

令和 2 年 5 月 12 日現在

機関番号：13301
研究種目：若手研究
研究期間：2018～2019
課題番号：18K15991
研究課題名(和文)新規骨髄由来線維化誘導細胞を介したANCA関連血管炎における臓器線維化機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the organ fibrosis mechanism in the ANCA-related vasculitis through new myeloid-derived fibrosis-inducing cells

研究代表者
相良 明宏(Sagara, Akihiro)

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：00707060
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：抗好中球細胞質抗体関連血管炎(AAV)症例における、新規骨髄由来細胞 CD45+C1q+CCR8+ cell[precursors of fibroblastic cell(preFC)] の臨床的、生物学的意義を検討した。初発および再燃のAAV 12例の血液を、各種抗体を用いて多重染色し、フローサイトメトリーで解析することで、preFCを同定した。対照群は、健常者 10例、AAV以外の膠原病 10例とし、CD45陽性単核球中のpreFCの割合をAAV症例と比較した。AAV症例において、血液中のpreFC/CD45陽性単核球比は、健常者およびAAV以外の膠原病症例より高値であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AAVは、しばしば半月体形成性糸球体腎炎から急速進行性腎障害をきたし、重篤な場合には肺出血をきたして死亡する難病である。AAVの活動性とANCA抗体価は、相関することが多いが、そうでない症例もあり、病勢や再発・再燃を速やかに評価、診断できない症例が存在することが問題となっている。したがって新しいバイオマーカーが切望されている。本研究によって、preFCがAAV症例の血中で検出され、preFC/CD45陽性単核球比が健常者や他の膠原病症例よりも高値であることが判明した。これにより、preFCが新たなバイオマーカーとなる可能性が示唆された。今後さらに、動物実験による裏付けが重要である。

研究成果の概要(英文)：We explored the clinical and biologic significance of the new myeloid-derived fibrosis-inducing cells, CD45+C1q+CCR8+ cell[precursors of fibroblastic cell(preFC)] in the antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis (AAV) cases. We identified preFC in the blood of 12 AAV cases of the onset or relapse by the flow cytometry. Control groups were 10 cases of the other connective tissue diseases except AAV, and 10 healthy volunteers. Moreover, the ratio of preFC/CD45+ mononuclear cells in the AAV cases was increased, compared with the other connective tissue disease cases, or the healthy volunteers.

研究分野：膠原病

キーワード：線維化 骨髄由来細胞 血管炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗好中球細胞質抗体関連血管炎[ANCA associated vasculitis(AAV)]は、細胞性免疫や液性免疫の異常によって血管壁に炎症が生じる全身性の炎症性疾患である。病勢の進行に伴って臓器線維化を生じる。AAVは厚生労働省が指定する難病の1つであり、欧米に比べてわが国に多い。好中球の細胞質に存在するミエロペルオキシダーゼ(MPO)もしくはproteinase(PR)3に対する自己抗体(MPO-ANCA, PR3-ANCA)の出現を伴って、しばしば半月体形成性糸球体腎炎から急速進行性腎障害をきたし、重篤な場合には肺出血をきたして死亡することもある。

AAVの病態形成には、好中球、マクロファージ、樹状細胞、B細胞、形質細胞およびT細胞といった種々の細胞や、補体、サイトカイン/ケモカインの相互作用が関与している。しかしながら、いまだに全貌は明らかとなっていない。さらにAAVの活動性とANCA抗体価は、相関することが多いが、そうでない症例もあり、病勢や再発・再燃を速やかに評価、診断できない症例が存在することも問題となっている。したがって新しいバイオマーカーが切望されている。

我々はこれまで、新規骨髄由来細胞-CD45⁺C1q⁺CCR8⁺ cell[precursors of fibroblastic cell(preFC)]を発見し、preFCが心腎連関において、心・腎線維化に関与することを明らかにしてきた。本研究は、preFCの臨床的、生物学的意義を、AAVにおいて検討するものである。

2. 研究の目的

AAVにおける慢性炎症と臓器線維化を、preFCの観点から解明するとともに、preFCを新しい細胞マーカーとして応用することを目標とした。

3. 研究の方法

本研究を開始するにあたり、所属機関の医学倫理委員会より承認を受けた。十分なインフォームドコンセントののち、文章により同意を得た被験者を対象とした。

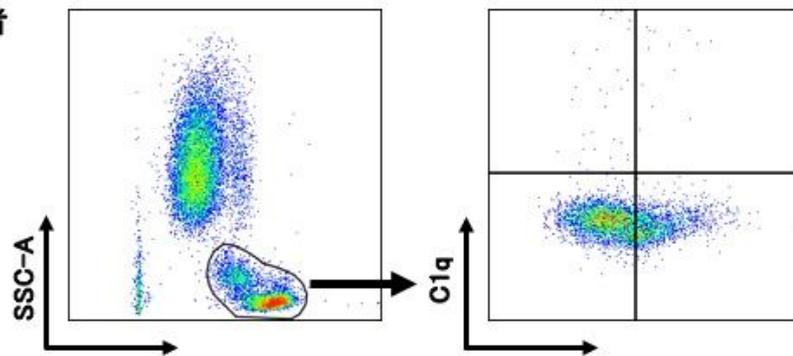
初発もしくは再燃のAAV症例、対照群となる健常者もしくはAAV以外の膠原病症例より、早朝、空腹時にEDTA採血を行った。次にCD45、C1qおよびCCR8抗体を用いた多重染色を行った。抗体濃度、反応時間については、予備実験で得られたデータをもとに決定した。さらに溶血処理で赤血球を破壊・除去し、ホルムアルデヒドを用いて固定した。フローサイトメトリーはBD Biosciences社のFACS Aria II[®]を用いて行い、さらにトミーデジタルバイオロジー社のFlowJo[®]にて解析した。CD45陽性単核球中のpreFCの割合を3群間で比較した。

4. 研究成果

研究期間において、初発および再燃のAAV 12症例、AAV以外の膠原病 10症例、健常者 10名より検体採取を行い、血液中のpreFCを同定した(図1)。次に、CD45陽性単核球中のpreFCの割合をAAV症例と比較した。その結果、AAV症例において、血液中のpreFC/CD45陽性単核球比は、健常者およびAAV以外の膠原病症例より高値であった(図2)。

図1.

健常者



AAV

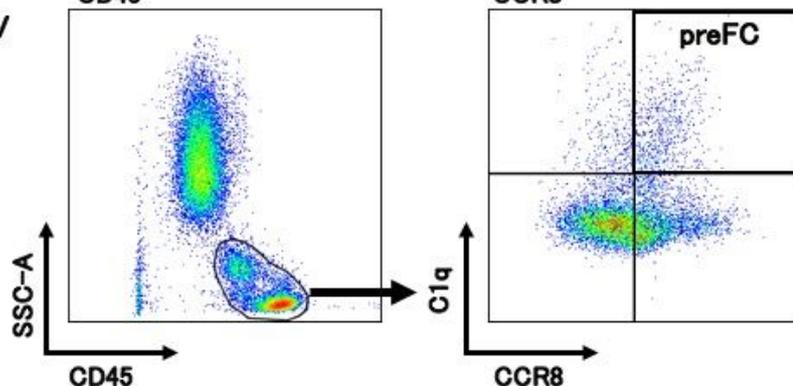
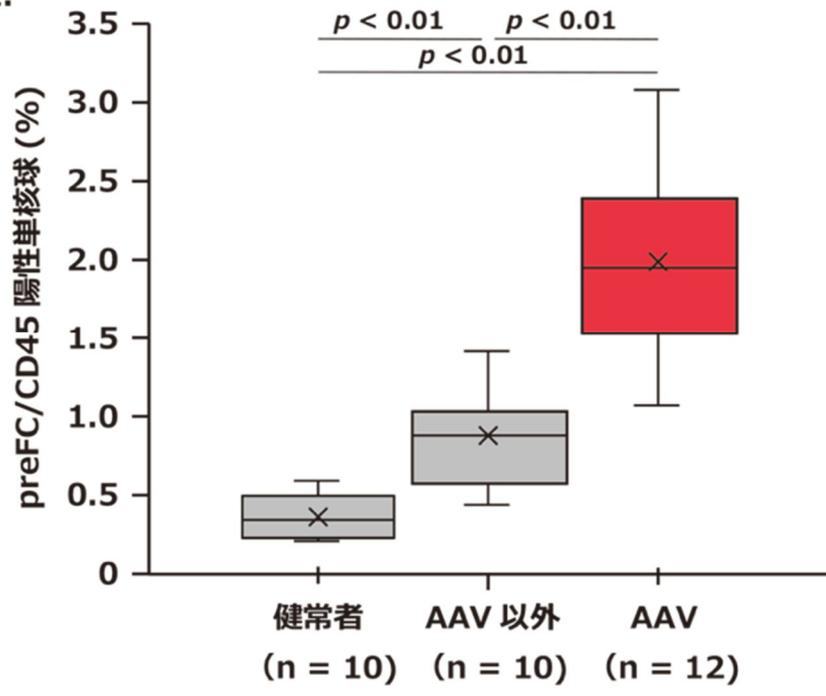


图 2.



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 相良 明宏
2. 発表標題 Myeloid-derived fibrosis-inducing cellsを介した心腎連関機序の解明
3. 学会等名 第61回 日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 相良 明宏
2. 発表標題 Myeloid-derived fibrosis-inducing cellsによる心腎連関機序の解明
3. 学会等名 第39回 日本炎症・再生医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 相良 明宏
2. 発表標題 New myeloid-derived cells attributing to cardio-renal syndrome
3. 学会等名 Kidney Week 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 相良 明宏
2. 発表標題 ヒトにおけるMyeloid-derived fibrosis-inducing cellsの同定と慢性腎不全における末梢血での増加
3. 学会等名 第62回 日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----