

カテプシン C 阻害剤の血管炎治療効果を証明

～ANCA 関連血管炎の新規治療薬として期待～

ポイント

- ・ カテプシン C 阻害剤がラット ANCA 関連血管炎モデルの病変を改善。
- ・ カテプシン C 阻害により、ANCA 関連血管炎モデル内で生じる病因物質 NETs が減少。
- ・ NETs が病因となる様々な疾患に対する新規治療開発の進展に期待。

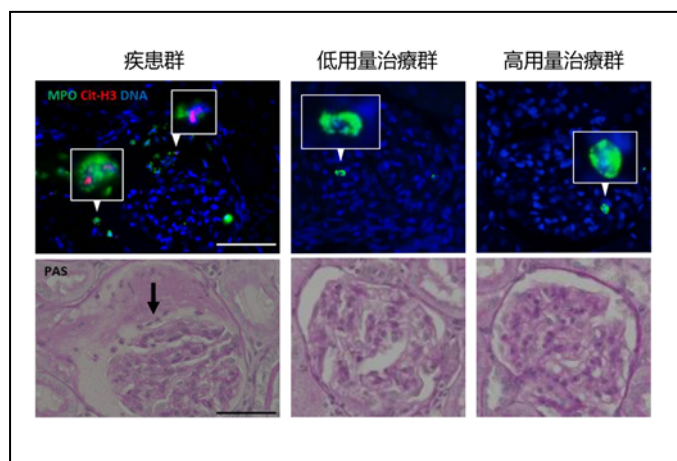
概要

北海道大学大学院保健科学研究院の西端友香助教、益田紗季子講師、石津明洋教授らとアリヴェクス株式会社の共同研究グループは、NSP^{*1} の成熟を司るカテプシン C の作用を阻害することにより、NETs^{*2} の形成が抑制され、NETs が病因となっている ANCA^{*3} 関連血管炎を改善することを、動物モデルを用いて初めて示しました。

NETs の形成には成熟した NSP の働きが必須であることから、研究グループは、カテプシン C の酵素活性を阻害することで NSP の成熟が妨げられ、病因である NETs が形成されなくなることによって ANCA 関連血管炎が改善する、という仮説を立てました。本研究では、ANCA の産生とともに ANCA 関連血管炎を発症する動物モデルを作製し、この動物モデルにカテプシン C 阻害剤を経口投与しました。本研究で使用したカテプシン C 阻害剤はアリヴェクス株式会社において開発された新規化合物であり、カテプシン C に対する高い特異性と阻害活性を有しています。

カテプシン C 阻害剤を投与された動物モデルでは、末梢血中に検出される NETs 形成好中球や腎臓に沈着する NETs が激減し、臨床像としても見られる腎糸球体障害並びに肺出血が軽減しました。本研究の成果は、ANCA 関連血管炎をはじめ NETs が病因となっている種々の疾患に対し、カテプシン C 阻害が有効な治療戦略となることを示しています。

なお、本研究成果は、2024 年 8 月 22 日（木）午後 6 時公開の Nature Communications 誌に掲載されました。



ANCA 関連血管炎動物モデルの腎糸球体病変とカテプシン C 阻害剤による改善効果。

疾患群の糸球体には、NETs マーカーである Cit-H3^{*4}（赤）が陽性となる好中球（緑）が観察され、糸球体毛細血管が破れて（↓）ポウマン囊内に血液成分が浸出している。

低用量治療群と高用量治療群に浸潤する好中球に NETs マーカーである Cit-H3 は観察されず、糸球体は正常形態を保っている。

Bar, 50 μm

【背景】

ANCA 関連血管炎は好中球細胞質抗原に対する自己抗体 ANCA の出現に伴って発症する全身性小血管炎で、高齢者に多く、急速に悪化する腎機能障害や肺出血などを特徴とする疾患です。厚生労働省が指定する難病の一つであり、2020 年における特定医療費の受給者は約 2 万人で、その数は年々増加しています。副腎皮質ステロイドやシクロホスファミドなどの免疫抑制剤、CD20 分子に結合するリツキシマブや補体 C5a 受容体に結合して C5a に拮抗するアバコパンなどの分子標的治療薬の有効性が確認されており、一定の治療効果が得られていますが、これら治療への不応例や治療後に再燃する例があり、新たな治療薬の開発が強く求められています。また、既存の治療薬には免疫力の低下をきたす副作用があり、治療に関連した感染症の併発は解決すべき大きな課題となっています。

NETs は病原微生物の生体内への侵入を受けて好中球が細胞外に放出する DNA 複合体で、好中球が細胞質に保有する殺菌酵素を纏っています。好中球から放出された NETs は DNA で病原微生物を絡めとり、殺菌酵素を浴びせて病原微生物を殺傷します。NETs は生体にとって重要な感染防御機構ですが、過剰に形成されると生体にとって不利益をもたらすことも知られています。ANCA 関連血管炎では、ANCA が好中球に結合することによって好中球から NETs が過剰に放出され、これが病原微生物を殺傷する代わりに自身の血管内膜を損傷することによって血管炎が発症します（図 1）。

NSP は好中球が保有する一群の酵素で、好中球エラスターゼやプロテイナーゼ 3、カテプシン G などが含まれます。各種の NSP に共通した活性化機構として、骨髄において好中球が分化する過程で、未熟型（非活性型）NSP の N 末端側の二つのペプチドが切断され、成熟型（活性型）に変化することが知られています。成熟型（活性型）の好中球エラスターゼは、NETs の形成において重要な役割を果たしています（図 1）。

カテプシン C は骨髄における好中球の分化過程で作用し、未熟型（非活性型）NSP の N 末端側の二つのペプチドを切断し、成熟型（活性型）に変換する酵素です（図 1）。

【研究手法】

まず、生後 4 週齢の雄性 Wistar Kyoto ラット 24 匹に対し、既報どおり、好中球に対する自己抗体の抗原となり得るヒト由来 MPO を免疫し、ANCA 関連血管炎動物モデルを作製しました。

次に、上記ラットを 8 匹ずつ 3 群（疾患群、低用量治療群、高用量治療群）に分け、低用量治療群には MOD06051 を 0.3 mg/kg、高用量治療群には MOD06051 を 3 mg/kg、1 日 2 回連日経口投与しました。疾患群には同量の溶媒を 1 日 2 回経口投与しています。投与期間はモデル作製日から 42 日間とし、42 日目に全個体からサンプリングを行いました。

そして、血清中の ANCA 抗体価（酵素結合免疫吸着測定法）、血中 NETs 形成好中球（フローサイトメトリー法）、腎組織における NETs 沈着（免疫蛍光法）、腎組織傷害（PAS 染色法）、肺出血（HE 染色法）を評価しました。

【研究成果】

MOD06051 は 9 種類のカテプシンファミリー酵素の中でカテプシン C のみを選択的に阻害し、ラットへの投与後に末梢血のカテプシン C 活性を阻害しました。またヒト造血幹細胞から分化させた好中球や連投後のラットの骨髄由来の好中球の NSP の活性を阻害し、様々な刺激による NETs 形成も阻害しました。

血清中の ANCA 抗体価については、正常ラット 8 匹を陰性対照とすると、疾患群では陰性対照に比べて有意に高い ANCA 抗体価を示しました。MOD06051 投与群では、用量によらず、ANCA 抗体価

は疾患群と同程度に高い値を示しました（図 2a）。

血中 NETs 形成好中球については、正常ラット 8 匹を陰性対照とすると、疾患群では陰性対照に比べて血中好中球の NETs 形成割合が有意に高く、MOD06051 投与群では、用量依存的かつ有意にその割合が減少し、正常レベルまで改善しました（図 2b）。

腎組織における NETs 沈着については、疾患群では糸球体に浸潤する好中球の約 10%が NETs を形成していましたが、MOD06051 投与群では用量依存的かつ有意に腎組織における NETs 沈着が減少しました（図 2c）。

腎組織傷害については、疾患群では約 10%の糸球体に病変が認められましたが、MOD06051 投与群では傷害されている糸球体の割合が有意に減少しました（図 2d）。

肺出血については、MOD06051 の用量依存的に肺出血が減少し、高用量投与群では疾患群に比べて有意に改善しました（図 2e）。

【今後への期待】

カテプシン C 阻害剤は、ANCA 関連血管炎の新規治療薬候補です。本研究において ANCA 抗体価への影響が認められなかったことは、抗体産生能すなわち液性免疫能には影響を及ぼさないことを意味しており、幅広い免疫機能を抑制する既存の治療薬とは異なり、免疫力低下を引き起こさない可能性を示しています。

また、カテプシン C を遺伝的に欠損させたマウスでは、好中球の活性酸素放出、接着、遊走、ファゴサイトーシスへの影響が無いことが報告されていることから、好中球の感染防御機能への影響を回避しつつ病態を改善できる可能性が見込まれます。今後、MOD06051 の臨床試験において、本薬剤の安全性と有効性が確認されることが期待されます。

また、NETs は ANCA 関連血管炎以外にも、敗血症、痛風、糖尿病、全身性エリテマトーデス、関節リウマチなど様々な疾患の病因ともなっていることが知られています。そのため、カテプシン C 阻害は、これら NETs が病因として関与する種々の疾患に対しても有効な治療戦略となる可能性が期待されます。

【謝辞】

本研究は、JSPS 科研費（JP21H0295802）の助成を受けたものです。

論文情報

論文名 Cathepsin C inhibition reduces neutrophil serine protease activity and improves activated neutrophil-mediated disorders (カテプシン C 阻害は好中球セリンプロテアーゼの作用を抑制し活性化好中球が関与する疾患を改善する)

著者名 西端友香¹、荒井粋心¹、谷口 舞¹、中出一生¹、小川帆貴¹、北野翔大¹、細井夢花¹、進藤綾乃¹、西山 遼¹、益田紗季子¹、中沢大悟²、外丸詩野³、清水喬史⁴、William Sinko⁴、長倉 延⁴、寺田 央⁴、石津明洋¹ (¹北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学分野、²北海道大学大学院医学研究院免疫・代謝内科学教室、³北海道大学病院病理部／病理診断科、⁴アリヴェクシス株式会社)

雑誌名 Nature Communications (自然科学の専門誌)

D O I 10.1038/s41467-024-50747-6

公表日 2024 年 8 月 22 日 (木) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院保健科学研究院 教授 石津明洋 (いしづあきひろ)

T E L 011-706-3385 F A X 011-706-4916 メール aishizu@med.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.p-i-labo-hs-hokudai.jp>

アリヴェクシス株式会社研究開発部

T E L 03-6868-4547 メール info@alivexis.com

U R L <https://alivexis.com>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

アリヴェクシス株式会社経営管理部 (〒105-0004 港区新橋1丁目18-21 第一日比谷ビル7階)

T E L 03-6868-4547 メール info@alivexis.com

【参考図】

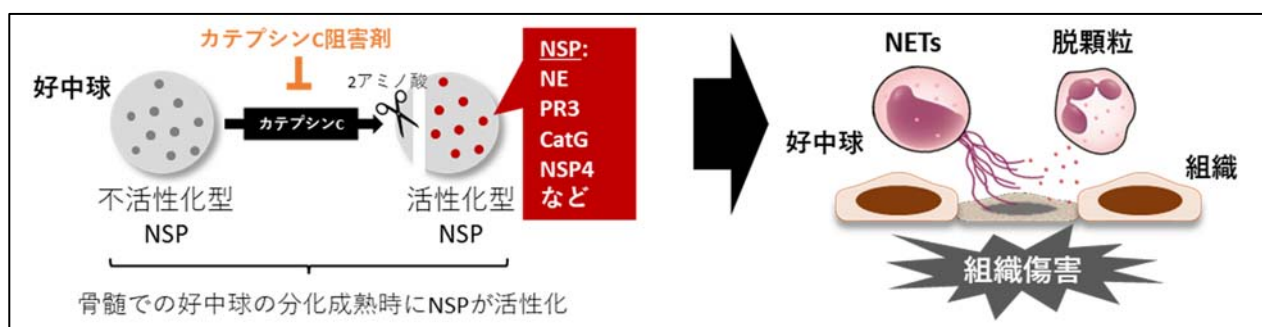


図 1. 好中球による組織傷害に対するカテプシン C 阻害剤の作用メカニズム。

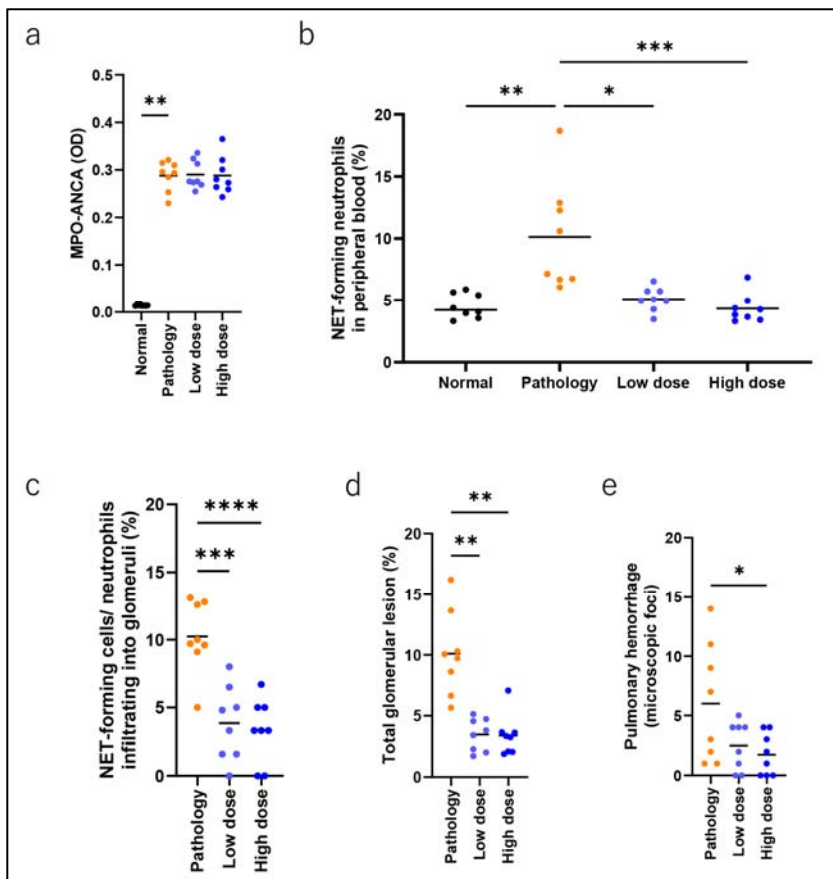


図 2. カテプシン C 阻害剤による ANCA 関連血管炎治療効果。

(a) 血清中の ANCA 抗体価。(b) 血中 NETs 形成好中球の割合。好中球のうち、NETs 形成を示す好中球の割合を示している。(c) 腎組織における NETs 沈着。糸球体に浸潤する好中球のうち、NETs 形成を示す好中球の割合を示している。(d) 腎組織傷害。傷害されている糸球体の割合を示している。

(e) 肺出血。顕微鏡下で観察される肺出血病巣数を示している。Normal (正常群)、Pathology (疾患群)、Low dose (低用量治療群)、High dose (高用量治療群)。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

【用語解説】

- * 1 NSP … Neutrophil Serine Protease (好中球セリンプロテアーゼ) のこと。好中球が保有する一群の酵素で、好中球エラスターゼやプロテイナーゼ 3、カテプシン G などが含まれる。
- * 2 NETs … Neutrophil Extracellular Traps (好中球細胞外トラップ) のこと。病原微生物の生体内への侵入を受けて好中球から放出され、放出された NETs は病原微生物を殺傷する。一方、ANCA 関連血管炎では、ANCA が結合することで好中球から NETs が放出され、放出された NETs は病原微生物を殺傷する代わりに自身の血管内膜を損傷するため、血管が炎症を起こす。
- * 3 ANCA … Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody (抗好中球細胞質抗体) のこと。好中球の細胞質に存在するミエロペルオキシダーゼやプロテイナーゼ 3 に結合する自己抗体であり、病原性を有する。
- * 4 Cit-H3 … Citrullinated Histone H3 (シトルリン化ヒストン H3) のこと。NETs が形成される過程で、DNA を巻き付けているヒストン H3 がシトルリン化を受ける。シトルリン化によりヒストン H3 の構造が変化し、DNA の巻きほどきが生じる。Cit-H3 が存在することが NETs 形成の指標となる。