

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月13日現在

機関番号：14301  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2009～2010  
 課題番号：21791073  
 研究課題名（和文） マウスループスにおける SLAM ファミリー分子の役割についての研究  
 研究課題名（英文） The role of SLAM family molecules in the pathogenesis of murine lupus  
 研究代表者  
 鬼頭 昭彦 (KITOH AKIHIKO)  
 京都大学・医学研究科・助教  
 研究者番号：40508438

研究成果の概要（和文）：signaling lymphocyte activation molecule (SLAM)を高発現する CD4 陽性 T 細胞は免疫学的自己寛容の維持に必須であり、その主たる機能は SLAM を高発現する CD4 陽性 T 細胞に含まれる FoxP3 陽性制御性 T 細胞が担っていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：SLAM<sup>hi</sup>CD4<sup>+</sup> T cell population was essential for the maintenance of immunologic self tolerance. Prevention of autoimmunity by SLAM<sup>hi</sup>CD4<sup>+</sup> T cell population was mainly attributed to CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells contained in the population.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、皮膚科学

キーワード：全身性エリテマトーデス、SLE、SLAM、制御性 T 細胞

1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス (SLE) は様々な臓器に炎症をおこす全身性自己免疫疾患である。現在 SLE に対する治療はステロイド全身投与が必須であり、長期投与による副作用がしばしば問題になることから、より病態特異的で副作用の少ない治療や根治治療が切望されている。ヒトおよびマウスにおいて、signaling lymphocyte activation molecule (SLAM; CD150) ファミリー分子が存在する遺伝子領域の多型が SLE の発症・重症化と相関することが知られている。これは、SLAM ファミリーを発現する細胞が、免疫寛容の維持に重要な役割を果たしていることを示唆し

ているが、詳細についてはほとんど不明である。

2. 研究の目的

(1) 免疫細胞における SLAM family の発現の詳細を明らかにする。

(2) SLAM 発現細胞や SLAM signal が免疫自己寛容に果たす役割について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 様々な免疫細胞亜集団における SLAM の発現をフローサイトメトリーにより解析す

る。

(2) SLAM を高発現する細胞を除去した T 細胞を T 細胞欠損マウスに養子移入し、自己免疫を発症するかどうかを検証する。

(3) SLAM を高発現する CD4<sup>+</sup> T 細胞の *in vitro* での活性化能および活性化抑制能を評価する。

#### 4. 研究成果

##### (1) マウス CD4<sup>+</sup> T 細胞には SLAM<sup>hi</sup> 亜集団が存在する

まず我々はフローサイトメトリーでマウスリンパ球における SLAM の発現を調べた。ほとんどの CD4<sup>+</sup> T 細胞および CD8<sup>+</sup> T 細胞が SLAM を発現していたが、CD4<sup>+</sup> T 細胞の 10% 前後は SLAM を高発現 (SLAM<sup>hi</sup>) していた (図 1)。B 細胞は半数以上が SLAM<sup>hi</sup> であった。

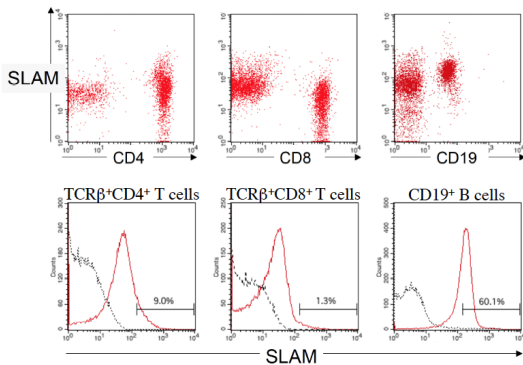


図 1 : マウスリンパ球における SLAM 発現

##### (2) CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup> T 細胞は免疫寛容維持に必須である

CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup> T 細胞が免疫寛容維持に果たす役割を明らかにするため、セルソーターで分離した CD4<sup>+</sup> T 細胞および SLAM<sup>hi</sup> T 細胞を除去した CD4<sup>+</sup> T 細胞 (CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>lo</sup> T 細胞) を T 細胞を欠損するヌードマウスに移入した。CD4<sup>+</sup> T 細胞を移入したヌードマウスと比較して、CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>lo</sup> T 細胞を移入したヌードマウスは高頻度に自己免疫性胃炎や炎症性腸疾患を発症した (表 1)。すなわち、CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup> T 細胞は免疫寛容維持に必須であることが示唆された。

	Gastritis	Insulinitis	Myocarditis	Thyroiditis	Colitis
CD4 <sup>+</sup>	1/6	0/6	0/6	0/6	0/6
CD4 <sup>+</sup> SLAM <sup>low</sup>	5/5	0/5	1/5	1/5	2/4

表 1 : CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup> 細胞の除去により免疫寛容が破綻する

##### (3) CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>high</sup> T 細胞の除去により Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞が著明に減少する

近年、T 細胞による免疫寛容の維持に CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞が必須であることが明らかになっている。そこで次に、CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup> T 細胞と制御性 T 細胞の関係を明らかにすることを試みた。CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup> 分画は、制御性 T 細胞のマーカーである CD25 および Foxp3 を発現する細胞の大部分を含んでいた (図 2 a)。実際、ヌードマウスに移入した CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>lo</sup> T 細胞では Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞の割合が著明に減少していた (図 2 b)。

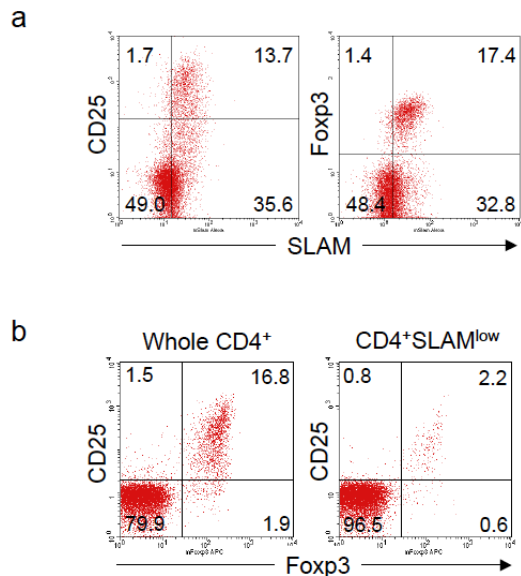


図 2 : CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup> T 細胞の除去により Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞が著明に減少する

##### (4) CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup> T 細胞は *in vitro* 抑制活性を示す

CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup> T 細胞が実際に Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞同様の抑制活性を示すかどうかを *in vitro* の増殖アッセイで調べた。抗原提示細胞存在下での抗 CD3 抗体刺激によって、CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>lo</sup> T 細胞は増殖 <sup>3</sup>H-thymidine の取り込み、すなわ

ち細胞増殖がみられたのに対し、CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup>T細胞は増殖がみられなかった(図3)。また、CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>lo</sup>T細胞にCD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup>T細胞を様々な細胞比率で加えると、CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup>T細胞の細胞数依存的にCD4<sup>+</sup>SLAM<sup>lo</sup>T細胞の増殖を抑制する活性がみられた(図3)。

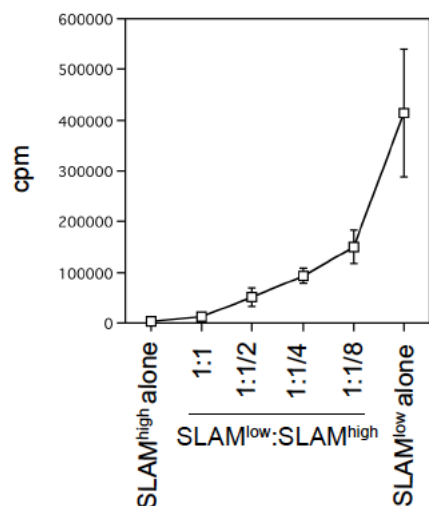


図3 : CD4<sup>+</sup>SLAM<sup>hi</sup>T細胞は in vitro 抑制活性をしめす

#### 結論 :

SLAMを高発現するCD4<sup>+</sup>T細胞の亜集団は免疫寛容の維持に必須であった。その機能はSLAMを高発現するCD4<sup>+</sup>陽性T細胞に含まれるFoxP3<sup>+</sup>陽性制御性T細胞が主に担っていることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

1. Fujii H., Arakawa A., Kitoh A., Miyara M., Kato M., Kore-Eda S., Sakaguchi S., Miyachi Y., Tanioka M., and Ono M. Perturbations of both nonregulatory and regulatory FOXP3<sup>+</sup> T cells in patients with malignant melanoma. *Br J Dermatol.* 2011; 164: 1052-1060. 査読あり DOI: 10.1111/j.1365-2133.2010.10199.x
2. 楠葉展大、辻花光次郎、涌田あすか、鬼頭昭彦、十一英子 【ヘルペスウイルス感染症】 <臨床例> 動眼神経麻痺と外転神経麻痺をきたした眼部帯状疱疹 *皮膚病診療* 33:1145-1148, 2011 査読なし DOI: 該当なし
3. 東前和奈、鬼頭昭彦、松村由美、是枝哲、宮地良樹 臨床的、組織学的に Langerhans 細胞組織球症を思わせた乳児疥癬の1例 *日本小児皮膚科学会雑誌* 30:41-44, 2011 査読あり DOI: 該当なし
4. 趙玲愛, 鬼頭昭彦, 野村安隆, 中西新, 中村陽子, 宮地良樹, 宇谷厚志. 【小児の先天性皮膚疾患】臨床例 レーザー治療の奏効した色素血管母斑症 IIa 型. *皮膚病診療.* 2011; 33: 125-128. 査読なし DOI: 該当なし
5. Endo Y., Kato M., Kitoh A., Kore-Eda S., Fukuda S., Hashimoto T., Toda K., Miyachi Y., and Utani A. Pemphigoid without mucosal involvement showing autoantibodies against laminin-332 gamma2 subunit. *Br J Dermatol.* 2010; 163: 1120-1122. 査読あり DOI: 10.1111/j.1365-2133.2010.09922.x
6. Miyara M., Yoshioka Y., Kitoh A., Shima T., Wing K., Niwa A., Parizot C., Taflin C., Heike T., Valeyre D., Mathian A., Nakahata T., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M., Amoura Z., Gorochoy G., and Sakaguchi S. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4<sup>+</sup> T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity.* 2009; 30: 899-911. 査読あり DOI: 10.1016/j.immuni.2009.03.019
7. Kitoh A., Ono M., Naoe Y., Ohkura N., Yamaguchi T., Yaguchi H., Kitabayashi I., Tsukada T., Nomura T., Miyachi Y., Taniuchi I., and Sakaguchi S. Indispensable role of the Runx1-Cbfbeta transcription complex for in vivo-suppressive function of FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Immunity.* 2009; 31: 609-620. 査読あり

DOI: 10.1016/j.immuni.2009.09.003

〔学会発表〕（計 1 件）

1. Kitoh A., Nakamizo S., Miyachi Y.,  
and Kabashima K.  
Analysis of the mechanism underlying  
contact hypersensitivity-induced hair  
growth  
第 36 回日本研究皮膚科学会総会  
2011 年 京都

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鬼頭 昭彦 (KITOH AKIHIKO)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号：40508438