

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 免疫アレルギー疾患等実用化研究事業 (免疫アレルギー疾患実用化研究分野)
(英語) Practical Research Project for Allergic Diseases and Immunology
(Research on Allergic Diseases and Immunology)

研究開発課題名： (日本語) ミスフォールド蛋白質/HLA クラスII複合体を標的にした自己免疫疾患の
新たな治療法の開発
(英語) Development of new therapy for autoimmune diseases by targeting
misfolded protein / HLA class II complex

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人大阪大学微生物病研究所・教授・荒瀬 尚
所属 役職 氏名： (英語) Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University・
Professor・Hisashi Arase

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) SLE等の全身性自己免疫疾患におけるミスフォールド蛋白質/HLA クラス
開発課題名： II複合体の解析
(英語) Analysis of misfolded protein/HLA class II complex in systemic
autoimmune diseases like SLE

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科・教授・熊ノ郷 淳
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Medicine, Osaka University・
Professor・Atsushi Kumanogoh

分担研究 (日本語) 白斑・天疱瘡等の皮膚自己免疫疾患におけるミスフォールド蛋白質/HLA
開発課題名： クラスII複合体の解析
(英語) Analysis of misfolded protein/HLA class II complex in dermatological
autoimmune diseases like pemphigus

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科・教授・片山 一朗
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Medicine, Osaka University・
Professor・Ichiro Katayama

分担研究 (日本語) 関節リウマチ等の臓器特異的自己免疫疾患におけるミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 複合体の解析
開発課題名: (英語) Analysis of misfolded protein/HLA class II complex in tissue specific autoimmune diseases like rheumatoid arthritis
研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人京都大学大学院医学研究科・准教授・大村 浩一郎
所属 役職 氏名: (英語) Kyoto University Graduate School of Medicine ・ Associate Professor ・ Koichiro Ohmura

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

特定の HLA クラス II アリルは、関節リウマチをはじめ多くの自己免疫疾患の感受性に強い影響を与える。従って、HLA クラス II 分子がどのように疾患発症に関与しているかを解明することで、HLA クラス II 分子を標的に新たな治療法の開発が可能になると考えられる。我々は、HLA クラス II 分子による自己免疫疾患発症の分子機構として、ミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 分子複合体が関与していることを明らかにしてきた。つまり、疾患感受性アリルの HLA クラス II に会合した細胞内のミスフォールド蛋白質が自己抗体の標的分子として、発症に関与していると思われる。そこで、本研究では、ミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 複合体による自己免疫疾患の新たな発症機構の解明とその修復法の開発を目的として研究を進めてきた。本研究では、種々の自己免疫疾患の検体を用いて、それらの疾患で産生される自己抗体の標的になるミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 分子複合体を解析し、ミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 複合体がどのように自己免疫疾患の発症に関わっているかを解明し、新たな自己免疫疾患の治療法の開発を目的とした。そこで、熊ノ郷教授 (大阪大学・大学院医学研究科・呼吸器免疫アレルギー内科学)、片山教授 (大阪大学・大学院医学研究科・皮膚科学)、大村准教授 (京都大学・大学院医学研究科・臨床免疫学) らのグループと共同で、ミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 複合体がどのように自己免疫疾患の発症に関わっているかの解明とその制御法の開発を行った。特に、ミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 分子複合体を介した自己免疫疾患の新たなモデル動物の作成、および、ミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 分子複合体を阻害する方法の開発を実施した。その結果、ミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 分子複合体は関節リウマチばかりでなく、抗リン脂質抗体症候群の自己抗体の標的にもなっていることが判明してきた。特に、通常の検査方法では、検出できない自己抗体も β 2 グライコプロテイン/HLA クラス II 分子複合体を用いることで、検出できるようになることが判明した。さらに、特定の自己抗体が検出されず、原因が不明の難治性皮膚潰瘍患者さんの血清抗体を β 2 グライコプロテイン/HLA クラス II 分子複合体で解析すると、約 30% の患者さんに自己抗体が存在することが判明し、難治性皮膚潰瘍に抗リン脂質抗体症候群が関与している可能性が明らかになった。また、その他の自己免疫疾患にもミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 複合体が関与している可能性が明らかになってきた。一方、ミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 複合体の形成を阻害する化合物のスクリーニングを実施したところ、いくつかの候補化合物を同定できた。今後、これらの化合物が自己免疫疾患の治療薬として有効かを、マウスモデル等を用いてさらに解析していく予定である。

Specific HLA class II alleles are strongly associated with susceptibility to many autoimmune diseases. Therefore, it is important to elucidate how HLA class II molecules are involved in the autoimmune diseases. Furthermore, this will enable us to develop a method to control autoimmune diseases. We have recently found that misfolded proteins associated with HLA class II molecules are involved in the pathogenesis of autoimmune diseases. Namely, misfolded proteins associated with HLA class II molecules with disease-susceptible alleles are involved in autoimmune diseases as an autoantibody targets. Based on this information, we are studying to understand the mechanism of autoimmune diseases and to develop a new treatment for autoimmune diseases by targeting misfolded protein / HLA class II complex. In this study, we analyzed autoantibodies from various autoimmune diseases and analyzed the role of misfolded protein/HLA class II complex in autoantibody production. Finally, we are developing a new treatment for autoimmune diseases by targeting misfolded protein / MHC class II complex. In collaboration with Professor Kumanogoh (Osaka University, graduate school of medicine), Professor Katayama (Osaka University, graduate school of medicine), Professor Ohmura (Kyoto University, graduate school of medicine), we analyzed misfolded protein / HLA class II complex in autoimmune diseases. Especially, we are developing a new animal model of autoimmune diseases using misfolded protein / HLA class II complex and a method to control misfolded protein / HLA class II complex. Accordingly, we found that misfolded protein / HLA class II complex is involved not only in rheumatoid arthritis but also in antiphospholipid syndrome. Especially, autoantibodies that cannot be detected using general laboratory test was detected using β 2-glycoprotein / HLA class II complex. In addition, we found that autoantibodies against β 2-glycoprotein / HLA class II complex can be detected in the patients with refractory ulcers whose autoantibodies were not detected using general laboratory test. Furthermore, misfolded protein / HLA class II complex was found to be involved in other autoimmune diseases. On the other hand, we could find novel chemical compounds that block the formation of misfolded protein HLA class II complex from the screening of chemical libraries. We will further analyze these novel compounds using animal model of autoimmune diseases.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 10 件)

1. Establishment of a Therapeutic Anti-Pan HLA-Class II Monoclonal Antibody That Directly Induces Lymphoma Cell Death via Large Pore Formation. Matsuoka S, Ishii Y, Nakao A, Abe M, Ohtsuji N, Momose S, Jin H, Arase H, Sugimoto K, Nakauchi Y, Masutani H, Maeda M, Yagita H, Komatsu N, Hino O. *PLoS One*. 2016, 11, e0150496.
2. Microbially cleaved immunoglobulins are sensed by the innate immune receptor LILRA2. Hirayasu K, Saito F, Suenaga T, Shida K, Arase N, Oikawa K, Yamaoka T, Murota H, Chibana H, Nakagawa I, Kubori T, Nagai H, Nakamaru Y, Katayama I, Colonna M, Arase H. *Nat. Microbiol.* 2016, 1, 16054.

3. The effect of rhododendrol inhibition of NF- κ B on melanocytes in the presence of tyrosinase. Arase N, Yang L, Tanemura A, Yang F, Suenaga T, Arase H, Katayama I. *J. Dermatol. Sci.* 2016, 83, 157-159.
4. Contribution of a Non-classical HLA Gene, HLA-DOA, to the Risk of Rheumatoid Arthritis. Okada Y, Suzuki A, Ikari K, Terao C, Kochi Y, Ohmura K, Higasa K, Akiyama M, Ashikawa K, Kanai M, Hirata J, Suita N, Teo YY, Xu H, Bae SC, Takahashi A, Momozawa Y, Matsuda K, Momohara S, Taniguchi A, Yamada R, Mimori T, Kubo M, Brown MA, Raychaudhuri S, Matsuda F, Yamanaka H, Kamatani Y, Yamamoto K. *Am. J. Hum. Genet.* 2016. 99: 366-374.
5. Misfolded proteins complexed with MHC class II molecules are targets for autoantibodies. Hiwa R, Arase H. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi.* 2016, 39, 78-83.
6. Rapid Screening by Cell-Based Fusion Assay for Identifying Novel Antivirals of Glycoprotein B-Mediated Herpes Simplex Virus Type 1 Infection. Maeda N, Furukawa A, Kakita K, Anada M, Hashimoto S, Matsunaga S, Kuroki K, Ose T, Kato A, Arii J, Kawaguchi Y, Arase H, Maenaka K. *Biol. Pharm. Bull.* 2016, 39, 1897-1902.
7. Differences in Predictive Factors for Sustained Clinical Remission with Abatacept Between Younger and Elderly Patients with Biologic-naïve Rheumatoid Arthritis: Results from the ABROAD Study. Sekiguchi M, Fujii T, Matsui K, Murakami K, Morita S, Ohmura K, Kawahito Y, Nishimoto N, Mimori T, Sano H; ABROAD Study Investigators, *J. Rheumatol.* 2016. 43: 1974-1983.
8. Cell-contact-dependent activation of CD4⁺ T cells by adhesion molecules on synovial fibroblasts. Mori M, Hashimoto M, Matsuo T, Fujii T, Furu M, Ito H, Yoshitomi H, Hirose J, Ito Y, Akizuki S, Nakashima R, Imura Y, Yukawa N, Yoshifuji H, Ohmura K, Mimori T. *Mod. Rheumatol.* 2016. 13:1-9.
9. Splicing factor proline/glutamine-rich is a novel autoantigen of dermatomyositis and associated with anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody. Hosono Y, Nakashima R, Serada S, Murakami K, Imura Y, Yoshifuji H, Ohmura K, Naka T, Mimori T. *J. Autoimmun.* 2017. 77:116-122.
10. Novel autoantibody against the β 2-glycoprotein I/HLA-DR complex in patients with refractory cutaneous ulcers. Arase N, Tanimura K, Jin H, Yamaoka T, Kishibe M, Nishioka M, Kiyohara E, Tani M, Matsuoka S, Ohmura K, Takasugi K, Yamamoto T, Murota H, Arase H, Katayama I. *Br. J. Dermatol.* 2017. in press

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ミスフォールド蛋白質/HLA クラスII 複合体を介した新たな自己免疫疾患発症機構, 口頭, 荒瀬尚, 第1回高知リウマチ・膠原病・皮膚フォーラム, 2016/4/13, 国内
2. HLA-DRB1 analysis utilizing consecutive rheumatoid factor (RF) identified a genetically unique subset among rheumatoid arthritis and distinct genetic background of RF levels from anti-cyclic citrullinated

- peptide antibodies. Hiwa R, Ohmura K, Mimori T et al. 第 60 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2016/4/21, 国内
3. MPO/MHC class II 複合体は顕微鏡的多発血管炎における自己抗体の標的である, 口頭, 日和良介, 荒瀬尚, 第 26 回 Kyoto T cell Conference, 2016/5/20, 国内
 4. 細胞内 MHC クラス II 拘束性抗原の提示における EpsinR の機能, 口頭, 穴戸達也, 荒瀬尚, 第 26 回 Kyoto T cell Conference, 2016/5/20, 国内
 5. Anti- β 2-Glycoprotein-I/HLA class II Complex Antibodies in APS, 口頭, Hisashi Arase, 15th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, 2016/9/24, 国外
 6. MHC クラス II 分子による自己抗原のネオ・セルフ化を介した新たな自己免疫疾患発症機構, 口頭, 荒瀬尚, 第 28 回日本神経免疫学会学術集会, 2016/9/29, 国内
 7. MHC class II-associated neo-self antigens are novel targets for autoantibodies, 口頭, Hisashi Arase, IWAA 2016, 2016/10/11, 国内
 8. Neo-self IgG/HLA-DR complexes are involved in RA susceptibility as autoantibody targets, 口頭, Hui Jin, IWAA 2016, 2016/10/11, 国内
 9. Myeloperoxidase/HLA class II complexes as targets for autoantibodies in microscopic polyangiitis, ポスター, Ryosuke Hiwa, IWAA 2016, 2016/10/12, 国内
 10. β 2-glycoprotein I / HLA class II complexes are novel autoantigens in antiphospholipid syndrome, 口頭, Kenji Tanimura, IWAA 2016, 2016/10/12, 国内
 11. MHC クラス II 分子による自己抗原のネオ・セルフ化を介した新たな自己免疫疾患発症機構, 口頭, 荒瀬尚, 第 26 回日本小児リウマチ学会総会・学術集会, 2016/10/22, 国内
 12. MHC クラス II 分子による自己抗原のネオ・セルフ化と自己免疫疾患, 口頭, 荒瀬尚, 第 25 回日本組織適合性学会大会, 2016/10/24, 国内
 13. HLA クラス I 認識受容体群 LILR の新展開 - 病原微生物によって壊された抗体を認識する生体防御機構 -, 口頭, 平安恒幸, 齋藤史路, 末永忠広, 信田京子, 荒瀬規子, 及川敬太, 山岡俊文, 室田浩之, 知花博治, 中川一路, 久堀智子, 永井宏樹, 中丸裕爾, 片山一朗, Marco Colonna, 荒瀬尚, 第 25 回日本組織適合性学会大会, 2016/10/24, 国内
 14. 自己抗原のネオセルフ化による新たな自己免疫疾患発症機構, 口頭, 荒瀬尚, 第 16 回難治性免疫疾患先端治療開発研究会, 2016/11/25, 国内
 15. 自己抗原のネオセルフ化による新たな免疫疾患発症機構, 口頭, 荒瀬尚, SCIENTIFIC EXCHANGE MEETING IN NIIGATA, 2016/11/26, 国内
 16. Autoantibodies against neo-self β 2-glycoprotein I / HLA-DR complex, 口頭, N. Arase, H. Jin, K Tanimura, T. Yamaoka, S. Matsuoka, M. Nishioka, E. Kiyohara, M. Tani, K. Ohmura, K. Takasugi, H. Murota, I. Katayama, H. Arase, 第 45 日本免疫学会学術集会, 2016/12/5, 国内
 17. Induction of autoantibody by neo-self TSH receptor / MHC class II complexes, 口頭, Hui Jin, Noriko Arase, Sumiko Matsuoka, Kouyuki Hirayasu, Masako Kohyama, Tadahiro Suenaga, Takehiko Sasazuki and Hisashi Arase, 第 45 日本免疫学会学術集会, 2016/12/6, 国内
 18. Immunological analysis of the patients with vitiligo vulgaris and rhododendronl-induced leukoderma, 口頭, Noriko Arase, Atsushi Tanemura, Lingli Yang, Hui Jin, Megumi Nishioka, Fei Yang, Yumi Aoyama, Tadahiro Suenaga, Hisashi Arase, Ichiro Katayama 日本研究皮膚科学会 第 41 回年次学術大会・総会, 2016/12/9, 国内

19. 異所性 MHC クラス II 発現によるネオセルフの生成と自己免疫疾患, 口頭, 荒瀬尚, 第 3 回病因研究会別府シンポジウム, 2017/3/4, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
特記事項なし

(4) 特許出願
特記事項なし