

## ANCA 関連血管炎におけるシクロフィリン D の関与を解明 ～新たな治療標的に期待～

### 【ポイント】

- ・ ANCA 関連血管炎は、免疫細胞である好中球の暴走により腎臓や肺の血管が壊死する病気。
- ・ ミトコンドリア内のシクロフィリン D が本疾患の好中球を介した壊死病態に関与することを発見。
- ・ シクロフィリン D を標的とした ANCA 関連血管炎の新規治療戦略に期待。

### 【概要】

北海道大学大学院医学研究院の渥美達也教授、保健科学研究院の石津明洋教授らの研究グループは、シクロフィリン D を制御することにより ANCA 関連血管炎における壊死病変が改善することを明らかにしました。

抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎は、外来微生物の侵入を阻止する好中球を異常に活性化する自己抗体である ANCA が何らかの機序で作られます。その ANCA により活性化された好中球が体中の毛細血管で暴走し、腎臓や肺の毛細血管に壊死を引き起こして急激な腎不全や肺出血をきたす難病の一つです。治療は強力な免疫抑制薬が必要ですが、免疫力を低下させることで感染症による副作用が多いことが課題であり、本研究では免疫を抑制せずに好中球の暴走を阻止する治療の開発を目的としました。工藤孝司研究員、中沢大悟助教は、ANCA により活性化される好中球が好中球細胞外トラップ (NETs) という微生物を効率よく殺菌する形態を示し、この NETs が自己の血管の傷害に関与することを発見しました。その NETs 形成のメカニズムに着目したところ、壊死誘導に関与するミトコンドリア内タンパク質のシクロフィリン D (CypD) が NETs の誘導を制御していることを解明しました。ANCA 関連血管炎を呈する 2 種類のモデルマウスを用いてその効果を検証したところ、CypD 遺伝子の発現抑制が、全身の免疫を抑制せずに、NETs の抑制を介して血管炎症状を改善することを明らかにしました。本研究の結果から CypD を標的とする治療が、本疾患の特異的な治療となり、予後の改善につながることを期待されます。

なお、本研究成果は、2022 年 7 月 29 日 (金) 公開の Arthritis & Rheumatology 誌にオンライン掲載されました。

論文名 : Cyclophilin D regulates NETosis and inflammation in myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis (シクロフィリン D は MPO-ANCA 関連血管炎における NETosis と炎症を制御する)

## 【背景】

抗好中球細胞質抗体（ANCA）関連血管炎は、病原性自己抗体の産生とともに臓器障害が引き起こされる代表的な自己免疫疾患です。その病態には自然免疫機構である好中球細胞外トラップ（NETs）の制御が関与することが知られています。本疾患ではミエロペルオキシダーゼ（MPO）などを抗原とした病原性自己抗体 ANCA が好中球に作用して過剰な NETs と血管内皮傷害を誘導し壊死性血管炎を引き起こします。

NETs は感染症時には侵入微生物を効率よく殺菌する免疫システムであると同時に、特定の分子によって制御される能動的な壊死（ネクローシス）の一形態ですが、ANCA を介した NETs 形成のシグナル伝達経路は不明です。制御された壊死を司る分子の一つであるシクロフィリン D (CypD) は、活性酸素種（ROS）などの刺激によりミトコンドリアの膜透過性遷移孔（mPTP）を開口させ、ミトコンドリア内から過剰な ROS を細胞質へ流出させることでネクローシスを引き起こすことが知られています。

そこで本研究では、ANCA 刺激により誘発される NETs 形成、ならびに ANCA-NETs による血管内皮細胞傷害において、CypD 依存性にネクローシスが起こることを解明し、壊死性血管炎の病態形成への関与を検証することを目的としました。

## 【研究手法】

本研究では ANCA 誘導 NETs における CypD 阻害薬と CypD 遺伝子除去の効果をそれぞれ検証しました。また、ANCA 誘導 NETs のシグナル因子を解析するために RNA シークエンス解析<sup>\*1</sup>を行いました。さらに血管内皮細胞傷害における CypD の役割を検証するために ANCA-NETs により傷害された血管内皮細胞に CypD 阻害薬を投与し、細胞透過性試験により内皮傷害を評価しました。次に、ANCA 関連血管炎における CypD 遺伝子の役割を解析するために、ANCA 移入モデルと血管炎自然発症モデルの 2 種類のモデルマウスを用いて CypD の遺伝子除去の効果を検証しました。

## 【研究成果】

ヒト好中球において CypD 阻害薬はミトコンドリアからの ROS およびシトクロム c の放出抑制を介して ANCA-NETs の誘導を抑えました（図 1）。またマウス好中球は MPO-ANCA により NETs が誘導されましたが、CypD 遺伝子を除去したマウス好中球では有意に抑制されました。RNA シークエンス解析では、ANCA 誘導 NETs で炎症性シグナルの亢進を認め、上流調節因子解析<sup>\*2</sup>によりそのシグナル変化を抑制する制御因子として CypD 阻害薬が特定されました（図 2）。さらに、ANCA 誘導 NETs により誘導される血管内皮細胞傷害は CypD 阻害薬投与により有意に抑制されました。2 種類の ANCA 関連血管炎 モデルマウスにおいて、CypD 遺伝子除去により血管内皮の壊死は抑制され、免疫抑制を介さずに半月体性糸球体腎炎を改善させました（図 3）。

## 【今後への期待】

本研究では壊死誘導因子の一種であるシクロフィリン D (CypD) に着目し、CypD の制御が NETs の誘導を抑制することを解明しました。さらに、2 種類の ANCA 関連血管炎モデルマウスにおいて、CypD 遺伝子の除去により NETs が抑制され、臓器障害が改善することを明らかにしました。現在の

ANCA 関連血管炎の標準的治療は強力な免疫抑制治療ですが、免疫抑制による感染症死が多いことや臓器障害が残ることが課題となっています。本研究の結果から新規治療標的として CypD を選択的に阻害する治療薬が開発できれば、免疫抑制を起こさずに、血管炎の予後の改善に繋がることが期待されます。

### 【研究費】

科学研究費助成事業

中沢大悟 (20K08581) シクロフィリン D をターゲットとした ANCA 関連血管炎の新規治療開発

### 【論文情報】

論文名 Cyclophilin D regulates NETosis and inflammation in myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis (シクロフィリン D は MPO-ANCA 関連血管炎における NETosis と炎症を制御する)

著者名 工藤 孝司 1、中沢 大悟 1、楠加奈子 1、神田真聡 2、麻生里佳 1、阿部靖矢 1、8、西尾妙織 1、古賀純一郎 3、岩崎沙理 4、辻隆裕 4、深沢雄一郎 4、山崎美和子 5、渡辺雅彦 5、益田紗季子 6、外丸 詩野 7、村上正晃 8、荒谷康昭 9、石津 明洋 6、渥美 達也 1 (1 北海道大学大学院医学研究院 免疫・代謝内科学教室、2 札幌医科大学医学部免疫・リウマチ内科学、3 九州大学循環器内科学、4 市立札幌病院病理診断科、5 北海道大学大学院医学研究院解剖学分野解剖発生学教室、6 北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学分野、7 北海道大学大学院医学研究院分子病理学教室、8 北海道大学遺伝子病制御研究所・大学院医学院分子神経免疫学分野、9 横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科)

雑誌名 Arthritis & Rheumatology

DOI 10.1002/art.42314.

公開日 2022 年 7 月 29 日 (金) (オンライン公開)

【参考図】 (図表・画像は発表論文より引用し、一部改変して使用。上記論文情報を参照)

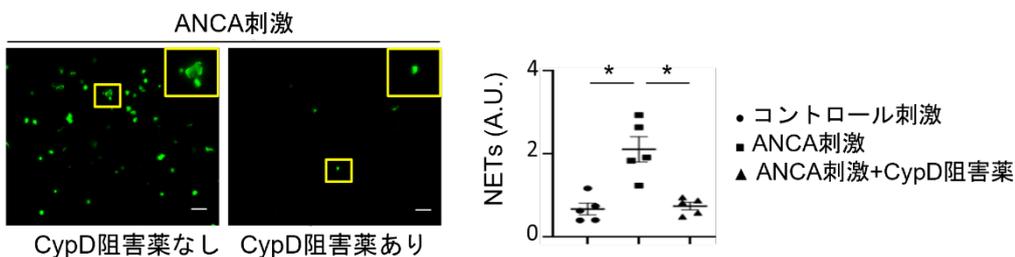


図 1. ヒト好中球を ANCA で刺激し NETs を評価。CypD 阻害薬で NETs は抑制された。

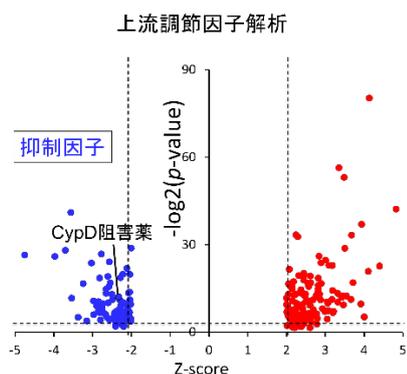


図 2. 上流調節因子解析。ANCA 誘導 NETs で変動した発現を抑制する因子として CypD 阻害薬が検出された。

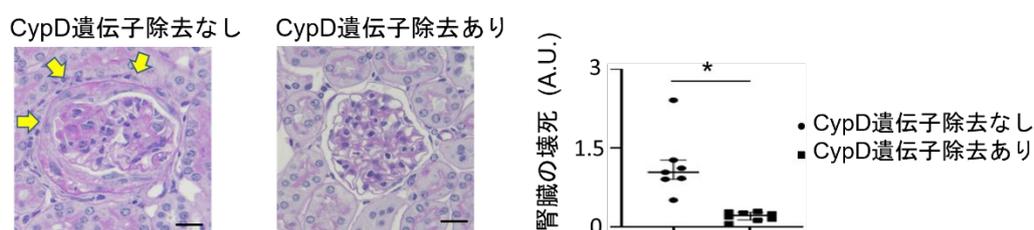


図 3. ANCA 関連血管炎モデルマウスの腎臓の PAS 染色の写真。矢印は壊死病変である半月体を示している。モデルマウスの CypD 遺伝子を除去すると腎臓の壊死が抑制された。

### 【用語の説明】

- ※ 1 RNA シークエンス解析…次世代シーケンサーを使用して取得したデータを解析することで、遺伝子の発現量を解析すること。既知または新規の特徴を検出することができる。
- ※ 2 上流調節因子解析…発現の変動を引き起こしている上流の因子を探索し、その関係性を予測する解析方法。

### お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究院 免疫・代謝内科学教室

北海道大学病院 リウマチ・腎臓内科

助教 中沢 大悟 (なかざわ だigo)

T E L 011-706-5915 F A X 011-706-7710 メール daigo-na@med.hokudai.ac.jp

### 配信元

北海道大学病院総務課総務係 (〒060-8648 札幌市北区北 14 条西 5 丁目)

T E L 011-706-7631 F A X 011-706-7627 メール pr\_office@huhp.hokudai.ac.jp