

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

浅川奈々絵より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 769 号

学位申請者 : 浅川奈々絵

学位論文 : A pathological study on the efficacy of Syk inhibitors in a *Candida albicans*-induced aortic root vasculitis murine model

(カンジダ アルビカンス誘導性大動脈基部血管炎マウスモデルにおける Syk 阻害薬の効果に関する病理組織学的検討)

著者 : Nanae Asakawa, Toshiaki Oharaseki, Yuki Yokouchi, Noriko Miura, Naohito Ohno, Kei Takahashi

公表誌 : Cardiovascular pathology 72: 107669, 2024
DOI: 10.1016/j.carp.2024.107669

論文内容の要旨 :

背景・目的 : 川崎病は小児の代表的な系統的血管炎症候群であり、冠動脈後遺症が生命予後に重大な影響を及ぼす。標準治療である免疫グロブリン大量静注療法は非常に有効であるものの、約 20%の症例が不応であり、このなかにも冠動脈病変の合併が多い。川崎病の原因はいまだ不明である一方、その病態への自然免疫系の関与が指摘されている。現在、川崎病血管炎に類似の血管炎を発症するマウスモデルが 3 種類あり、いずれも血管炎誘発物質として病原体関連分子パターンないしダメージ関連分子パターンが用いられる。このうち *Candida albicans* 菌体成分を用いた血管炎マウスモデルでは病変の分布や組織像に加え、治療反応性が川崎病に類似する。*Candida albicans* 菌体成分は主に β グルカン、マンナン、蛋白から構成される。生体内で α マンナンがその受容体である dectin-2 と結合すると、spleen tyrosine kinase: Syk や $Fc\gamma R$ 、caspase-recruit domain 9: CARD9 の活性化を介し、各種サイトカインが産生される。そして本モデルの血管炎発症には dectin-2-Syk-CARD9 経路に関与する分子の活性化が重要であることが報告されている。本研究の目的は、本モデルの血管炎の経時的変化を組織学的に詳細に解明することとなり、川崎病血管炎における Syk 阻害薬の代替療法としての可能性を明らかにすることである。

対象・方法：マウス (DBA/2、雄性) に血管炎誘発物質 200 μ g を 5 日間連続腹腔内投与し、投与終了翌日から Syk 阻害剤 (R788 または GS-9973) による治療を開始した。血管炎誘発物質投与終了後 1 日、1 週間、3 週間で全身諸臓器を採取した。冠動脈を含む心基部大動脈の連続薄切標本を作製し、汎血管炎の発生率、炎症の重症度、炎症の面積について組織学的に評価した。また、炎症巣において免疫組織学的に F4/80 の発現を検討した。心以外の全身臓器 (肺、肝、腎、脾、腹部大動脈、精巣) についても標本作製し、汎血管炎の有無を評価した。

結果：冠動脈、心基部大動脈については、血管炎誘発物質投与終了後 1 日の時点で未治療対照群は全個体で血管壁にさまざまな程度の炎症細胞浸潤が認められ、うち約 20% はすでに初期の汎血管炎を生じていた。炎症はその後経時的に拡大し、血管炎誘発物質投与終了後 1 週間で弾性線維の破壊に至った。血管炎は大動脈基部、特に大動脈弁付着部でより高頻度に観察された。炎症細胞の分布は、内膜、内膜と外膜、そして内膜、中膜、外膜の全層に限定した。浸潤する炎症細胞は炎症の重症度によらず F4/80 陽性を示すマクロファージが主体であった。Syk 阻害剤治療群では、すべての観察期間で血管炎を発症した個体は R788 治療群の n=1 のみであった。炎症の重症度と面積は、Syk 阻害剤によって軽減された。冠動脈、心基部大動脈以外の全身臓器としては未治療対照群のごく一部で腎動脈起始部に汎血管炎を生じた一方、Syk 阻害薬治療群では R788 群、GS-9973 群とも汎血管炎は認められなかった。

考察：従来の報告では *Candida albicans* 菌体成分により誘導される DBA/2 の冠動脈、心基部大動脈血管炎は外膜側から生じ、経時的に拡大し大動脈弁輪全周に及ぶ激しい血管炎である。今回の検討では連続切片による詳細な観察を行うことで微小な病変の検出が可能となった。血管壁における炎症の分布は内膜のみ、内膜と外膜、全層の 3 パターンであったことから、微小な内膜炎が本血管炎の最も初期の像であると考えられた。血管炎の分布としては冠動脈よりも大動脈壁の特に弁付着部に好発する点は川崎病と異なる点であり、この原因は不明であるが、既報よりも血管炎誘導物質の投与量を減量した影響が考えられた。Syk 阻害薬は R788、GS-9973 とも本モデルの血管炎に対し治療的に作用し、特に GS-9973 は血管炎の発生を完全に抑制した。GS-9973 は R788 よりも Syk 特異性が高く、本モデルの血管炎発症に Syk が重要な役割を果たしていることを裏付ける。Syk は生体内で主に血液免疫系細胞に発現し多様な作用を示すことから、Syk 阻害薬の長期使用は感染症などの有害事象の発生が懸念される。この点、急性炎症性疾患である川崎病では短期の投与となるであろうことからその有用性は高いと考えられる。

結論： *Candida albicans* 菌体成分誘発性マウス血管炎は、血管炎誘発物質の注射後 1 日以内に発生しうることが明らかとなり、発生早期から Syk の活性化が関与していると考えられた。Syk 阻害薬は本モデルに対し強力な血管炎抑制効果を示し、川崎病血管炎に対する新規治療薬の一候補となる可能性が示された。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 769 号		氏 名		浅 川 奈々 絵			
学位審査担当者	主 査	三 上 哲 夫					
	副 査	栃 木 直 文					
	副 査	高 月 晋 一					
	副 査	本 間 尚 子					
	副 査	亀 田 秀 人					
学位論文の審査結果の要旨：							
<p>川崎病は小児の血管炎症候群であり、免疫グロブリン療法は有効であるが不応例が存在する。血管炎マウスモデルのうち <i>Candida albicans</i> 菌体成分(<i>Candida albicans</i> water-soluble fraction:CAWS)を用いたモデルは病変の分布等が川崎病に類似する。CAWS の成分である α マンナンは dectin-2 受容体と結合すると、spleen tyrosine kinase (Syk)などの活性化を介し炎症を惹起する。川崎病血管炎における Syk 阻害薬の治療薬としての可能性を明らかにすることを目的に本研究は行われた。</p> <p>マウス(DBA/2、雄性)に CAWS200 μg の 5 日間連続腹腔内投与により血管炎を誘発し、投与終了翌日から Syk 阻害剤 (R788 または GS-9973) の投与を開始した。CAWS 投与終了後 1 日、1 週間、3 週間の時点での冠動脈と心基部大動脈の組織標本により、汎血管炎の発生率、炎症の重症度、炎症の面積を評価した。また、炎症巣にて免疫組織学的に F4/80 陽性細胞の有無を検討した。CAWS 投与終了後 1 日の時点で、未治療対照群は全個体で冠動脈と心基部大動脈の血管壁に炎症細胞浸潤が認められ、一部では初期の汎血管炎を生じていた。浸潤する細胞は F4/80 陽性のマクロファージが主体であった。Syk 阻害剤投与群では炎症の重症度と面積は軽減された。その他の全身臓器では未治療対照群のごく一部で腎動脈起始部に汎血管炎を生じたが、Syk 阻害薬投与群では R788 群、GS-9973 群とも汎血管炎は認められなかった。</p> <p>2 種類の Syk 阻害薬はともに本モデルの血管炎に対し治療的に作用し、特に GS-9973 は血管炎の発生を完全に抑制しており、GS-9973 は R788 よりも Syk 特異性が高いことから、本モデルの血管炎発症に Syk が重要な役割を果たしていることが示唆された。Syk 阻害薬の長期使用は有害事象の発生が懸念されるものの、急性炎症性疾患である川崎病では投与は短期となることが想定され、治療薬としての可能性があると考えられた。</p> <p>2024 年 7 月 22 日の学位審査会では申請者のプレゼンテーションの後に審査委員から、2 種類の Syk 阻害薬の投与法の違いやその投与量の決め方について、炎症の進展経路、Syk 阻害薬の臨床応用についての展望、<i>Candida</i> 菌体成分に着目した経緯、Syk 阻害薬を使用する場合初期投与か 2nd line か、などについて質問がなされ、申請者はその全てに対して適切に回答した。審査委員の全員一致により学位授与に値する研究と評価し、審査会を終了した。</p>							