

基礎 4. ANCA產生機序

- Tolerance破綻
- B細胞標的療法

AAVでなぜANCAが産生されるか？ (tolerance破綻)

T細胞: Tolerance破綻により, 抗原特異的Thが誘導され, B細胞に自己抗体を産生させる.

B細胞: Tolerance破綻により, 自己抗体を産生する自己反応性B細胞/形質細胞が誘導される.

- Memory T細胞, Memory B細胞の存在が, 病態の慢性化と再燃には重要.

好中球: AAV発症前からMPO/PR3のtolerance破綻が確認される [JASN. 2011;22:1946-52].

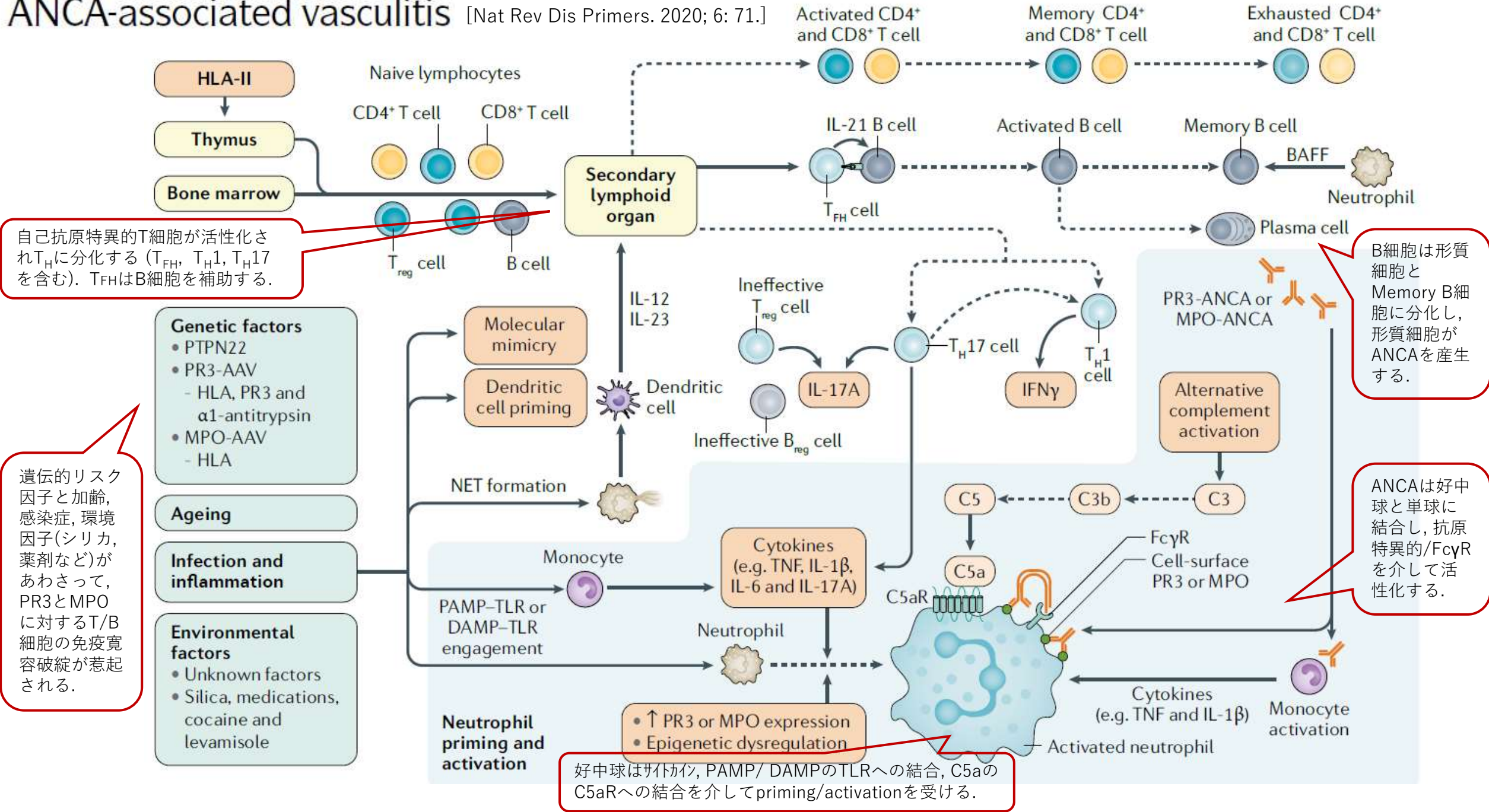
Central tolerance

- 胸腺のMPO反応性T細胞はAire依存性にcentral deletionを受ける. Aire^{-/-}マウスではMPOへの自己免疫反応が亢進している [JASN. 2013;24:573-85].
- 一方, AIRE欠損症(APECD)ではAAVの所見は認めない.

Treg, Breg

- AAV動物モデルでTregの関与が想定される [JASN. 2013;24:573-85].
- AAV患者のTregは, 制御性機能が低下しており, Th17様phenotypeを示した [A&R. 2013;65:1922-33].
- AAV患者におけるIL-10産生regulatory B cellの減少 [ARD. 2013;72:1416-19].

ANCA-associated vasculitis [Nat Rev Dis Primers. 2020; 6: 71.]



自己抗原特異的T細胞が活性化されT_Hに分化する (T_{FH}, T_H1, T_H17を含む). T_{FH}はB細胞を補助する.

遺伝的リスク因子と加齢, 感染症, 環境因子(シリカ, 薬剤など)があわさって, PR3とMPOに対するT/B細胞の免疫寛容破綻が惹起される.

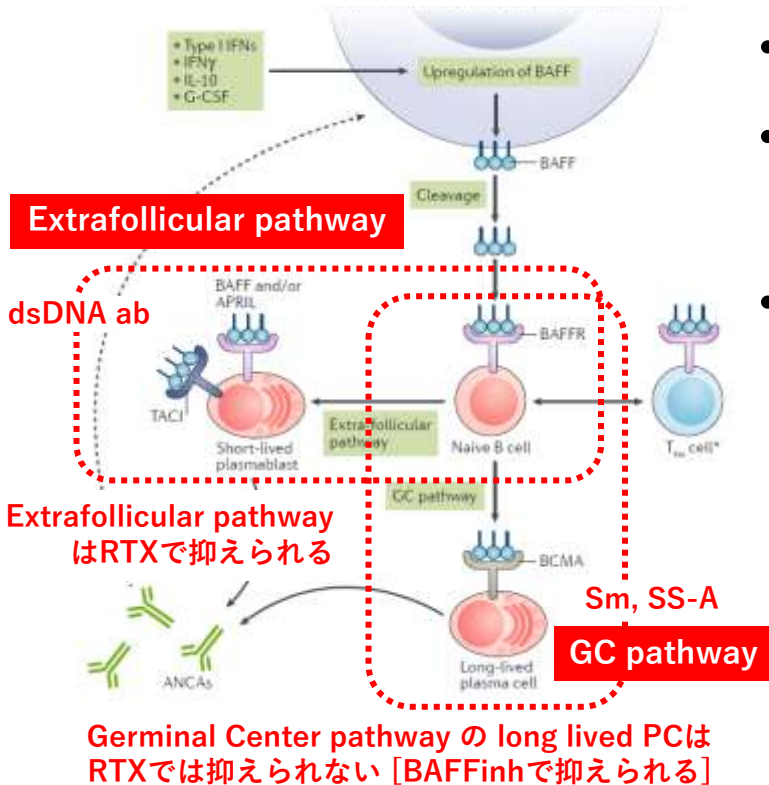
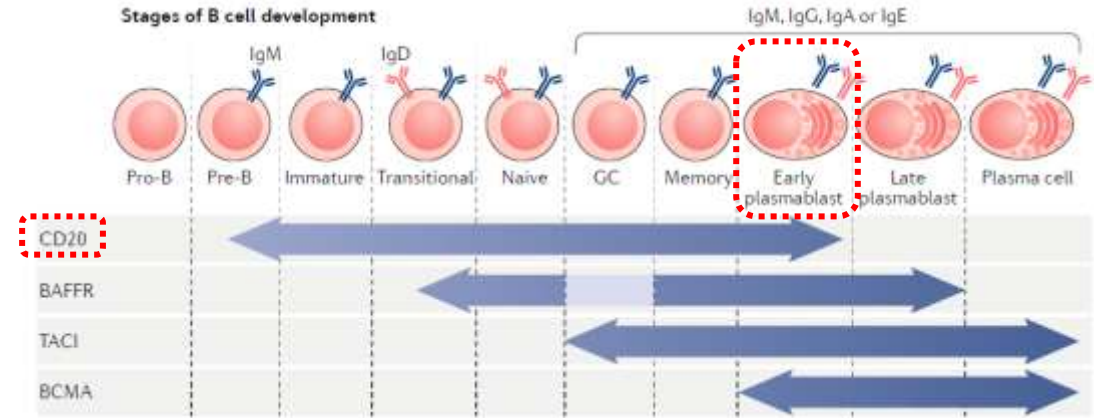
B細胞は形質細胞とMemory B細胞に分化し, 形質細胞がANCAを産生する.

ANCAは好中球と単球に結合し, 抗原特異的/Fc γ Rを介して活性化する.

好中球はサイトカイン, PAMP/ DAMPのTLRへの結合, C5aのC5aRへの結合を介してpriming/activationを受ける.

B cell therapy in ANCA-associated vasculitis: current and emerging treatment options [Nat Rev Rheumatol. 2018;14(10):580-91.]

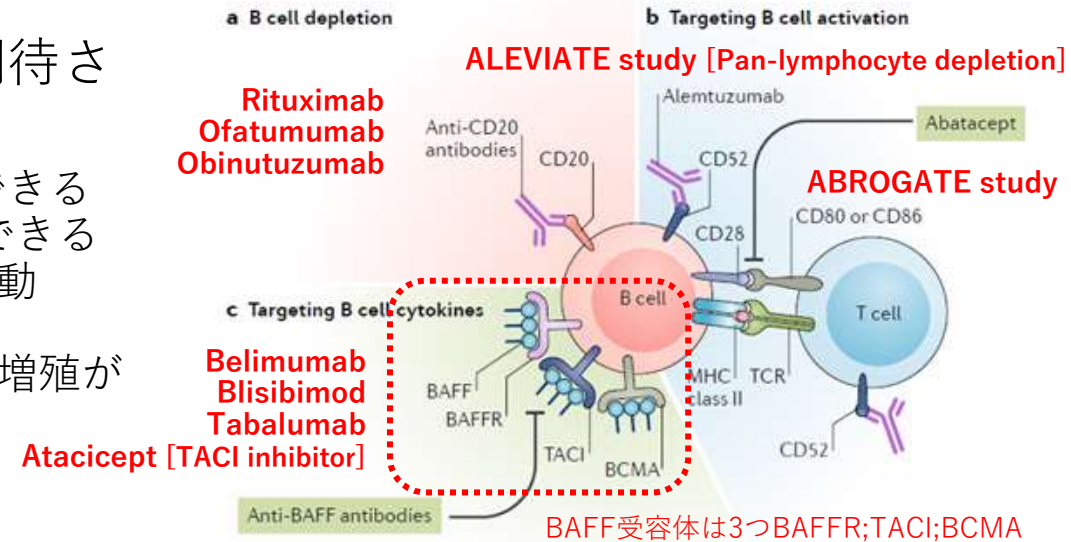
- BAFF/APRIL (BAFFと相同性高い)が新たな標的
- 高濃度のBAFFは自己反応性Bの生存を助ける。
- B細胞homeostasis：B細胞生存[Bcl-2誘導], T1→T2分化に必要
- 胚中心で：濾胞樹状細胞に発現しB細胞応答を誘導
- クラススイッチ：T細胞非依存性抗体産生・クラススイッチ誘導
- 胚中心でCD20非発現long-lived plasm cellの抗体産生を担う



- BAFF阻害薬はB細胞除去より有用そうだがSLEと異なりAAVでFailure
- BREVAS Study：初回導入療法後AAVへのBEL維持療法vsプラセボ。2017年の開始まもなく中止（患者集まらず, 有意差なし, BELで感染↑）

- BAFF阻害薬 + RTX療法が期待される理由

- CD20+ long-lived PCを標的にできる
- 循環血中に加え組織Bも標的にできる
- BAFFがメモリーBを循環血に移動 → RTXで除去
- BAFF濃度低下で自己反応Bの再増殖が抑制できる



BAFF受容体は3つBAFFR;TACI;BCMA

基礎 6. Genomics, Omics

- 2019 NRR

Pathogenesis and therapeutic interventions for ANCA-associated vasculitis

[Nat Rev Rheumatol. 2019;15(2):91-101.]

Table 1 | Genes associated with AAV

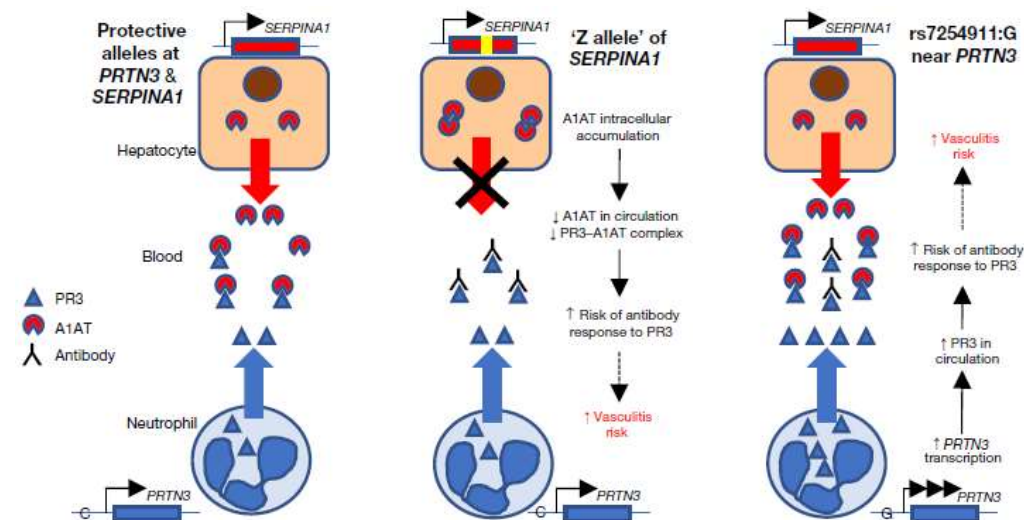
Gene	Associated disease	OR	Refs
HLA-DP	• GPA • PR3-AAV	• 5.39 • 7.03	12,13
HLA-DQ	• MPA • MPO-AAV	• 0.67 • 0.65	12
HLA-DR	• MPA • MPO-AAV	• 1.56 • 1.57	15
PTPN22	PR3-AAV	1.63	16
SERPINA1	• GPA • PR3-AAV	• 0.54 • 0.53	12
PRTN3	• GPA • PR3-AAV	• 0.78 • 0.73	12
SEMA6A	GPA	0.74	13,14

MHC gene

- **European GWAS**
HLA-DP region : PR3-GPAと最も強く関連
HLA-DQ region : MPO-MPAと関連 [NEJM. 2012; 367: 214-23].
HLA-DRB1*0401: PR3-AAVと関連 [Hum. Genet. 2004;114:468-77.]
- **日本人 GWAS**
HLA-DRB1*09:01 : MPA(MPO-ANCA)と強く関連 (East Asianに多くEuropeanでまれなallele) [PLOS ONE 2016: 11; e0154393.]
- ANCA specificityの方がClinical manifestation (MPA or GPA)よりも遺伝的に関連強い.
- MHC II allele頻度の人種差はEuropeanでのPR3-GPA, AsianでのMPO-MPAを説明しうる

Non-MHC gene

- **PTPN22**, **SERPINA1** (α 1-antitrypsin), **PRTN3** (PR3), **SEMA6A** (semaphorin 6a) : PR3-AAV or GPAと強く関連
- PTPN22 : 白人PR3-AAVで多いgain of function proteinがIL-10発現に抑制的に作用するためか [PLOS ONE 2012;7:e42783.]
- SERPINA1 : α 1-antitrypsinはPR3 inhibitor. Protective alleleではPR3抑制する. Z alleleはA1ATの細胞内蓄積が増え血清PR3を増やしvasculitis riskを亢進させる.
- PRTN3 : PR3発現亢進させるalleleではrisk allele.



[Nature. 2018;558(7708):73-79.]

Genetic Background of Japanese Patients with Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis: Association of HLA-DRB1*0901 with Microscopic Polyangiitis [J Rheumatol 2003; 30: 1534-40.]

NAOYUKI TSUCHIYA, SHIGETO KOBAYASHI, AYA KAWASAKI, CHIEKO KYOGOKU, YOSHIHIRO ARIMURA, MASAHARU YOSHIDA, KATSUSHI TOKUNAGA, and HIROSHI HASHIMOTO

Table 3. Frequency of HLA-DRB1 allele carriers in Japanese patients with microscopic polyangiitis (MPA) and controls.

DRB1	MPA (n = 50) n (%)	MPO-ANCA(n = 64) n (%)	Controls (n = 265) n (%)
0101	5 (10.0)	7 (10.9)	26 (9.8)
0401	3 (6.0)	3 (4.7)	6 (2.3)
0403	2 (4.0)	3 (4.7)	13 (4.9)
0405	8 (16.0)	10 (15.6)	65 (24.5)
0406	2 (4.0)	3 (4.7)	19 (7.2)
0407	3 (6.0)	4 (6.3)	6 (2.3)
0410	2 (4.0)	2 (3.1)	5 (1.9)
0802	4 (8.0)	5 (7.8)	18 (6.8)
0803	9 (18.0)	13 (20.3)	37 (14.0)
0901	25 (50.0)*	32 (50.0)**	77 (29.1)
1101	4 (8.0) [†]	5 (7.8) [‡]	5 (1.9)
1201	1 (2.0)	1 (1.6)	19 (7.2)
1202	1 (2.0)	1 (1.6)	11 (4.2)
1302	5 (10.0)	7 (10.9)	51 (19.2)
1401	1 (2.0)	1 (1.6)	13 (4.9)
1403	2 (4.0)	3 (4.7)	10 (3.8)
1405	0 (0)	0 (0)	17 (6.4)
1406	1 (2.0)	1 (1.6)	7 (2.6)
1501	8 (16.0)	11 (17.2)	29 (10.9)
1502	9 (18.0)	9 (14.1)	54 (20.4)
1602	0 (0)	0 (0)	8 (3.0)
others	1 (2.0)	2 (3.1)	13 (4.9)

* p = 0.0037, p_c = 0.074, OR: 2.44, 95% CI: 1.33–4.46. ** p = 0.0014, p_c = 0.029, OR: 2.44, 95% CI: 1.41–4.22.

[†] p = 0.039, p_c = 0.79, OR: 4.52, 95% CI: 0.97–21.1. [‡] p = 0.027, p_c = 0.57, OR: 4.41, 95% CI: 1.36–14.2.

- AAV感受性があるとされる8遺伝子 [HLA-DRB1, TNF, TNFR2, Fcγ receptor IIa (FCGR2A), IIb (FCGR2B), IIIa (FCGR3A), IIIb (FCGR3B), CTLA4] を日本人で検討.
- 69人の日本人AAV (MPA 50人, MPA-ANCA 64人陽性)で, 遺伝子多型のcase-control(n=265)解析.
- **HLA-DRB1*0901**がMPA (p = 0.0037, OR 2.44), MPO-ANCA陽性 (p = 0.0014, OR 2.44)と有意に関連あり.
- その他にはMPA/MPO-ANCA陽性と関連するhaplotypeは見いだせず.
- 結論: 日本人のMPAでは**HLA-DRB1*0901 陽性例が50%**にみられ, 対照群と比較し有意に多かった.
- HLA-DRB1*0901 は日本人の29%に認められるなどアジア系集団で高頻度に認められるが, 欧州系集団やアフリカ系集団にはほとんど存在しない.
- このことが, 日本にMPAやMPO-ANCA陽性例が多い遺伝的背景の一つと考えられる.

Genetically Distinct Subsets within ANCA-Associated Vasculitis [N Engl J Med 2012;367:214-23.]

Table 2. Associations of SNPs and ANCA-Associated Vasculitis, According to Clinical and ANCA Subgroups.*

Chromosome	Locus	SNP	Overall Analysis of Combined Cohort (N=2267 Case Patients, 6858 Controls)		Clinical Syndrome						ANCA Specificity					
					GPA vs. MPA (N=1683 vs. 489)		GPA vs. Control (N=1683 vs. 6858)		MPA vs. Control (N=489 vs. 6858)		Proteinase 3 vs. Myeloperoxidase (N=1521 vs. 556)		Proteinase 3 vs. Control (N=1521 vs. 6858)		Myeloperoxidase vs. Control (N=556 vs. 6858)	
					odds ratio	P value	odds ratio	P value	odds ratio	P value	odds ratio	P value	odds ratio	P value	odds ratio	P value
6	<u>HLA-DP</u>	rs3117242	3.67	1.5×10 ⁻⁷¹	3.49	1.9×10 ⁻²⁷	5.39	3.1×10 ⁻⁸⁵	1.60	1.3×10 ⁻³	5.10	2.5×10 ⁻⁴⁶	7.03	6.2×10 ⁻⁸⁹	1.55	3.2×10 ⁻²
6	<u>HLA-DQ</u>	rs5000634	0.80	2.9×10 ⁻⁹	1.17	9.0×10 ⁻²	0.83	2.2×10 ⁻⁶	0.67	1.4×10 ⁻⁵	1.28	8.2×10 ⁻³	0.86	3.3×10 ⁻⁵	0.65	2.1×10 ⁻⁸
6	<u>ARHGAP18</u>	rs1705767	0.80	6.2×10 ⁻⁷	0.92	9.2×10 ⁻¹	0.78	3.3×10 ⁻⁷	0.84	1.8×10 ⁻²	0.90	7.2×10 ⁻¹	0.73	5.2×10 ⁻⁸	0.87	1.0×10 ⁻²
14	<u>SERPINA1</u>	rs7151526	0.59	2.4×10 ⁻⁹	0.74	1.7×10 ⁻¹	0.54	4.4×10 ⁻¹⁰	0.76	1.7×10 ⁻¹	0.64	1.1×10 ⁻²	0.53	5.6×10 ⁻¹²	0.84	2.8×10 ⁻¹
19	<u>PRTN3</u>	rs62132295	0.83	6.6×10 ⁻⁴	0.81	3.9×10 ⁻²	0.78	2.6×10 ⁻⁵	0.99	9.3×10 ⁻¹	0.67	6.9×10 ⁻⁶	0.73	2.6×10 ⁻⁷	1.10	2.2×10 ⁻¹
X	<u>MOSPD2</u>	rs6628825	0.79	9.7×10 ⁻⁶	0.91	5.1×10 ⁻¹	0.80	2.6×10 ⁻⁶	0.79	2.2×10 ⁻¹	0.79	8.3×10 ⁻²	0.77	6.1×10 ⁻⁷	0.86	6.3×10 ⁻¹

* P values were calculated with the use of the Cochran–Armitage trend test. GPA denotes granulomatosis with polyangiitis, and MPA microscopic polyangiitis.

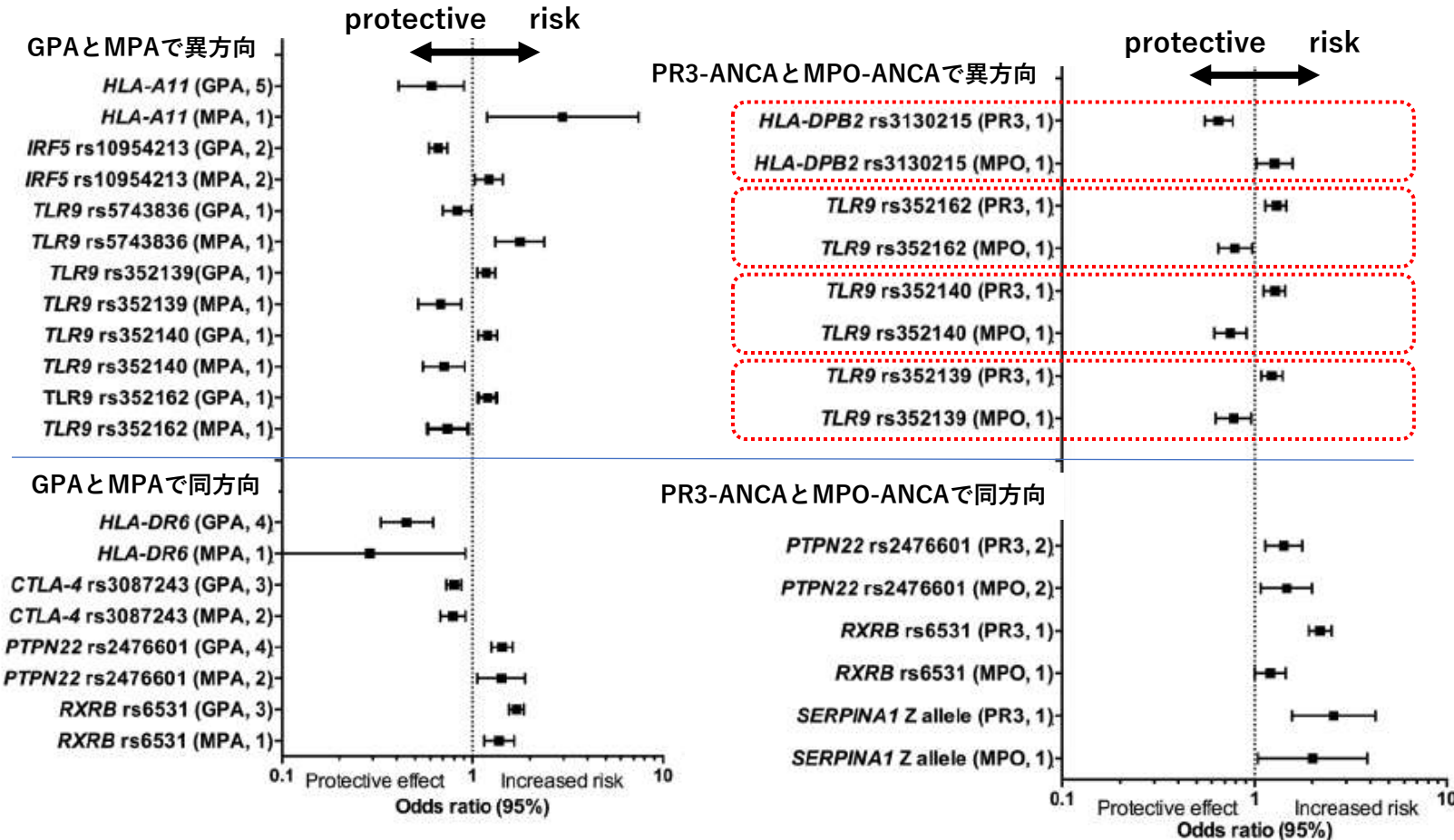
▲ ORやP-valueで比較しても, PR3-ANCAやMPO-ANCAとの関連の方が, GPAやMPAとの関連よりもSNPとの関連が強い.

- 欧州の多施設共同研究による AAVのGWAS.
- Discovery cohort: 1233 UKのAAV/5884 Ctrl. Replicate cohort: 1454 北欧AAV/1666 Ctrl.
- PR3-ANCAと関連: **HLA-DP** (P= 6.2 × 10⁻⁸⁹), **α1-antitrypsin** (*SERPINA1*) (P= 5.6 × 10⁻¹²), proteinase 3 (*PRTN3*) (P= 2.6 × 10⁻⁷)
- MPO-ANCAと関連: **HLA-DQ** (P = 2.1 × 10⁻⁸)
- **MPA/GPAという臨床診断より, PR3/MPOという自己抗原の方が遺伝子と強い関連がある.**
- AAVの病態生理に遺伝素因が関与することを証明した.

Genetic variants in ANCA-associated vasculitis: a meta-analysis [Ann Rheum Dis 2016; 75: 1687-92.]

Chinar Rahmattulla,¹ Antien L Mooyaart,¹ Daphne van Hooven,¹ Jan W Schoones,² Jan A Bruijn,¹ Olaf M Dekkers,^{3,4,5} European Vasculitis Genetics Consortium, Ingeborg M Bajema¹

AAVに関するgenetic variantの62解析のmeta-analysis



- AAV関連 **33 variants**を同定.

- CD226, CTLA-4, FCGR2A, HLA-B, HLADP, HLA-DQ, HLA-DR, HSD17B8, IRF5, PTPN22, RING1/RXR B, RXR B, STAT4, SERPINA1, TLR9*

- α1-antitrypsin (*SERPINA1*), MHC, 炎症processが重要と思われる.

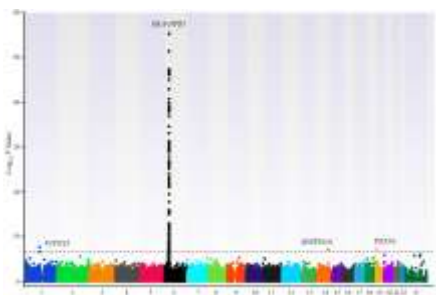
- GPA or MPA, PR3 or MPO-ANCAが異方向/同方向のlocus同定：強いgenetic viasがAAV subdivisionとANCA serotypeに働いている.

Identification of Functional and Expression Polymorphisms Associated With Risk for Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody-Associated Vasculitis [Arthritis Rheumatol. 2017;69(5):1054-66.]

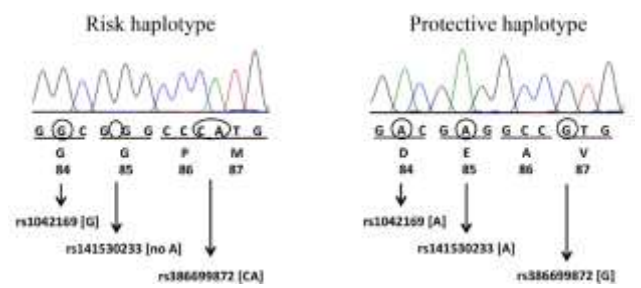
Table 1. Results of GWAS, replication, and combined analyses of associations with antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis*

SNP	Locus	Position	Gene	Risk allele	GWAS (n = 1,371 cases, n = 3,258 controls)				Replication analysis (n = 615 cases, n = 1,465 controls)				Combined analysis (n = 1,986 cases, n = 4,723 controls)		
					RAF	Cases	Controls	P†	OR (95% CI)‡	RAF	Cases	Controls	P‡	OR (95% CI)‡	P‡
rs141530233	6p21.32	33048688	HLA-DPB1	A del¶	0.86	0.70	5.93×10^{-36}	2.76 (2.44-3.13)	0.90	0.69	2.45×10^{-38}	4.00 (3.23-5.00)	1.13×10^{-91}	2.99 (2.69-3.33)	
rs1042169	6p21.32	33048686	HLA-DPB1	G	0.86	0.70	4.41×10^{-32}	2.57 (2.27-2.94)	0.90	0.68	1.94×10^{-38}	4.00 (3.23-5.00)	1.12×10^{-88}	2.82 (2.54-3.15)	
rs9277341	6p21.32	33039625	HLA-DPA1	T	0.84	0.70	1.62×10^{-40}	2.21 (1.96-2.50)	0.87	0.66	3.58×10^{-34}	3.13 (2.63-3.70)	6.09×10^{-71}	2.44 (2.21-2.69)	
rs35242582	6p21.32	32000057	HLA-DQA1	A	0.82	0.74	3.34×10^{-16}	1.61 (1.43-1.79)	0.82	0.74	3.59×10^{-8}	1.59 (1.35-1.89)	6.34×10^{-25}	1.60 (1.46-1.76)	
rs1049072	6p21.32	32634355	HLA-DQB1	A	0.25	0.17	4.23×10^{-10}	1.43 (1.28-1.59)	0.21	0.17	1.69×10^{-5}	1.30 (1.10-1.54)	6.46×10^{-15}	1.40 (1.28-1.53)	
rs6679677	1p13.2	114303808	PTPN22	A	0.13	0.09	2.40×10^{-4}	1.49 (1.30-1.72)	0.11	0.09	4.57×10^{-2}	1.25 (1.00-1.55)	1.88×10^{-8}	1.40 (1.25-1.57)	
rs62132293	19p13.7	838178	PRTN3	G	0.37	0.31	5.55×10^{-5}	1.30 (1.18-1.43)	0.37	0.31	6.83×10^{-5}	1.33 (1.15-1.52)	8.60×10^{-11}	1.29 (1.19-1.39)	
rs28929474	14q32.13	94844947	SERPINA1	T	0.04	0.02	8.26×10^{-9}	2.09 (1.59-2.73)	0.04	0.02	6.72×10^{-9}	2.18 (1.49-3.20)	3.09×10^{-12}	2.18 (1.73-2.71)	
rs2476601	1p13.2	114377568	PTPN22 (R620W)	A	0.13	0.10	3.03×10^{-7}	1.45 (1.26-1.66)	0.11	0.09	5.38×10^{-2}	1.24 (1.00-1.53)	1.86×10^{-7}	1.36 (1.21-1.53)	

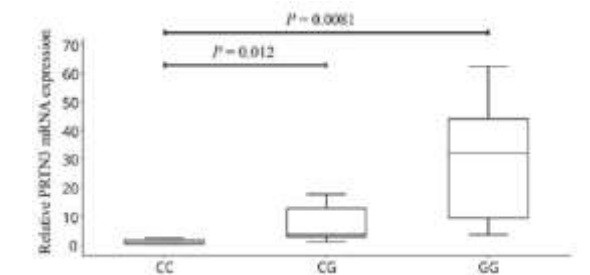
Gene	SNP	RAF	Combined AAV cohort		Clinical syndrome				ANCA specificity			
			OR	PAF	GPA		MPA		PR3-cANCA		MPO-pANCA	
HLA-DPB1	rs141530233	0.70	2.36	0.49	3.01	0.58	1.64	0.31	3.98	0.68	1.01	0.00
HLA-DPA1	rs9277341	0.70	1.62	0.30	1.81	0.36	1.26	0.00	1.84	0.37	1.03	0.00
HLA-DQA1	rs35242582	0.74	1.39	0.22	1.46	0.26	1.06	0.00	1.27	0.17	1.02	0.00
HLA-DQB1	rs1049072	0.17	1.33	0.05	1.19	0.00	1.91	0.13	1.16	0.00	2.64	0.22
PRTN3	rs62132293	0.31	1.27	0.08	1.30	0.09	1.18	0.00	1.59	0.16	1.10	0.00
SERPINA1	rs28929474	0.02	2.13	0.02	2.43	0.02	1.98	0.00	3.64	0.04	2.98	0.00
PTPN22 (R620W)	rs2476601	0.10	1.45	0.04	1.47	0.04	1.62	0.06	1.71	0.06	2.18	0.10
Total	-	-	-	0.77	-	0.83	-	0.43	-	0.87	-	0.30



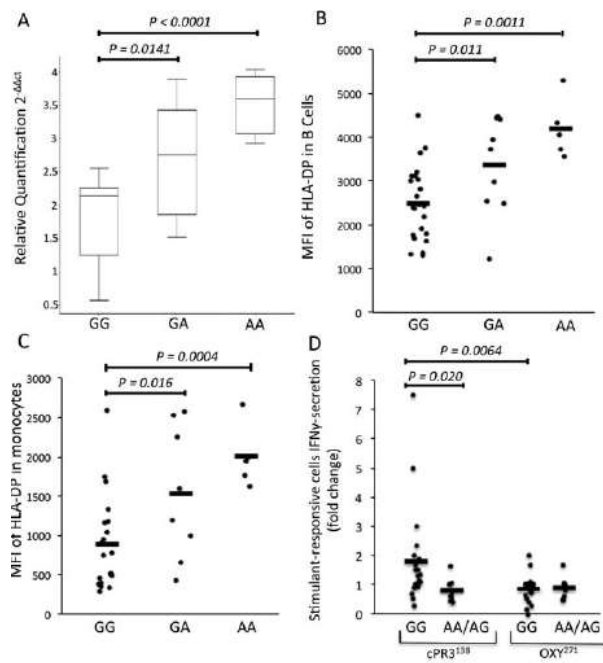
▲ Manhattan plot



▲ HLA-DPB1のsequence結果



▲ rs62132293 (PRTN3=PR3をcodeする遺伝子). Risk allele のGは好中球におけるPRTN3 (qPCR) 発現を亢進させ、eQTL effectがあることを示した。



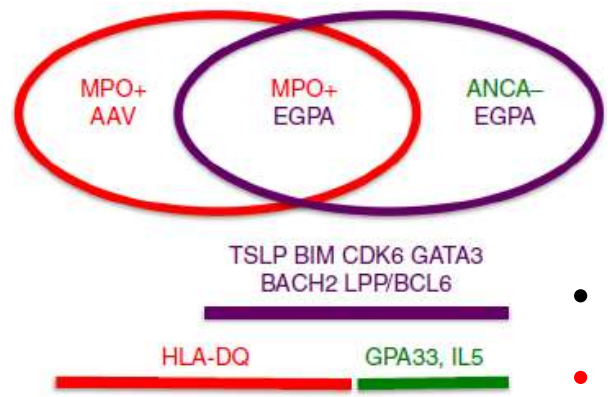
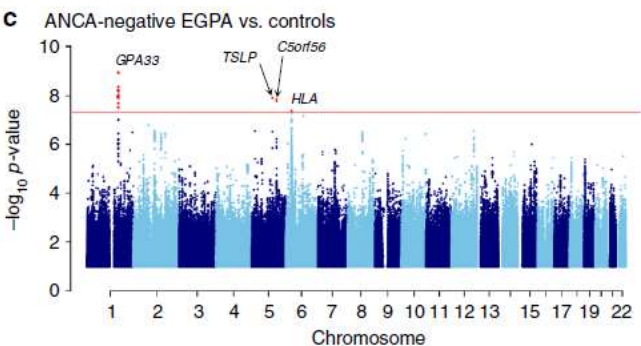
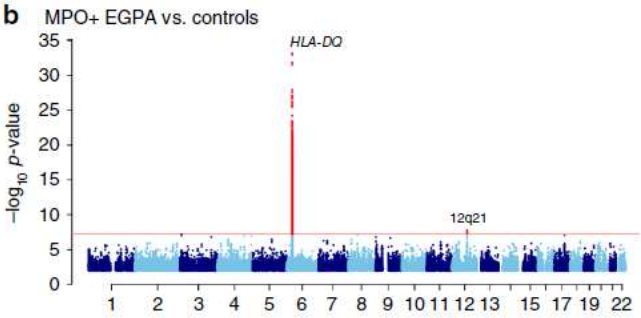
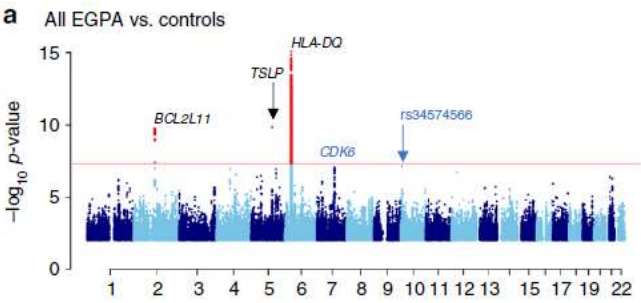
▲ rs1042169 (HLA-DPB1). A) AAV risk alleleのGはPBMCのHLA-DPB1 mRNA発現を低下させる。B/C) B細胞/単球上のHLA-DP発現を下げる。D) PR3-ANCA陽性患者のPBMCを刺激してIFN-γ産生T細胞を比較。GG genotype (n=21)とAA/AG genotype (n=5)をPR3で刺激してもIFN-γ産生細胞は誘導されないが (data not shown), anti-sense PR3 codonで刺激するとGG genotypeでIFN-γ産生T細胞が増加する (健康人では増加なし)。

- AAV (n=1986, GPA or MPA)とHC (n=4723) のGWAS. Meta解析, risk loci同定, allele機能解析をした。
- HLA-DPA1とDPB1はGPA, PR3-ANCAと関連. DQB1はMPA/MPO-ANCAと関連。
- Non-HLA geneでは, SERPINA1 (rs28929474, P= 3.09 x 10⁻¹²) は, α1 anti-trypsin null (“Z”) alleleがGPA/PR3-ANCAと最も関連。
- 各lociのAAV全体のriskへのPAF (population attributable fraction) は77%とsubstantiveだった。
- PRTN3 (rs62132293, P= 8.60 x 10⁻¹¹) は, TSSの2.6kb上流, GPA/PR3-ANCAと関連. 好中球のPRTN3発現増加に関連しておりeQTL効果を持つことが示された。
- HLA-DPB1の3つのrisk lociは近接しており, triallelic risk/ nonrisk haplotypeを構成する (Sequence図)。
- HLA-DPB1へのrs1042169の影響を調べた. risk alleleはB細胞/単球のHLA-DP発現を低下させ, PR3反応性T細胞 (IFN-γ産生)を増やす。

Genome-wide association study of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis reveals genomic loci stratified by ANCA status

Paul A Lyons et al.[#] [Nat Commun. 2019;10(1):5120.]

	All patients n = 534 (%)	ANCA -ve n = 352 (%)	MPO+ ve n = 159 (%)	MPO+ ve vs. ANCA -ve P-value	Bonferroni-corrected P-value
Eosinophilia	534 (100)				
Asthma	534 (100)				
Neuropathy	339 (63.5)	201 (57.1)	125 (78.6)	4.5 × 10 ⁻⁶	3.6 × 10 ⁻⁵
Lung infiltrates	301 (56.4)	216 (61.4)	72 (45.3)	0.00098	0.0078
ENT	458 (85.8)	309 (87.8)	128 (80.5)	0.042	0.34
Cardiomyopathy	135 (25.3)	107 (30.4)	23 (14.5)	0.00020	0.0016
Glomerulonephritis	83 (15.5)	33 (9.4)	46 (28.9)	3.2 × 10 ⁻⁸	2.6 × 10 ⁻⁷
Lung haemorrhage	22 (4.1)	14 (4.0)	7 (4.4)	1.0	1.0
Purpura	137 (25.7)	91 (25.9)	37 (23.3)	0.60	1.0
Positive biopsy*	212 (41.3 [†])	145 (42.9 [†])	60 (38.5 [†])	0.40	1.0



Clinical feature	% of patients with feature		
	MPO+ AAV (non EGPA)	MPO+ EGPA	ANCA- EGPA
Glomerulonephritis	85	29*	9
Neuropathy	20	79*	57
Asthma	n.d.	100	100
Eosinophilia	4.5	100	100
Pulmonary hemorrhage	17	4	4
Ear nose or throat	32	81	88
Pulmonary infiltrates	20	45	61*
Cardiac involvement	3	15	30*
Rituximab response	98	80	38

- EGPAのGWAS (676人のEGPA, 6809人のCtrl)
- ANCA+ EGPA: *HLA-DQ*
ANCA- EGPA: *GPA33, IL5/IRF* (HLA-DQ無関係)
両群EGPAに共通: *TSLP, BCL2L11, CDK6, BACH2, LPP*
- 7/8 variants好酸球数と関連.
- **ANCA+ EGPA**: EGPAの1/3, MPO-AAVの臨床的特徴(糸球体腎炎)を共有. **HLA-class II**と関連する自己免疫疾患の側面が大きい. RTX治療反応性高い.
- **ANCA- EGPA**: 好酸球性臓器障害が主, 肺・心病変, 自己抗体なし, HLA class I/IIと関連なし. IBDと関連する *GPA33*からは, **粘膜/バリア機能不全**が予想される. *IL5*関連するためMepolizumabがより有効かもしれない.