2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

| | | | |
|---|---|---|---|
| 学　校　名 | **川　崎　医　科　大　学** | 研究所名等 | |
| 研 究 課 題 | 自己炎症性疾患VEXAS症候群の革新的治療法の開発<br>－～細胞死メカニズムに基づくSuppress & Kill戦略～－ | 研 究 分 野 | 医　　学 |
| キーワード | ①VEXAS症候群 ②自己炎症性疾患 ③UBA1 ④細胞死 ⑤ネクロトーシス ⑥アポトーシス ⑦DAMPs ⑧HMGB1 | | |

**○研究代表者**

| 氏　　名 | 所　　属 | 職　　名 | 役　割　分　担 |
|---|---|---|---|
| 向　井　　知　之 | 川崎医科大学　医学部 | 教　　授 | 研究統括・研究計画立案・実験遂行・結果の解釈 |

**○研究分担者**

| 氏　　名 | 所　　属 | 職　　名 | 役　割　分　担 |
|---|---|---|---|
| 坂　本　　祐　真 | 川崎医科大学　医学部 | 助　　教 | 研究計画立案・実験遂行・結果の解釈 |
| 馬　場　　伸　育 | 川崎医科大学　医学部 | 講　　師 | 実験遂行・結果の解釈 |
| 井　関　　將　典 | 川崎医科大学　医学部 | 講　　師 | 実験遂行・結果の解釈 |
| 伊　藤　　達　男 | 川崎医科大学　医学部 | 教　　授 | 実験手法の助言・結果の解釈 |
| 近　藤　　英　生 | 川崎医科大学　医学部 | 教　　授 | 実験遂行（遺伝学的解析）・結果の解釈 |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

# 自己炎症性疾患 VEXAS 症候群の革新的治療法の開発
## －～細胞死メカニズムに基づく Suppress&Kill 戦略～－

### 1. 研究の目的

VEXAS 症候群は、UBA1 遺伝子の体細胞変異により発症する成人発症の自己炎症性疾患であり、発熱、血球減少、骨髄異形成、血管炎、軟骨炎、関節炎など多彩な炎症病態を呈する。本疾患では、UBA1 変異を有する骨髄系細胞がモザイク状に存在し、全身性炎症を惹起すると考えられているが、その詳細な分子機序は十分に解明されていない。また、現在の治療は副腎皮質ステロイド、サイトカイン阻害薬、JAK 阻害薬などに限られ、治療抵抗性を示す症例も多く、根本的治療法の確立が求められている。

本研究では、VEXAS 症候群における UBA1 変異細胞の細胞死感受性に着目し、細胞死および DAMPs 放出を介した炎症誘導機構を明らかにすることを目的とした。特に、UBA1 変異細胞においてアポトーシス、ネクロプトーシス、パイロトーシスなどの細胞死経路がどのように変化するかを解析し、炎症病態との関連を検討した。

さらに、細胞死を抑制することで炎症を軽減する「Suppress 戦略」と、変異細胞を選択的に除去する「Kill 戦略」の可能性を検証することを目指した。これにより、VEXAS 症候群の病態理解を深めるとともに、従来の免疫抑制とは異なる、変異細胞を標的とした新規治療法開発の基盤を構築することを目的とした。

### 2. 研究の計画

本研究では、まずヒト単球系細胞株 U937 にゲノム編集技術を用いて UBA1 M41 変異を導入し、VEXAS 症候群モデル細胞を作製する計画とした。作製した UBA1 変異 U937 細胞を用いて、TNF などの炎症性サイトカイン、デスリガンド、TLR リガンド、インフラマソーム活性化刺激などに対する細胞応答を解析することとした。細胞死の解析では、Annexin V/PI 染色、LDH 放出、細胞周期解析、ならびに Caspase、RIPK1、RIPK3、MLKL などの発現・リン酸化を評価し、アポトーシスおよびネクロプトーシスの関与を検討する計画とした。炎症誘導機構については、ELISA や multiplex assay を用いて、炎症性サイトカインおよびケモカイン産生を評価することとした。また、HMGB1、S100A8/A9、ATP、cfDNA などの DAMPs 放出を解析し、細胞死と炎症応答の関連を検討することとした。さらに、UBA1 変異細胞と野生型細胞が混在する体細胞モザイク状態を再現するため、共培養系や NF-κB reporter 細胞を用いた解析を行う計画とした。治療戦略の検討として、RIPK1/RIPK3/MLKL 阻害薬などによる細胞死抑制効果を解析し、「Suppress 戦略」の妥当性を検討することとした。

一方で、Smac mimetics、BH3 mimetics、プロテアソーム阻害薬などを用いて、UBA1 変異細胞を選択的に細胞死へ誘導できるかを検証し、「Kill 戦略」の可能性を探索する計画とした。将来的には、患者検体およびモデルマウスを用いて、候補薬剤の治療効果と安全性を検証することを視野に入れた。

### 3. 研究の成果

本研究では、U937 細胞を用いて UBA1 M41V、M41T、M41L 変異導入細胞を作製し、VEXAS 症候群モデル細胞として解析を進めた。

作製したモデル細胞では、VEXAS 症候群患者細胞で報告されている UBA1a/b 発現低下、UBA1c 発現出現、細胞内空胞形成を確認し、疾患細胞の特徴を再現することができた。

UBA1 M41 変異細胞では、野生型細胞と比較して細胞増殖の低下、LDH 放出の増加、Sub-G1 分画の増加、Annexin V 陽性細胞の増加を認め、基礎状態から細胞死が亢進していることが示唆された。特に TNF 刺激により細胞死が増強し、さらに Caspase 阻害薬である Z-VAD-FMK 存在下では、膜破綻を伴う細胞死が顕著に誘導された。この条件下では RIPK1、RIPK3、MLKL の総蛋白量およびリン酸化が増加し、RIPK1/RIPK3/MLKL 阻害薬により細胞死が抑制されたことから、RIPK1-RIPK3-MLKL 軸に依存するネクロプトーシス様細胞死の関与が明らかとなった。また、UBA1 変異細胞では HMGB1、S100A8/A9、細胞外 ATP、cfDNA などの DAMPs 放出が増加し、

細胞死亢進が炎症誘導に関与する可能性が示された。炎症性サイトカインについては、IL-8やIL-1βの軽度上昇を認めたが、変化は限定的であり、病的意義についてはさらなる検討が必要であると考えられた。一方、U937 NF-κB reporter 細胞との共培養実験では、UBA1 変異細胞が周囲の UBA1 野生型細胞の NF-κB 活性化を増強することを確認した。

これらの結果から、UBA1 変異細胞は自律的に大量の炎症性サイトカインを産生するというよりも、細胞死亢進と DAMPs 放出を介して周囲細胞の炎症応答を増幅する可能性が示された。

## 4. 研究の反省・考察

本研究により、UBA1 M41 変異細胞では TNF 刺激に対する細胞死感受性が亢進し、特に Caspase 阻害下で RIPK1-RIPK3-MLKL 軸依存的なネクロプトーシス様細胞死が誘導されることが明らかとなった。また、細胞死に伴い DAMPs 放出が増加し、周囲の野生型細胞に NF-κB 活性化を誘導することから、VEXAS 症候群における炎症は、変異細胞の細胞死を起点として周囲細胞へ伝播する病態である可能性が示された。この結果は、申請時に想定した「細胞死および DAMPs を介した炎症誘導機構」を支持するものであり、Suppress 戦略の妥当性を示す重要な成果と考えられる。特に RIPK1/RIPK3/MLKL 阻害により細胞死が抑制されたことは、ネクロプトーシス制御が VEXAS 症候群の治療標的となり得ることを示唆する。

一方で、炎症性サイトカインの産生上昇は限定的であり、IL-1βや IL-8 などの変化が病態形成にどの程度寄与するかについては、今後さらに詳細な検討が必要である。

また、M41V、M41T、M41L の変異間で細胞死や DAMPs 放出の程度に差を認める傾向はあったが、現時点では臨床的重症度の違いを十分に説明できるほど明確な差は得られていない。この点については、UBA1b 残存量、変異アレル頻度、細胞分化段階、患者背景など、複数の因子が重症度に関与している可能性がある。今後は、より多くの独立クローンを用いた再現性確認、患者由来細胞での検証、ならびにモデルマウスを用いた in vivo 解析を進める必要がある。

また、Suppress 戦略に加えて、変異細胞を選択的に除去する Kill 戦略についても、DAMPs 放出による一過性炎症増悪に留意しながら、安全性を含めて検証する必要がある。

以上より、本研究は VEXAS 症候群の病態解明と新規治療法開発に向けた重要な基盤を提供したが、臨床応用に向けては、患者検体および in vivo モデルを用いたさらなる検証が必要である。

## 5. 研究発表

(1)学会誌等

該当無し

(2)口頭発表

① Yuma Sakamoto, Masanori Iseki, Nobuyasu Baba, and Tomoyuki Mukai
Establishment of a cellular model of VEXAS syndrome and its functional characterization: insights into the role of cell death
第70回　日本リウマチ学会総会、2026年4月23日、福岡県

② 向井知之、坂本祐真、馬場伸育、井関將典、清水由梨香、伊藤達男、近藤英生
VEXAS症候群におけるUBA1変異の細胞死・炎症応答への影響
第9回日本免疫不全･自己炎症学会学術集会、 2026年2月、宮城県

③ Yuma Sakamoto, Masanori Iseki, Eisei Kondo, Tomoyuki Mukai
Somatic UBA1 mutations responsible for VEXAS syndrome enhance cell death and inflammatory response
第87回日本血液学会学術集会、2025年10月、兵庫県

④ Yuma Sakamoto, Masanori Iseki, Nobuyasu Baba, Tomoyuki Mukai
Functional analysis of UBA1 mutations responsible for VEXAS syndrome
第54回日本免疫学会学術集会、2025年12月、兵庫県

(3)出版物

該当無し