

ANCA 関連血管炎における好中球免疫チェックポイント分子の機能解析とその治療応用

西出真之

大阪大学大学院医学系研究科 呼吸器・免疫内科学

【研究の背景】

ANCA 関連血管炎 (AAV) は、全身の小型血管に炎症を生じる難治性の免疫疾患であり、臨床的に三つの病型 (顕微鏡的多発血管炎:MPA、多発血管炎性肉芽腫症:GPA、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症:EGPA) に大別される。申請者は最近、好中球上に発現する免疫関連分子「セマフォリン」が、好中球の活性化を阻止するブレーキ役として働いており、このブレーキが外れてしまうことが AAV の発症に関与することを解明した。

【目 的】

本研究は、上記の研究背景に立脚し、AAV におけるセマフォリンの病態学的関与をさらに明らかにし、新たな治療法、診断法の開発に繋げることを目的とした。

【方 法】

本研究では、まず AAV の 3 病型のうち、高度な腎炎を呈する MPA と、好酸球性副鼻腔炎を合併する EGPA を研究対象とし、血管炎モデルマウスの立ち上げを行った。MPA モデルは、リコンビナント MPO タンパクを MPO 欠損マウスに免疫し、脾臓採材を行い、脾細胞を Rag2 欠損マウスに移入する事により、腎血管炎を発症させた。EGPA は、全身性の適切なモデルが存在しないため、局所病変として高率に合併する好酸球性副鼻腔炎に着目し、副鼻腔の血管周囲に好酸球性炎症を生ずるアスペルギルス死菌移入モデルを用いた。各モデルの病勢評価は、組織所見 (腎・副鼻腔)、血清・尿・鼻腔洗浄液のラボ検査により行った。モデルマウスを樹立できたものについては、セマフォリン抗体を用いた前臨床試験を行い治療効果の判定を行った。また、セマフォリンが白血球、血管内皮との相互関係においてそれらの活性にどのような影響を与えるか、*in vitro* での解析として、好中球 NETosis 誘導実験、血管内皮透過性判定実験を行い検討した。

【結 果】

MPA モデルは、手法を幾度か改良することで、ヒトの病態に非常に近い重篤な腎血管炎をマウスに発症させることに成功した。発症したマウスは高度の半月体形成性糸球体腎炎を生じ、尿たんぱく値の上昇を認めた。また、セマフォリン抗体は *in vitro* において ANCA 刺激による好中球の NETosis を抑制した。好酸球性副鼻腔炎モデルについては立ち上げ～抗セマフォリン抗体を用いた治療実験までを完了し、抗セマフォリン抗体が好酸球性血管炎の軽減、鼻腔洗浄液内炎症性サイトカインの低下をもたらし、病態を軽減させることが明らかとなった。

【考 察】

セマフォリンは、各細胞の活性化に伴ってメタロプロテアーゼの作用により膜から切断され、遊離型として血中に分泌される。セマフォリンの上昇が血管内皮細胞の透過性を増強し、好酸球の血管外漏出を引き起こすことを我々が用いた抗体が抑

制する機序が考えられ、新たな治療として有用である可能性がある。本研究を通じて、セマフォリンは好中球だけでなく、好酸球にも発現し、血管炎に密接に関連している事が明らかとなった。細胞特異的な分子ではないという一方で、セマフォリンを標的とする治療が AAV の全病型に幅広く有用である可能性がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

血清の分泌型 SEMA4D 濃度の上昇は、ANCA 関連血管炎においては、血管炎の病勢を反映するマーカーとして有用であり、好酸球性副鼻腔炎においては、疾患の重症度や鼻腔内ポリープのスコアと相関することがわかった。また、MPA モデルの発症に成功した事例は本邦初であり、今後、引き続き前臨床試験、病態解明に取り組むことで、一人でも多くの難治性血管炎の患者を救う研究に繋げていきたい。

【参考・引用文献】

Tsuda T, Nishide M (Co-first), et al. *J Allergy Clin Immunol.* in press
Nishide M and Kumanogoh A. *Nat Rev Rheumatol.* 2018 Jan;14(1):19-31.
Nishide M, et al. *Ann Rheum Dis.* 2017 Aug;76(8):1440-1448.