近い条件で確認するため、川崎病第 7 病日前後にみられる中膜平滑筋水腫性疎開性変化の in vitro モデルを作製した。人工的に壊死させたヒト冠動脈平滑筋細胞をヒト冠動脈内皮細胞と共培養し、24 時間後の内皮細胞上清中の炎症性サイトカイン濃度を測定した。

【結果】平滑筋壊死細胞は平滑筋生細胞に比し、内皮細胞からの IL-6 産生を有意に増加させた。また、平滑筋細胞を川崎病リーディングサイトカインで前処置すると、上記傾向がより助長された。

【考察】今回の結果は、冠動脈中膜平滑筋由来の IL-33 が川崎病冠動脈炎を増悪させるという自身の仮説を支持するものであった。川崎病冠動脈炎において IL-33/ST2 系は新たな治療標的となり得る可能性が示唆された。

2. 乳酸菌細胞壁菌体成分 (LCWE) 誘導のマウス冠動脈炎、狭窄に対するアンギオテンシン受容体拮抗薬 (ARB) の有効性

菅沼栄介¹⁾、本田聡子²⁾、急式政志²⁾、中澤温子³⁾

1) 埼玉県立小児医療センター感染免疫・アレルギー科

2) 埼玉県立小児医療センター検査技術部

3) 埼玉県立小児医療センター臨床研究部

背景：川崎病は乳幼児に好発する原因不明の全身性血管炎であり、最も重篤な合併症は冠動脈瘤 (CAA) である。急性期治療法の進歩により CAA の合併頻度は約 3% にまで低下したが、一度合併した CAA の予後を改善する薬剤は知られていない。アンギオテンシン受容体拮抗薬 (ARB) は、降圧作用だけでなく抗炎症、抗酸化ストレスさらには血管リモデリング抑制作用など多様な作用を有し、心血管系疾患の予後改善薬として広く知られている。我々は、乳酸菌抽出物菌体成分 (LCWE) をマウスの腹腔内に投与することで川崎病の冠動脈炎に類似した組織像を有するモデル動物を確立している。発表者らは、冠動脈炎マウスに対して 2 週間の ARB 投与を行った結果、冠動脈炎が著明に抑制されたことを報告した (Suganuma et al. *Ped Res*, 2017 年)。

目的：LCWE 誘導マウス冠動脈炎および冠動脈狭窄に対する ARB の有効性を検証する。

方法：5 週令雄の C57BL/6J マウスに LCWE1000 μg を腹腔内投与 2 週間後、ARB 治療群 (n=6) には飲料水に混和したロサルタン (100mg/L, Sigma-Aldrich)、対照群には通常飲料水 (n=6) をそれぞれ与え、先行研究によって得られたデータをもとに、冠動脈狭窄が最大となる LCWE 投与 16 週間後に安楽死し組織学的な検討を行った。

結果：冠動脈炎合併率 (%)、冠動脈炎症スコア、冠動脈狭窄合併率 (%)、冠動脈内膜肥厚を両群で比較した。ARB 治療群は、対照群と比べ冠動脈炎の合併率は低く (33%、対照群 100%)、冠動脈スコアは有意に低値であった (4.3 ± 3.3 、対照群 19.3 ± 2.8 、 $p < 0.05$)。また冠動脈狭窄の合併も ARB 投与群で低く (25%、対照群 100%)、内膜肥厚も有意に軽減した ($18.2 \pm 12 \mu\text{m}$ 、対象群 $100.5 \pm 18 \mu\text{m}$ 、 $p < 0.05$)。

結論：ARB は冠動脈炎を抑制する効果に加え、冠動脈の狭窄抑制にも寄与する可能性がある。

3. カンジダ細胞壁多糖誘導川崎病血管炎モデルにおける Syk 阻害薬による血管炎抑制効果 第2報

浅川奈々絵¹⁾、横内 幸¹⁾、三浦典子²⁾、大野尚仁³⁾、高橋 啓¹⁾

- 1) 東邦大学医療センター大橋病院病理診断科
- 2) 東京薬科大学薬学部薬学教育推進センター
- 3) 東京薬科大学薬学部免疫学教室

【背景】*Candida albicans* 菌体由来物質を用いた川崎病類似マウス血管炎モデルでは Syk を含む自然免疫系の分子の活性化が血管炎発症に関わる。これまでに Syk 阻害薬を3週間腹腔内投与することで本モデルにおいて心基部大動脈、冠動脈の血管炎が抑制されることを報告した。今回は本モデルの起炎物質投与後の①心基部大動脈および冠動脈の炎症細胞浸潤の経時的推移、②血清サイトカイン動態の経時的推移、③Syk 阻害薬による変動について検討した。【材料・方法】起炎物質をマウス腹腔内に連続5日間投与し、投与終了翌日より Syk 阻害薬ないし溶媒を連日腹腔内投与した。起炎物質投与開始日を第1日とし、第0, 1, 3, 5, 6, 12, 26日に心臓採血、諸臓器採取を行い、血清サイトカインを測定した。【結果】起炎物質投与により、①第6日時点で心基部大動脈、冠動脈に好中球、マクロファージ主体の炎症細胞浸潤が観察され、第12日時点で汎血管炎の形成に至った。その後第26日時点で炎症病変の拡大を認めた。②第6日を境に IL-5, IL-6, INF γ , TNF- α , KC/GRO が早期に、IL-1 β , IL-2, IL-10, KC/GRO が後期に上昇した。③Syk 阻害薬投与により第12日群、第26日群いずれも汎血管炎の発生は完全に抑制され、IL-5, IL-6, INF γ , TNF- α , KC/GRO, IL-1 β , IL-2, IL-10 は上昇が抑制された。【要約】起炎物質投与後第6日時点で血管炎の初期像が、第12日以降で汎血管炎の形成がみられた。起炎物質投与後早期に上昇するサイトカインは血管炎の発生に、後期に上昇するサイトカインは血管炎の進展に関与している可能性が考えられ、いずれも Syk 阻害薬により抑制された。今回の検討では Syk 阻害薬は血管炎の進展を抑制したと考えられた。

4. 慢性腎臓病の動脈硬化病変における好中球の役割に関する研究

三好敦子¹⁾、中沢大悟¹⁾、上田雄翔¹⁾、西尾妙織¹⁾、外丸詩野²⁾、石津明洋³⁾、渥美達也¹⁾

1) 北海道大学大学院医学研究科免疫代謝内科学分野

2) 北海道大学病院病理部病理診断科

3) 北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学分野

【目的】慢性腎臓病（CKD）は、その病期が進行するにつれて心血管疾患による死亡率が高くなる予後不良な疾患である。この背景に動脈硬化が関与しており、脂質に反応して neutrophil extracellular traps（NETs）を誘導し血管内膜の石灰化をきたすアテローム性動脈硬化と、透析患者における高リン（P）血症により血管中膜へ全周性の石灰化をきたすメンケベルグ型動脈硬化がある。さらに CKD 患者では保存期から血管内腔側に石灰化が起り心筋梗塞をきたすことが知られているが、その病態機序は不明である。免疫細胞のうち好中球に血清 P 上昇を感知する Fibroblast growth factor receptor 1（FGFR1）を発現していることから、CKD で生じる高 P 刺激により好中球が活性化され、内膜石灰化による動脈硬化病態の形成に関与すると仮説を立てた。

【方法】健常者（HC）と CKD 患者の末梢血から Polymorphprep による比重分離法にて好中球を分離し低～高濃度の P を添加した。好中球活性化の評価には NETs 形成を指標とし、Sytox Green 染色と、Myeloperoxidase（MPO）や Citrullinated histone H3（CitH3）の免疫染色を施行した。また P の感知に関与するナトリウム-リン共輸送体（NaPi）阻害薬や FGFR1 阻害薬、NETs 形成に関与する PAD4 阻害薬で前処置した好中球を用いて NETs 形成を同様に評価した。

【結果】HC と CKD 患者の好中球は高濃度の P 条件で Sytox/CitH3 陽性の NETs が形成され、この反応は CKD 患者で顕著であった。高 P 刺激により誘導された NETs は各阻害薬の投与により抑制された。

【考察】好中球は CKD で上昇する血清 P 濃度に反応して NETs が誘導され、CKD 患者でこの反応は顕著であった。各阻害薬の投与実験から高 P 条件では NaPi を介して細胞内へ P が流入し、FGFR1 チロシン残基をリン酸化して PAD4 を活性化することで NETs を誘導し、血管内炎症から動脈硬化病態に関与することが示唆された。

5. ガスターミンDは好中球細胞死を駆動して結晶誘発血栓性微小血管症の病態形成に関与する

Kanako Kusunoki¹⁾²⁾, Stefanie Steiger¹⁾, Hans-Joachim Anders¹⁾

1) Renal Division, Department of Medicine IV, LMU University Hospital, Munich, Germany

2) Division of Rheumatology, Endocrinology and Nephrology, Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan

【背景と目的】血栓性微小血管症 (TMA) は免疫血栓とその下流の組織虚血により臓器不全に至る予後不良の疾患である。ガスターミンD (GSDMD) は免疫細胞に発現する膜孔形成蛋白であり、炎症性カスペーゼの活性化により切断された GSDMD の N 末端断片が細胞膜に移動して孔を形成し、IL-1 β 等の炎症性サイトカインの放出を伴う細胞死 (パイロトーシス) に関与する。本研究では GSDMD が好中球細胞死を駆動して TMA の病態形成に関与すると仮説を立てた。

【方法と結果】コレステロール結晶 (CC) を左腎動脈内に注入して TMA モデルを作成した。野生型マウスの TMA 腎では免疫組織化学にて尿細管周囲の浸潤細胞に GSDMD の陽性像を示し、ウエスタンブロッティングにて TMA 腎から抽出した免疫細胞における GSDMD N 末端断片の発現が上昇していた。Gsdmd^{-/-} TMA マウスでは野生型 TMA マウスと比較して動脈血栓閉塞、虚血性組織梗塞、および腎不全が改善した。Gsdmd^{-/-} TMA マウスでは好中球の成熟、 β 2 インテグリン MAC-1 の活性化、および障害腎への集簇が抑制された。さらに Gsdmd^{-/-} TMA 腎では動脈内および間質組織の好中球細胞外トラップ (NETs) の形成が減少した。In vitro では、Gsdmd^{-/-} マウス骨髄好中球は野生型に比較して、無刺激および G-CSF 刺激後 24 時間時点で成熟を示唆する CXCR2 の発現が低下した。LPS プライミングおよび CC 刺激後の健常ヒト好中球は、GSDMD 阻害薬ジスルフィラム (DSF) の濃度依存性に IL-1 β および LDH の放出が抑制、すなわちパイロトーシスが抑制された。一方で DSF は CC 刺激ヒト好中球の NETs 形成 (免疫染色および Sytox Green 陽性細胞率) を抑制しなかったが、ヒストン刺激ヒト好中球の NETs 形成を抑制し、またヒストン刺激 Gsdmd^{-/-} 骨髄好中球の NETs 形成も野生型と比較して減少した。さらにヒト iPS 細胞由来 GSDMD 欠損好中球ではコントロール好中球と比較して、CC 刺激後のパイロトーシスが減少し、また β 2 インテグリン MAC-1 および LFA-1 の発現が無刺激および CXCL8 刺激下で低下した。最後に DSF の予防および治療投与は TMA マウスを組織梗塞ならびに腎不全から保護した。

【結語】GSDMD は好中球の細胞死、成熟、動員を制御して結晶誘発 TMA 病態を形成する。

6. 組換え近交系マウスを用いた血管炎治療モデルの解析について

宮崎龍彦¹⁾、小林一博¹⁾、酒々井夏子¹⁾、丹羽亜弓^{1,2)}、花松有紀^{1,3)}

1) 岐阜大学医学部附属病院病理部・病理診断科

2) 岐阜大学腫瘍病理

3) 岐阜大学形態機能病理

【目的】自己免疫性糸球体腎炎をはじめとする自己免疫疾患は、環境要因と遺伝要因が絡み合って発症する。我々は、膠原病疾患モデルマウス MRL/Mp-*Fas*^{lpr/lpr} (MRL/*lpr*) と疾患抵抗性マウス C3H/HeJ-*Fas*^{lpr/lpr} (C3H/*lpr*) の交配系を用いて、その遺伝因子を解析してきた。その中で、血管炎の治療モデルを作製し、発症感受性遺伝子座とともに、治療抵抗性遺伝子座を検索した。【方法】MRL/*lpr* と C3H/*lpr* の F2 交配系を 40 世代以上兄妹交配し、組換え近交系マウス MXH/*lpr* を 106 系統余作出し、うち約 30 ストレインを確立している。うち、糸球体腎炎および全身性血管炎好発系 8 系統を対象、4.5 ヶ月齢のマウス各群 6 個体以上の鼠径リンパ節にシクロフォスファミドまたはメチルプレドニゾンを経口投与し、1 ヶ月間投与して生理食塩水投与群との比較により全身性血管炎が抑制されるか否かを解析した。【結果と考察】この結果、MXH104 および MXH86 が血管炎の治療抵抗性ストレインであることが明らかとなった。また、MXH/*lpr* 各群のゲノム背景情報と QTL 解析し、治療抵抗性を規定する遺伝子座を検索し、第 4 番染色体、第 13 番染色体上に有意な疾患抵抗性遺伝子座を見いだした。治療抵抗性に優位に相関する染色体領域が示唆された。組換え近交系マウスモデルは疾患感受性のみでなく、治療抵抗性・感受性を規定する遺伝子座の解析にも有用であることが示唆された。

7. 炎症制御におけるリンパ管の役割 -Tenascin-Cの新しい分子機能

今中恭子、加藤大輔、西本圭那、中西名奈子、鈴木聖弥、丸山和晃

三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学

Matricellular タンパクの一つ Tenascin-C(TNC)は、正常ではほとんど発現しないが、川崎病など炎症に伴って高発現し、発現レベルは病態活動性を反映し、予後予測マーカーになる。

状況依存的に時に相反する多くの分子機能を持つが、一般に炎症促進・炎症持続機能を持つことが知られ、マクロファージに integrin avb3 あるいは Toll like receptor typ4 を介して作用し、遊走、炎症性サイトカインの産生を促進し、M1 への polarization を促進し M2 への polarization を抑制することが明らかになっている。また、炎症進展の重要な要素の一つ、血管新生を促進することも知られている。一方、最近、炎症消退にリンパ管が重要な役割を演じることが注目されている。そこで我々は、リンパ管の動態制御における TNC の役割の解明を試みた。

マウス尾皮膚を環状切開してリンパ管を切断したリンパ浮腫モデルを作成すると、TNC は外科的侵襲後急性期 14 日をピークに発現したのち漸減し、リンパ管新生は TNC が減少する 28 日後以降に TNC 沈着のない部位に見られた。血管新生はそれより早く 7 日をピークに主に TNC 陽性部位に見られた。TNC ノックアウトマウスを用いたリンパ浮腫モデルでは、野生型より浮腫が軽く、組織中のリンパ管の数、Ki67 陽性リンパ管内皮細胞が多く、浸潤しているマクロファージ、リンパ球の数が少なかった。傷害部の抹消側に投与した Evans Blue、マクロファージのリンパ節への回収は TNC ノックアウトの方が優位に多く、リンパ管のドレナージ機能が亢進していると考えられた。Collagen ゲルに混和した TNC を皮膚切開部に投与すると、リンパ浮腫が増悪、リンパ管数、増殖リンパ管内皮が減少した。さらに、Human Dermal Lymphatic Endothelial Cells (HDLEC) を用いた in vitro アッセイで TNC は、integrin avb1 から TGFb の non canonical pathway TAK-1/MKK3/6/p38MAPK/ATF2 のシグナル経路を介してリンパ管内皮細胞の増殖、管腔形成を抑制し、アポトーシスを促進することが明らかになった。

従って、TNC はリンパ管新生、機能を抑制することにより、炎症細胞や炎症による浮腫液の回収を抑制し、炎症を増強し遷延させる機能を持つことが示唆された。