

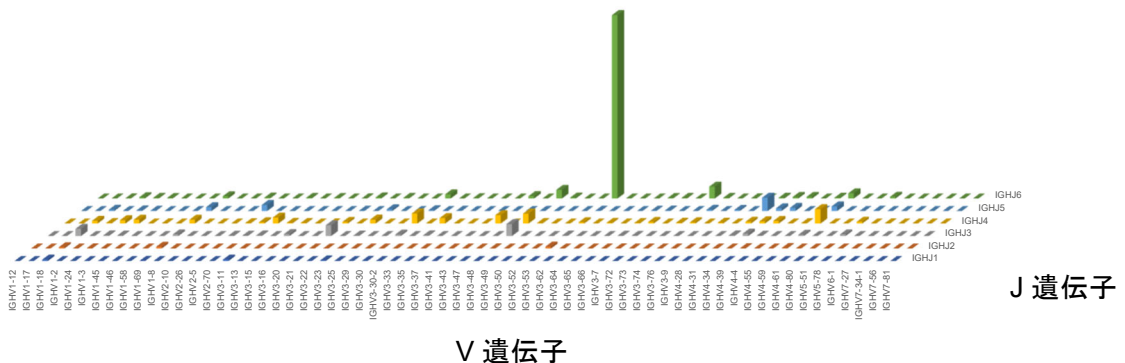
報道発表 Press Release

2024年10月9日
 信州大学
 金沢大学
 東京大学
 秋田大学
 杏林大学
 NTT 東日本関東病院

指定難病 間質性膀胱炎（ハンナ型）の B 細胞異常発生メカニズムを解明
 ——浸潤 B 細胞のクローン性拡大に関する因子を同定——

発表のポイント

- ◆ 間質性膀胱炎（ハンナ型）^(注1) は原因不明の指定難病であり、その成因はこれまで良く分かっていませんでした。本研究では、浸潤 B 細胞抗原受容体の免疫ゲノム解析^(注2) を実施し、間質性膀胱炎（ハンナ型）では、浸潤している B 細胞^(注3) のクローン性拡大が起きていることを初めて同定しました。
- ◆ さらに、遺伝子発現解析と組み合わせることで、APRIL と BAFF^(注4) と呼ばれる分子がクローンの拡大と相関していることを明らかにし、これらが間質性膀胱炎の成因に深く関与している可能性を見出しました。
- ◆ 間質性膀胱炎（ハンナ型）には確立された診断基準や根治治療が存在しないため、この研究成果は病態の解明、バイオマーカーの開発、そして将来的には新規治療の開発に寄与する可能性が高いと期待されます。



間質性膀胱炎（ハンナ型）の B 細胞抗原受容体レパトア解析
 免疫グロブリン（IgG）の V 遺伝子と J 遺伝子の組み合わせの頻度

発表概要

信州大学学術研究院医学系 泌尿器科学教室・同医学部附属病院・泌尿器科の秋山佳之教授、金沢大学医薬保健研究域医学系・分子細胞病理学の前田大地教授と堀江真史准教授、東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科の久米春喜教授、田口慧講師、秋田大学大学院医学系研究科・器官病態学の後藤明輝教授らの研究グループは、原因不明で確立された診断方法や治療法のない指定難病である間質性膀胱炎（ハンナ型）に関するB細胞抗原受容体免疫ゲノム解析を行い、膀胱組織へ浸潤しているB細胞のクローン性拡大が起きていることを世界で初めて明らかにしました。さらに、RNA シークエンスを用いた遺伝子発現分析との統合解析を行い、このB細胞クローン拡大には APRIL と BAFF という分子が関与している可能性を明らかにしました。これらの分子はB細胞の成熟、生存、増殖、分化に関わっており、既に全身性エリテマトーデス等の自己免疫疾患の治療標的となっています。この研究成果は、間質性膀胱炎（ハンナ型）の病態解明と治療法、バイオマーカーの確立につながる可能性があり、医学の発展に寄与することが期待されます。

本研究成果は科学誌「The Journal of Pathology」（オンライン版：米国東部夏時間10月3日）に掲載されました。

発表内容

〈研究の背景〉

間質性膀胱炎（ハンナ型）は、慢性的な炎症と膀胱粘膜のびらんにより激しい膀胱・尿道痛、頻尿、尿意切迫感などの排尿症状を引き起こし、患者さんの生活の質（Quality of Life）を大きく損ないます。この疾患は国の指定難病になっておりますが、病態機序はほとんど解明されておらず、標準的な診断基準や根治治療は確立されていません。これまで研究グループは形質細胞の浸潤がこの疾患の特徴であることを突き止めてきましたが、より詳細な発症メカニズムは不明でした。

〈研究の内容〉

今回、研究グループは日本人の間質性膀胱炎（ハンナ型）患者の検体を用いて包括的な免疫ゲノム解析を行いました。まずイメージングマスサイトメトリー^{（注5）}と呼ばれる多重免疫染色を行い、形質細胞が上皮へ浸潤していることを確認しました（図1）。さらに37例のRNA シークエンスから約4割の症例において軽鎖制限（κ鎖 16%、λ鎖 22%）が起きていることを突き止めました。

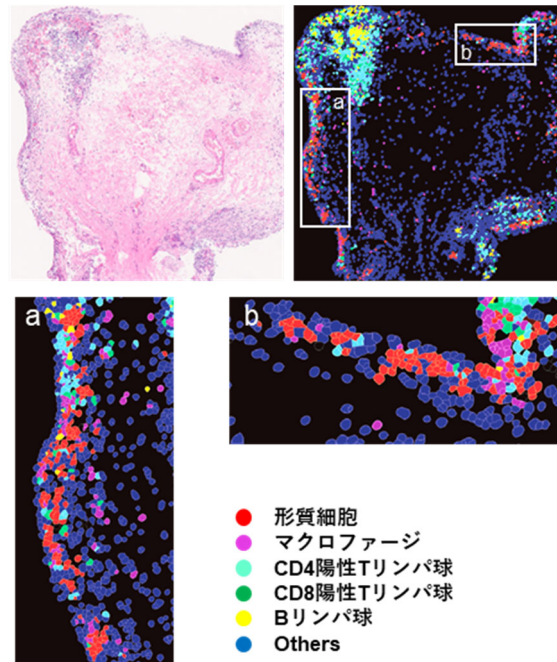


図 1：間質性膀胱炎（ハンナ型）のイメージマスマイトメトリー
 間質性膀胱炎（ハンナ型）における上皮下の形質細胞の浸潤（赤色）を同定した。

そこで B 細胞抗原受容体 (BCR) (注6) のゲノムシーケンスによる BCR レパトア解析 (B 細胞抗原受容体免疫ゲノム解析) を行ったところ、浸潤 B 細胞のクローン性拡大が起きていることを突き止めました (図 2)。さらに RNA シーケンスによる遺伝子発現プロファイルと統合することで、APRIL (遺伝子名: *TNFSF13*) と BAFF (遺伝子名: *TNFSF13B*) という 2 種類のタンパク質が B 細胞のクローンの多様性と強く逆相関しており (図 3)、これらの分子がクローン拡大に寄与している可能性を明らかにしました。

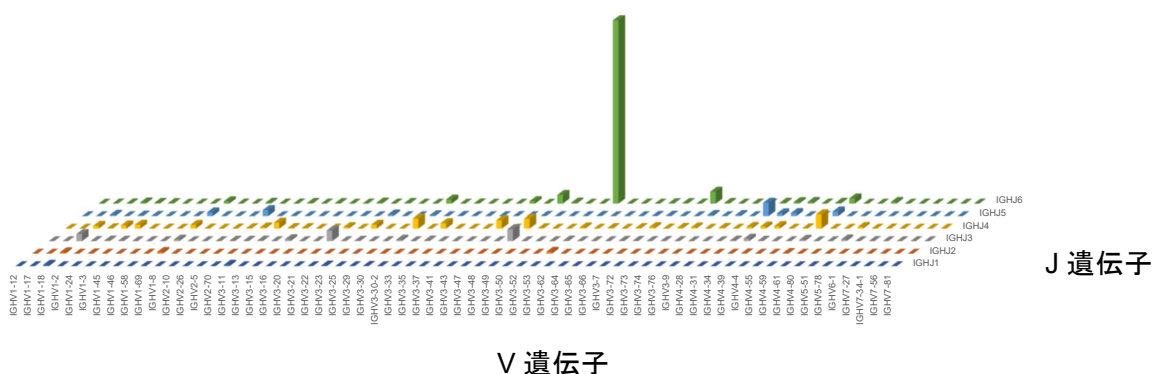


図 2：間質性膀胱炎（ハンナ型）の B 細胞抗原受容体レパトア解析
 免疫グロブリン (IgG) の V 遺伝子と J 遺伝子の組み合わせの頻度
 間質性膀胱炎（ハンナ型）において特定の B 細胞クローンの増殖を認める。

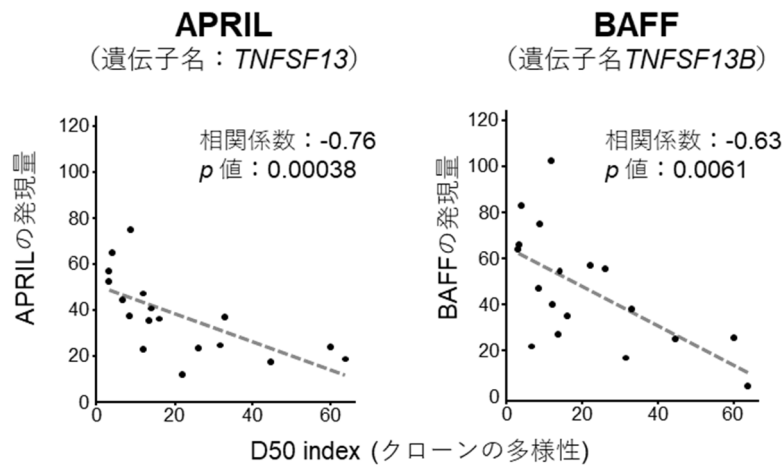


図 3 : 間質性膀胱炎（ハンナ型）の遺伝子発現データとクローンの多様性の相関関係
 間質性膀胱炎（ハンナ型）において RNA シークエンスによる APRIL と BAFF の遺伝子発現データ（縦軸）と D50 index（クローンの多様性の指数：横軸）は強い逆相関を示した。

次に、膀胱全摘出例を対象に 20 か所のマルチプルサンプリングを行い、同一症例の過去の生検検体と合わせて BCR レパトア解析による時・空間的なクローンの広がり と 拡大を評価しました。すると一部の領域では生検時と同じクローンが拡大している一方で、別の箇所では全く異なるクローンが出現・拡大していました。最後にこれらのクローンの広がり と APRIL・BAFF などの遺伝子発現、そして病理学的特徴のパラメータを抽出・統合し、クラスタリング解析を行ったところ、3 群のパターンに分類され、APRIL・BAFF に制御される間質性膀胱炎（ハンナ型）の病態の全貌を明らかにしました。（図 4）

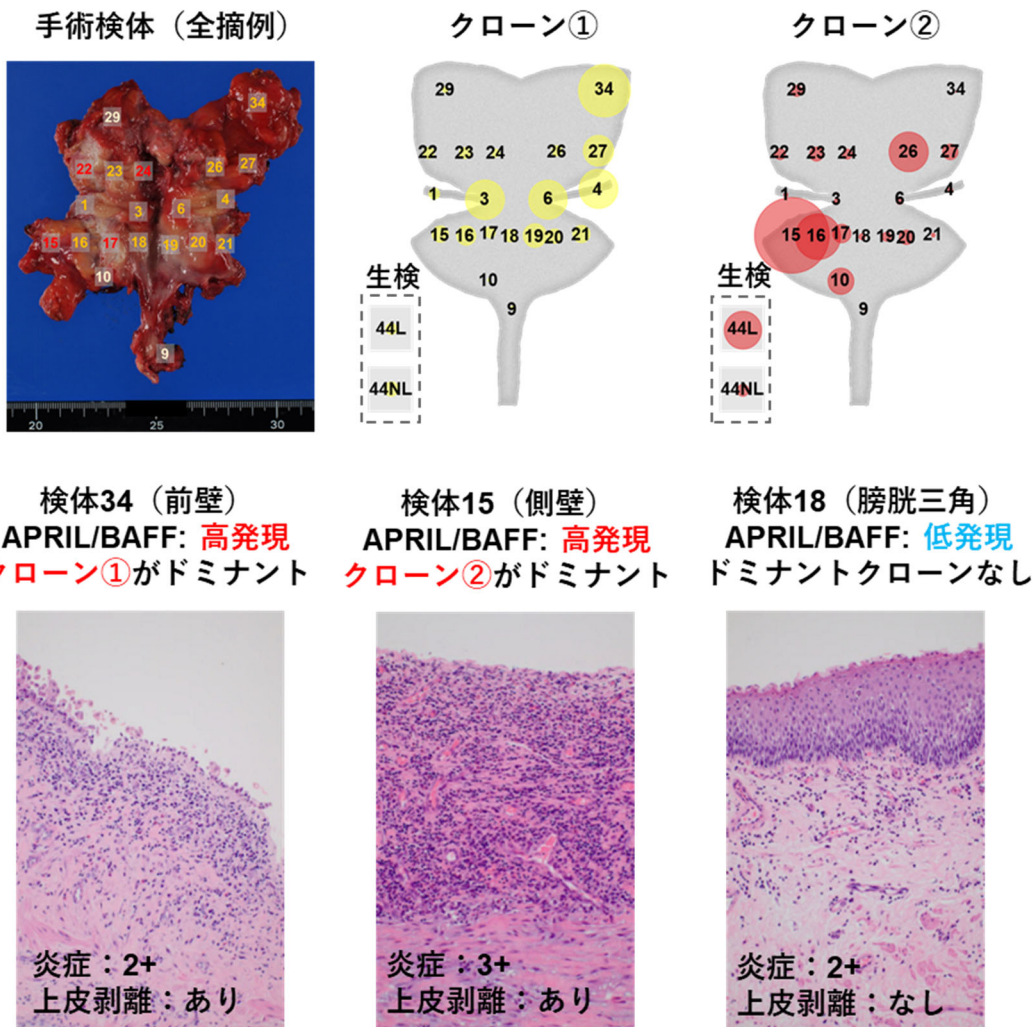


図4：間質性膀胱炎（ハンナ型）の手術全摘例における時・空間的なクローンの広がりと病理学的検討

図上：手術全摘例の20箇所のマルチサンプリング、および生検2箇所（44L；ハンナ病変部、44NL；ハンナ病変以外の背景粘膜）のBCRレパトア解析。円のサイズは検出されたリード数を表す。図下：クラスタリングにより同定された3群の代表例のHE染色像と病理学的評価。

〈今後の展望〉

本研究グループはこれまでに、間質性膀胱炎（ハンナ型）の病理組織学的特徴として、1）B細胞異常、2）膀胱上皮粘膜の剥離、を明らかにしてきましたが、それらの分子生物学的な相互関係については未解明でした。本研究では、免疫ゲノム解析を応用することでそれらがBAFF/APRIL系の生物学的経路によって制御されていることを突き止めました。間質性膀胱炎（ハンナ型）の成因となる免疫ゲノム異常が明らかとなったことにより、その病態の理解が大きく進むことが期待されます。また、将来的には、APRILやBAFFといった分子に注目した、新規診断方法や疾患バイオマーカー、新規治療の開発につながることも期待されます。

発表者

信州大学

学術研究院医学系

泌尿器科学教室

秋山 佳之（教授）〈兼：信州大学医学部附属病院 泌尿器科（科長）〉

金沢大学

医薬保健研究域医学系

分子細胞病理学

前田 大地（教授）

堀江 真史（准教授）

伊藤 行信（助教）

皮膚分子病態学

松下 貴史（教授）

附属病院病理部

水口 敬司（副部長）

東京大学

大学院医学系研究科

泌尿器外科学

久米 春喜（教授）〈兼：東京大学医学部附属病院 泌尿器科・男性科（科長）〉

人体病理学・病理診断学

牛久 哲男（教授）〈兼：東京大学医学部附属病院 病理部（部長）〉

衛生学

石川 俊平（教授）

加藤 洋人（准教授）

医学部

田口 慧（講師）〈兼：東京大学医学部附属病院 泌尿器科・男性科〉

秋田大学

大学院医学系研究科

器官病態学

後藤 明輝（教授）

杏林大学

医学部

間質性膀胱炎医学講座

本間 之夫（特任教授）

NTT 東日本関東病院

泌尿器科

中村 真樹（部長）

論文情報

- 〈雑誌〉 The Journal of Pathology
〈題名〉 APRIL/BAFF Upregulation is Associated with Clonal B-cell Expansion in Hunner-type Interstitial Cystitis
〈著者〉 堀江真史[#]、秋山佳之^{##}、加藤洋人、田口慧、中村真樹、水口敬司、伊藤行信、松下貴史、牛久哲男、石川俊平、後藤明輝、久米春喜、本間之夫、前田大地*
[#]共同筆頭著者
^{*}共同責任著者
〈DOI〉 10.1002/path.635

研究助成

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）難治性疾患実用化研究事業「B細胞クローン動態に着目した間質性膀胱炎（ハンナ型）の治療標的探索」（代表：前田大地）、「ゲノム病態解析を基軸としたハンナ型間質性膀胱炎の診断精度向上と新規治療法開発に関する研究」（代表：秋山佳之）、厚生労働科学研究費補助金難治性疾患政策研究事業「間質性膀胱炎の患者登録と診療ガイドラインに関する研究」（代表：本間之夫）、科研費（22K16788、19K18552）の支援を受けて実施されました。

用語解説

（注1）間質性膀胱炎（ハンナ型）

中年以降の女性に好発し、膀胱（下腹部）や尿道の強い痛みと、頻尿や尿意切迫などの排尿症状をきたす、膀胱の慢性炎症性疾患。免疫の異常が発症に関連していると考えられているが、その詳細は明らかではなく、根治治療も確立されていない。特に、症状の強い重症型は国の指定難病となっており、進行すると膀胱が萎縮して尿が溜められなくなり、膀胱摘出に至ることもある。

（注2）B細胞抗原受容体免疫ゲノム（レパトア）解析

個々のB細胞が持つ抗原受容体の多様性を研究する手法である。B細胞から遺伝情報を含む核酸を抽出し、PCR技術を用いてBCR遺伝子の特定領域を増幅する。さらに次世代シーケンシング技術を用いて増幅された遺伝子領域の配列を決定し、各B細胞クローンのクローナリティ（個々のB細胞がどれだけの頻度で存在するか）や多様性などを分析する。

（注3）B細胞

白血球の成分であるBリンパ球と形質細胞をあわせてB細胞と呼ぶ。白血球は好中球、好酸球、リンパ球（Tリンパ球、Bリンパ球、NK細胞）などから成る。

（注4）APRIL/BAFF

APRIL (a proliferation-inducing ligand) と BAFF (B-cell activating factor) は TNF スーパーファミリーに属するサイトカインで、それぞれ TNFSF13 と TNFSF13B という遺伝子によ

ってコードされる。APRIL は形質細胞への分化や抗体産生に関与し、BAFF は B 細胞の生存と増殖に重要である。これらの分子は、正常な免疫応答を調節するだけでなく、自己免疫疾患や慢性炎症疾患の発生にも関与している。

(注 5) イメージングマスサイトメトリー

蛍光の代わりに重金属でラベルした抗体を用いた免疫染色を行い、質量分析系と組み合わせることで、数十種類の免疫染色を同時に行える次世代型のマルチプレックス免疫組織化学染色技術である。

(注 6) B 細胞抗原受容体

リンパ球抗原受容体は T 細胞および B 細胞の表面に存在し、外来の抗原を認識して抗原特異的な免疫反応を引き起こす分子である。T 細胞と B 細胞はそれぞれ異なるタイプの抗原受容体を持っており、B 細胞抗原受容体 (BCR) は抗体と同じ構造を持っている。リンパ球抗原受容体の多様性は遺伝的な再構成によって生じ、人体が幅広い抗原に対応できるようになっている。

問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

信州大学学術研究院医学系 泌尿器科学教室

教授 秋山 佳之 (あきやま よしゆき)

Tel : 0263-37-2661 E-mail : yoshiyuki-akiyama@shinshu-u. ac. jp

〈報道に関する問合せ〉

信州大学医学部

担当 : 北村

Tel : 0263-37-2572 E-mail : igakubu@shinshu-u. ac. jp

金沢大学 医薬保健系事務部総務課総務係

担当 : 山田

Tel : 076-265-2109 E-mail : t-isomu@adm. kanazawa-u. ac. jp

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター

担当 : 渡部、小岩井

Tel : 03-5800-9188 E-mail : pr@adm. h. u-tokyo. ac. jp

秋田大学 広報課

Tel : 018-889-3018 E-mail : kouhou@jim. akita-u. ac. jp

杏林学園 広報室

Tel : 0422-44-0611 E-mail : koho@ks. kyorin-u. ac. jp

NTT 東日本関東病院 運営企画部 広報担当

Tel : 03-3448-6111 E-mail : prwg-ml@east. ntt. co. jp