

血管炎に関する基礎研究の進歩

能勢 真人

要 旨：厚労省難治性血管炎に関する調査研究班の基礎・病理研究分科会では、動物モデルを用いた血管炎の病因・病態の解明とヒト血管炎における病因・病態の解析をミッションとするなかで、血管炎の発症・進展にかかわるゲノム・遺伝子・タンパク質に焦点を絞り、血管炎の感受性遺伝子のゲノム解析、発現遺伝子の網羅的解析、病態関連遺伝子・タンパク質の機能解析、血管炎に関連する自己抗体探索、さらには治療モデルの開発など、オーミクスを駆使した展開を進めており、その成果の一端を紹介する。

(J Jpn Coll Angiol, 2011, 51: 61–65)

Key words: animal model, genomics, proteomics, susceptibility gene, autoantibody

はじめに

原発性血管炎は臨床症状、病理所見ともに特異性に乏しいところから、その分類、疾患カテゴリーの設定において、時代時代の新たな疾患概念や技術革新に伴う新たな所見の導入により、歴史的に紆余曲折を経てきた (Fig. 1)。近年の ANCA の発見以来、ANCA 関連血管炎の概念が導入され、MPA が PN(PAN) から疾患カテゴリーとして独立する契機となり、また、MPA, WG, AGA の診断に大きく貢献することとなった。しかしそれでも、個々の疾患はなおカテゴリーにとどまりエンティティーには至っておらず、その病因、病理発生は不明なものが多い。従来、原発性血管炎は、その病因に免疫学的発症機序が考えられてきたが (Table 1)、近年の血管生物学、またゲノム解析に基づく成果から、免疫系以外の因子が同義的に関与するポリジーン疾患であることがわかってきた。われわれは、研究目標を、血管炎の病態・病理のプロトタイプに対応するゲノム・遺伝子・タンパク質を同定することに定め、これに基づいた「動物モデルを用いた血管炎の病因・病態の解明」と「ヒト血管炎における病因・病態の解析」の 2 つのミッションを遂行している。このことが、より高度な診断、治療、予防への

展開につながるものと考えている。

モデル動物による血管炎の病理発生の解析

PN モデルとして、石津、吉木は、壊死性血管炎を発症する *HTLV-I LTR-env-pX* 遺伝子を導入したラットに由来する血管内皮細胞反応性 T 細胞株を樹立し、この T 細胞の移入により正常ラット肺に血管炎を誘導することを見出し、さらにその免疫細胞学的特性を明らかにするとともに、その標的分子を解析している。また、この T 細胞の発現は、骨髓由来の T 前駆細胞が *env-pX* 遺伝子を発現する胸腺フレームワークに規定された T 細胞のセレクションの異常に基づくことを明らかにしており、central tolerance の異常が血管炎を誘導するという新たな概念を提示するものである。

川崎病モデルとして、鈴木、高橋は、*Candida albicans* 菌体外多糖画分の mannose-protein-1,3- β -glucan (CAWS) による冠動脈炎誘発マウスにおいて、MPO-ANCA および補体を介した好中球の炎症性サイトカイン IL-6, IL-23, IL-17 の発現と放出と Th17 活性化による血管炎発症初期プロセスを解明している。また、このモデルマウスにおいて、居石は、抗 VEGF 抗体ならびに抗 TNF- α 抗体の投与により血管炎が改善することを見出し、VEGF および TNF- α がこの血管炎の発症に大きく関与していることを発見している。これらの事実は、血管炎の発症に

難治性血管炎調査研究班基礎・病理研究分科会
愛媛大学プロテオ医学研究センター、愛媛大学大学院医学系
研究科ゲノム病理学分野

2010 年 3 月 30 日受理

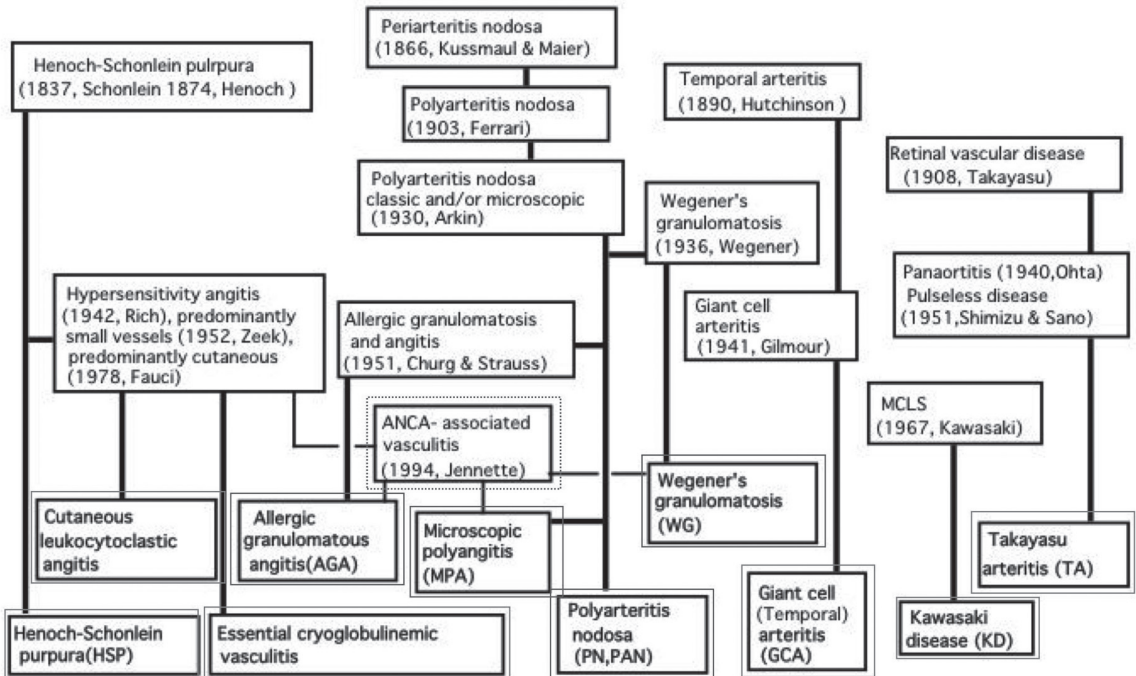


Figure 1 A family tree of primary vasculitis; from past to present.

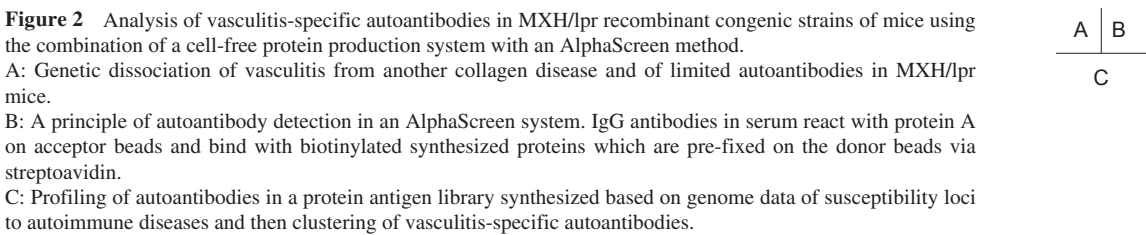
Table 1 Relevant immune mechanisms of vasculitis

Effectors	Relevant diseases
Antibodies	
ANCA (pANCA, cANCA):	
ANCA-cytokine sequence theory	MPA, WG, AGA, Rheum. vasc.
Anti-vascular endothelial cell Ab	MPA, WG
Anti-basement membrane Ab	Goodpasture, SLE vasc
Cryoglobulin	HSP, Essential cryo. vasc, Rheum. vasc, Cutan. leukocytoclastic vasc
Immune complexes	
circulating immune complex	Cutan. leukocytoclastic vasc, SLE vasc, Rheum. vasc, PN (streptococcal infect)
in situ immune complex	PN (HBV infect)
Th, Tc cells	
MPA, microscopic polyangiitis; WG, Wegener granulomatosis; AGA, allergic granulomatous angitis; SLE, systemic lupus erythematosus; HSP, Henoch-Schonlein purpura; PN, polyarteritis nodosa; GCA, giant cell arteritis; TA, Takayasu arteritis	GCA, TA, EBV-ass. vasc

における cytokine storm の重要性を指摘している。

一方、能勢らは、血管炎モデルマウス MRL/gld に GFP 遺伝子を導入した MRL/gld-GFP マウスを樹立し、そのマウスの骨髓細胞移入による血管炎の再構築ならび

にその細胞動態の可視化に成功し、血管炎の hematopoietic stem cell 依存性の発症機構解明の手がかりを得ている。さらには、血管炎モデルマウス MRL/gld マウスに SV40-TAg を導入し、このマウスより樹立した動脈中膜



C: Profiling of autoantibodies in a protein antigen library synthesized based on genome data of susceptibility loci for autoimmune diseases and then clustering of vasculitis-specific autoantibodies.

期待できる治療因子を明らかにしている。

血管炎の発現遺伝子の網羅的解析

ANCA 関連血管炎の遺伝子発現解析として、石津、吉木は、治療前後の末梢血単核細胞の DNA アレイによる遺伝子発現プロファイルを解析し、寛解例で治療後に発現が低下する 66 遺伝子と増加する 22 遺伝子を同定し、これらを含む Low Density Array を作製した。

ニデルマウス MRL/lpr を用いた血管炎感受性探索で能勢は、MRL/lpr マウスと 100 万年の祖先とする野生型マウス MSM との交配実験およびなるりコンビナントコンジェニックマウスの作成、新たな腎炎、血管炎抵抗性遺伝子を見出した。

また、能勢らは、MRL/lpr マウスの血管炎感受性遺伝子として *Cd72* を見出していたが、さらにその抵抗性アレレル *Cd72^b* の BAC トランスジェニックマウスを作製し、このアレレルが血管炎の発症を抑えることを見出した。

一方、ヒトでは、土屋は、日本人集団における顕微鏡的多発血管炎の感受性遺伝子の探索を行うなかで、新たな *DRB1* ハプロタイプを同定している。

新たな自己抗体、自己抗原の探索

無細胞タンパク質合成系を用いて、能勢らは、血管炎関連自己抗体の探索を行った。まず血管炎好発系 MRL/lpr と嫌発系 C3H/lpr マウスとから樹立したりコンビナントインブリードマウス MXH/lpr の 11 系統を用い、血管炎が他の膠原病から遺伝的に分離することを発見、さらにこの MXH/lpr マウスを利用して、無細胞タンパク質合成系と AlphaScreen 法を組み合わせ high through-put に自己抗体を検出する方法を開発し、血管炎に関連する自己抗体を同定している (Fig. 2)。

臨床研究への展開

血管炎のバイオマーカーを探索する目的で、加藤は、ANCA 関連血管炎患者末梢血中の病因病態に関連し、診断的意義を持つ、あるいは治療標的となりうるペプチドまたはタンパク質を二次元電気泳動、ついで質量分析 (ETD) による解析により探索した。

また、城は、MPO-ANCA 関連血管炎における腎生検時の臨床・病理パラメータの相関に関する解析を行い、

その結果 6 つの臨床病理学的亜型に分類し、ANCA 関連血管炎の腎病理診断ガイドラインを作成した。

謝 辞

本稿は、第 50 回日本脈管学会総会(重松 宏会長)でのシンポジウム「我が国の難治性血管炎研究の現状—過去から未来へ—」において、「血管炎に関する基礎研究の進歩」と題し、難治性血管炎調査研究班(尾崎承一班長(平成 14 年度-19 年度)、横野博史班長(平成 20 年度-))の基礎・病理研究分科会を代表して発表した内容を概説したものである。下記の当分科会の諸氏のご協力に深謝する。また、紙面の都合上、また未刊行データの取り扱い上、記載が不十分であったことをお詫び申し上げます。

石津明洋(北海道大学大学院保健学科病理形態機能学)

岩月啓氏(岡山大学大学院医歯薬総合研究科学皮膚科学)

鬼丸満穂(九州大学大学院医学研究院病理病態学)

勝岡憲生(北里大学医学部皮膚科学)

加藤智啓(聖マリアンナ医科大学大学生化学)

澤井高志(岩手医科大学医学部先端機能病理学)

居石克夫(九州大学大学院医学研究院病理病態学)

鈴木和男(千葉大学大学院医学研究院免疫発生学・炎症制御学)

城 謙輔(国立病院機構千葉東病院臨床研究センター腎病理研究部)

高橋 啓(東邦大学医学部付属大橋病院病理学)

土屋尚之(筑波大学大学院人間総合科学研究科生命システム医学)

長谷川 均(愛媛大学大学院医学系研究科生体統御内科学)

吉木 敬(株ジェネティックラボ)

(五十音順)

Advances in Basic Research on Primary Vasculitis

Masato Nose

Basic and Pathologic Research Subcommittee in Research Committee of Intractable Vasculitis Syndromes of the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan, Proteo-Medicine Research Center, Ehime University and Department of Pathogenomics, Ehime University Graduate School of Medicine, Ehime, Japan

Key words: animal model, genomics, proteomics, susceptibility gene, autoantibody

Recent advances in vascular cell biology have shed some light especially on the mechanisms of proliferation and regulation of blood vessels, receptor signaling of vascular cells and remodeling of vascular walls. However, these have not contributed yet to elucidate several issues in the mechanisms of primary vasculitis, which are needed for progress in critical diagnosis and therapy. In the Basic and Pathologic Research Subcommittee in Research Committee of Intractable Vasculitis Syndromes of the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan, we have started up a mission for research on the pathogenesis of primary vasculitis in animal models and humans to develop a clinical application. We focused on genomes, genes and proteins corresponding to the development and progression of primary vasculitis, and have performed studies of systemic vasculitis involving susceptibility genes, gene expression profiles, gene and protein functions, screening of autoantibodies, animal models in a therapeutic strategy, etc. In this paper the representative results of our study will be reviewed in brief.

(J Jpn Coll Angiol, 2011, **51**: 61–65)