慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	膠原病病態における自然免疫系の役割解明
Sub Title	Innate immunity in rheumatic and musculoskeletal diseases
Author	金子, 祐子(Kaneko, Yuko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	膠原病の中でも成人発症スティル病は、疾患外因性または内因性刺激によるマクロファージや好中球を主体とした自然免疫系の異常活性化が病態と考えられている。本研究では、活動性成人スティル病で最重症病態であるマクロファージ活性化症候群の病態解明とマクロファージ活性化度の定量化および発症予防可能な分子標的同定を目的として免疫細胞およびサイトカイン解析を実施した。成人発症スティル病と健常人の血清でProximity Extension Assay (PEA)法による354蛋白の網羅的プロテオーム解析を実施したところ、活動期成人スティル病において、IFNγ、CCL7、CCL20、XCL9/10/11、IL18、S100A12タンパクなどマクロファージ遊走と活性化、好中球活性化に関連する分子を含む22蛋白が高発現タンパクとして同定された。 またmass cytometryにおいて、細胞表面分子による詳細な細胞分画実施と細胞活性化因子の細胞内および表面分子を検出するため、細胞透過処理プロトコールと適切な細胞分子と金属ラベルの組み合わせを確立し、細胞をクラスター分析と主成分分析で分画し、キー細胞となりうる候補が7クラスター同定された。特にNK細胞に属する細胞群が大部分を占め、非活動期でもその後再燃した症例ではNK細胞低下が持続していた。NK細胞減少やグランザイムやパーフォリンの機能異常が、抗原提示細胞クリアランスを低下し持続的な炎症を惹起する可能性が示唆された。 Among rheumatic and musculoskeletal diseases, adult-onset Still's disease is thought to be caused by abnormal activation of the innate immune system, mainly macrophages and neutrophils, by exogenous or endogenous stimuli. In this study, immune cell and cytokine analyses were conducted to elucidate the pathogenesis of macrophage activation syndrome, the most severe form of active adult-onset Still's disease, quantify the degree of macrophage activation and identify molecular targets that can prevent the onset of the disease. Comprehensive proteomic analysis of 354 proteins using the Proximity Extension Assay (PEA) method in sera from adult-onset Still's disease and healthy subjects revealed that in active adult Still's disease, IFNγ, CCL7, CCL20, XCL9/10/11, IL18, S100A12 proteins, including molecules associated with macrophage migration and activation and neutrophil activation, were identified as highly expressed proteins. In mass cytometry, cell permeabilisation protocols and appropriate combinations of cellular molecules and metal labels were established to perform detailed cell fractionation by cell surface molecules and to detect intracellular and surface molecules of cell activators, and cells were fractionated by cluster analysis and principal component analysis to identify potential key cells. Seven clusters of potential key cell candidates were identified. In particular, the majority of the cell groups belonged to NK cells, and in cases of inactive phase but then relapsed It was suggested that dysfunction of NK cells especially through granzyme and perforin may reduce antigen-presenting cell clearance and induce persistent inflammation.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230002

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2024年12月13日

2023年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	教授	補助額	1,000千円（特Ａ）
	氏名	金子 祐子	氏名（英語）	Yuko Kaneko		

研究課題（日本語）

膠原病病態における自然免疫系の役割解明

研究課題（英訳）

Innate immunity in rheumatic and musculoskeletal diseases

１．研究成果実績の概要

膠原病の中でも成人発症スティル病は、疾患外因性または内因性刺激によるマクロファージや好中球を主体とした自然免疫系の異常活性化が病態と考えられている。本研究では、活動性成人スティル病で最重症病態であるマクロファージ活性化症候群の病態解明とマクロファージ活性化度の定量化および発症予防可能な分子標的同定を目的として免疫細胞およびサイトカイン解析を実施した。成人発症スティル病と健常人の血清でProximity Extension Assay (PEA)法による354蛋白の網羅的プロテオーム解析を実施したところ、活動期成人スティル病において、
IFNγ、CCL7、CCL20、XCL9/10/11、IL18、S100A12タンパクなどマクロファージ遊走と活性化、好中球活性化に関連する分子を含む22蛋白が高発現タンパクとして同定された。
またmass cytometryにおいて、細胞表面分子による詳細な細胞分画実施と細胞活性化因子の細胞内および表面分子を検出するため、細胞透過処理プロトコールと適切な細胞分子と金属ラベルの組み合わせを確立し、細胞をクラスター分析と主成分分析で分画し、キー細胞となりうる候補が7クラスター同定された。特にNK細胞に属する細胞群が大部分を占め、非活動期でもその後再燃した症例ではNK細胞低下が持続していた。NK細胞減少やグランザイムやパーフォリンの機能異常が、抗原提示細胞クリアランスを低下し持続的な炎症を惹起する可能性が示唆された。

２．研究成果実績の概要（英訳）

Among rheumatic and musculoskeletal diseases, adult-onset Still's disease is thought to be caused by abnormal activation of the innate immune system, mainly macrophages and neutrophils, by exogenous or endogenous stimuli. In this study, immune cell and cytokine analyses were conducted to elucidate the pathogenesis of macrophage activation syndrome, the most severe form of active adult-onset Still's disease, quantify the degree of macrophage activation and identify molecular targets that can prevent the onset of the disease. Comprehensive proteomic analysis of 354 proteins using the Proximity Extension Assay (PEA) method in sera from adult-onset Still's disease and healthy subjects revealed that in active adult Still's disease, IFNγ, CCL7, CCL20, XCL9/10/11, IL18, S100A12 proteins, including molecules associated with macrophage migration and activation and neutrophil activation, were identified as highly expressed proteins. In mass cytometry, cell permeabilisation protocols and appropriate combinations of cellular molecules and metal labels were established to perform detailed cell fractionation by cell surface molecules and to detect intracellular and surface molecules of cell activators, and cells were fractionated by cluster analysis and principal component analysis to identify potential key cells. Seven clusters of potential key cell candidates were identified. In particular, the majority of the cell groups belonged to NK cells, and in cases of inactive phase but then relapsed It was suggested that dysfunction of NK cells especially through granzyme and perforin may reduce antigen-presenting cell clearance and induce persistent inflammation.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名（著者・講演者）	発表課題名（著書名・演題）	発表学術誌名（著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月（著書発行年月・講演年月）