HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	血管疾患と自己免疫応答の関連に関する研究
Author(s)	安田, 充孝
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第17034号
Issue Date	2026-06-30
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k17034
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/100087
Type	doctoral thesis
File Information	YASUDA_Mitsutaka_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　安田　充孝

学 位 論 文 題 名

血管疾患と自己免疫応答の関連に関する研究

(Autoimmune response in vascular diseases)

＜第一章：もやもや病疾患関連遺伝子 RNF213 の機能解析＞

【背景と目的】もやもや病は日本人に多発する内頸動脈終末部の狭窄および閉塞をきたす脳血管疾患であり，発症契機として炎症や自己免疫応答が想定されているがその原因は未だ不明である．*RNF213(RING finger protein 213)*はもやもや病の疾患感受性遺伝子として同定され，日本人もやもや病患者の約 80-90%が 4810 番目のアルギニンがリシンに置換される p.R4810K 変異を有することが明らかとなったが, RNF213 の詳細な機能や，もやもや病の病態形成への関与は不明である．我々が報告した非免疫細胞における慢性炎症増幅機構である『IL-6 アンプ (炎症回路)』と RNF213 との関連について検討した．

【対象と方法】未破裂脳動脈瘤患者，内頸動脈狭窄の患者, p.R4810K 変異を有するもやもや病患者の手術検体から側頭筋やくも膜由来の細胞を SV40 (simian vacuolating virus 40)遺伝子導入にて不死化し，これらに IL-6 アンプを誘導する IL-6 と Tumor necrosing factor-α (TNF-α)の同時刺激を行った．これにより誘導される IL-6 や各種ケモカインの messenger RNA (mRNA)発現を quantitative real- time polymerase chain reaction (qPCR)法で解析した．また, shRNA (short hairpin RNA)を用いて RNF213 のノックダウン細胞を作出し，同様に IL-6, TNF-α の同時刺激を行って IL-6 mRNA の発現を評価した．さらに，野生型 RNF213 や p.R4810K 変異 RNF213 の complementary DNA (cDNA)を導入したプラスミドで過剰発現系を構築し, NF- κB p65 response element や IL-6 プロモーターを用いてレポーター活性を測定した. IL-6 アンプは非免疫細胞での NF-kB 過剰活性化機構であることから，次に,RNF213 を過剰発現させた HEK293T 細胞を用い，免疫沈降法によって RNF213 と相互作用する NF-kB 関連分子の探索を行うとともに，分子の結合部位の特定を行った．

【結果】*RNF213* p.R4810K 変異を有するもやもや病患者由来の細胞において，有意に IL-6 アンプの亢進がみられた. siRNA 法により RNF213 のノックダウンを行った細胞では IL-6, TNF-α の共刺激を加えても IL-6 mRNA 発現が抑制された．一方で, RNF213 を過剰発現させた細胞においては p.R4810K 変異 RNF213 の導入と TNF-α 刺激により NF- κB p65 response element の活性が著明に上昇した. RNF213 を過剰発現させた細胞を用いた免疫沈降法により, RNF213 および p.R4810K 変異 RNF213 は TNF 受容体複合体を形成する主要な分子である TRAF2 および TRADD と結合することが示唆された.さらに，野生型 RNF213 に比べて p.R4810K 変異 RNF213 は TRAF2 分子により強く結合することが示唆された．

【考察】p.R4810K 変異 RNF213 は非免疫細胞において TRAF2 との相互作用がより強かったため, TNF 受容体複合体からの信号を増強することにより, NF- κB 経路を活性化させて IL-6 アンプの亢進に関与していることが明らかとなった．

【結論】*RNF213* p.R4810K 変異は局所における IL-6 アンプの亢進を通してもやもや病の発症に関与する可能性がある．

＜第二章：SARS-CoV-2 mRNA ワクチン接種後の抗リン脂質抗体価の変動に関する検討＞

【背景と目的】抗リン脂質抗体症候群 (antiphospholipid syndrome : APS)は病原性自己抗体である抗リン脂質抗体 (antiphospholipid antibodies: aPLs)の存在下でおこる自己免疫性血栓症ならびに妊娠合併症であるが, 病態形成の詳細な機構については不明な点が多い. 一方, 新型コロナウイルス感染症（COVID-19; coronavirus infectious disease）の重症例では血栓傾向を呈し, 一部の症例において aPL が検出される. ワクチン接種と抗リン脂質抗体および血栓症との関連を明らかにするため, APS, 全身性エリテマトーデス(SLE)患者および健常者(HC)における SARS-CoV-2（severe acute respiratory syndrome coronavirus 2）mRNA ワクチン接種前後の抗リン脂質抗体(aPL)価の変動について検討した.

【対象と方法】原発性 APS(PAPS), SLE 合併 APS (SLE/APS), 抗リン脂質抗体陽性 SLE (SLE/aPL+), aPL 陰性 SLE(SLE/aPL-), 健常人（HC）を対象にワクチン接種前後の血清抗カルジオリピン抗体(aCL), 抗 β_2GPI（β_2 glycoprotein I antibody）抗体(aβ_2GPI), ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体（aPS/PT）の IgG, IgM を測定し, ワクチン接種後に新規に aPL が出現するかについて, および有意に上昇する aPL がみられるかについて解析した. また, 患者群において mRNA ワクチン接種前後の抗 SARS-CoV-2 抗体(S-IgG)価の推移を測定, 評価した. ワクチン接種後, 血栓症発症の有無を 3 か月間観察した.

【結果】患者 118 例（aPL 陽性群：PAPS 19 例, SLE/APS 25 例, SLE/aPL+ 35 例, SLE/aPL- 39 例）と HC 670 例が研究に参加した. SARS-CoV-2 mRNA ワクチン 2 回接種後に患者の 77.1%が抗 S-IgG 抗体陽性となり, ワクチン接種前と比較して有意な上昇を認めた. ワクチン接種後の aβ_2GPI IgG と aPS/PT IgG の新規陽性率については aPL 陽性群で aPL 陰性群および HC 群と比較して有意に高かった. aPL 陽性群では, aCL IgG, aβ_2GPI IgG および aPS/PT IgG の顕著な上昇が観察された例があった. 観察期間中に血栓症の新規発症はみられなかった.

【考察】ワクチン接種前に何らかの aPL を有している APS 患者や SLE 患者において, mRNA ワクチンは aPL 産生の引き金となる可能性を有し, 特に aβ_2GPI IgG と aPS/PT IgG という血栓症発症と強く関連する aPL を誘導する可能性があるため, 十分な観察を行うことが求められる.

【結論】mRNA ワクチンは aPL 陽性患者において新規の aPL を誘導し, aPL 抗体価を変動させる可能性が示唆された.