

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19604

研究課題名(和文) 全身性エリテマトーデスにおけるCD4+CD52+細胞の免疫調節に関する研究

研究課題名(英文) CD4+ CD52lo T-cell expression contributes to the development of systemic lupus erythematosus.

研究代表者

梅田 雅孝 (UMEDA, Masataka)

長崎大学・病院(医学系)・助教

研究者番号：20750053

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：全身性エリテマトーデス(SLE)は自己抗原に対する免疫寛容の破綻により様々な免疫異常を呈する疾患である。SLE患者の末梢血中ではCD4+CD52loT細胞という免疫担当細胞の割合が増加し、その数は病勢や自己抗体産生と相関することをなどを証明した。またケモカインであるTARCはCD4+CD52loT細胞の分化を誘導することを明らかにした。この細胞分画の機能異常がSLEの病態形成に影響している可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The CD52 is widely expressed in lymphocytes. CD4+CD52hi T cells are functioning suppressor CD4+T cells. We investigated the role of the immune regulation of CD4+CD52 T cells in systemic lupus erythematosus (SLE). CD4+CD52lo T cells were increased in SLE patients, in positive correlation with SLEDAI, anti-ds-DNA antibody, and IgG concentration. Circulating follicular helper-like T cells (Tfh-like cells) were also increased in SLE, in positive correlation with CD4+CD52lo T cells. Chemokine receptor 8 (CCR8) expression in CD4+CD52lo T cells was increased. In vitro experiments using CD4 T cells of SLE patients showed that thymus and activation-regulated chemokine (TARC), a ligand of CCR8, contributed to the development of CD4+CD52hi T cells into CD4+CD52lo T cells. Our findings suggest that CD4+CD52lo T-cell upregulation is involved in the production of pathogens by autoantibodies, and TARC may contribute to the development of SLE through an aberrant induction of CD4+CD52lo T cells.

研究分野：リウマチ・膠原病内科学分野

キーワード：全身性エリテマトーデス CD52 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) は若い女性に多く、蝶形紅斑、関節炎、腎炎、中枢神経症状などの多彩な症状を呈する自己免疫疾患である。SLE の病態生理は非常に多様で、自己抗体の産生亢進と抗原・抗体が結合した免疫複合体などにより多臓器の障害を呈する。

CD52 分子は B 細胞、T 細胞、単球/マクロファージなどの免疫系細胞に広く発現している。CD4⁺CD52^{hi} T 細胞から Phospholipase C (PLC) によって切断された可溶性 CD52 は Siglec-10 を介して CD4⁺ CD52^{lo} T 細胞の活性化を抑制することが報告されており、自己免疫性疾患などの病態に関与することが示唆されている。1 型糖尿病モデルの NOD mice では増加した CD4⁺CD52^{lo} T 細胞は CD4⁺ 細胞の活性化を誘導し、リンパ球養子移入モデルでは CD4⁺CD52^{hi} T 細胞を deplete することにより 1 型糖尿病の発症が促進されると報告されており (Nat Immunol. 2013 Jul;14(7):741-8.)、CD4⁺CD52^{hi} T 細胞は従来の制御性 T 細胞とは異なる抑制機能を持った細胞集団として認識されている。一方、CD4⁺CD52^{lo} T 細胞は IFN- γ などの炎症性サイトカインを多く産生し免疫反応を促進する集団とされている。

自己免疫疾患である 1 型糖尿病における CD52 分子の機能が報告されているが、これと同様に T 細胞機能異常や自己抗体産生が病態に関与している SLE においては同分子の働きは不明である。T 細胞の観点から SLE の免疫異常を考えると、エフェクター T 細胞と制御性 T 細胞のバランスは重要である。本研究で着目する CD4⁺CD52^{hi} T 細胞と CD4⁺CD52^{lo} T 細胞は近年明らかにされた細胞分画であり、自己免疫疾患における新規の標的細胞である。SLE 患者におけるこれらの細胞分画が担う免疫調整については未知なる領域であり、本研究は独創的であると

考えた。これらの細胞の SLE における挙動が明らかになれば、SLE の新たなバイオマーカーならびにそれを用いる治療法に繋がると考えられ、既存の検査・治療法では解決できない SLE 診療の諸問題に多大な利益をもたらす可能性を秘めていると考えた。

2. 研究の目的

- (1) SLE における CD4⁺CD52^{lo} T cell の発現と臨床パラメーターとの相関の解析。
- (2) SLE における CD4⁺CD52^{lo} T cell を誘導するメカニズムの解析。

3. 研究の方法

- (1) SLE 患者 N=64、関節リウマチ (RA) 患者 N=23、健康人 N=33 のヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を分離、フローサイトメーターにて CD3⁺T 細胞における CD4⁺CD52^{hi} と CD4⁺CD52^{lo} の発現を解析した。CD4⁺CD52^{hi} T 細胞と SLE の臨床的パラメーターとの相関を検討した。また CD4⁺CD52^{lo} T 細胞と、follicular helper like T 細胞 (Tfh like 細胞: CD4⁺ CD45RA⁻ CXCR5⁺ PD1⁺ ICOS⁺) を解析し、CD4⁺CD52^{lo} T 細胞との相関を検討した。
- (2) CD4⁺CD52^{hi} T 細胞と CD4⁺CD52^{lo} T 細胞の遺伝子発現を解析するため SLE 患者 5 名よりソーティングフローサイトメトリーにて CD4⁺CD52^{hi} T 細胞と CD4⁺CD52^{lo} T 細胞を分取した後に RNA を抽出、cDNA マイクロアレイ (SurePrint G3 Human GE 8x60K) を行い、同定した遺伝子の機能に関する *in vitro* 解析を行った。

4. 研究成果

SLE 患者は、健康人および RA 患者と比較し CD4⁺CD52^{lo} T 細胞の割合が増加していた。SLE 患者における血清可溶性 CD52 は他群と比較して低値を示した。SLE 患者の CD4⁺ CD52^{lo} T 細胞 (%) は SLEDAI (SLE 疾患活動性指標)、抗 ds-DNA 抗体価、血清 IgG 値と正

の相関を示した。SLE 患者では既報 (Arthritis Rheumatol.2015 67:988-99.) の通り、Tfh like 細胞の割合が増加していたが、Tfh like 細胞の発現は CD4⁺CD52^{lo}T 細胞と正の相関を呈した。これらのことから CD4⁺CD52^{lo}T 細胞は形質細胞分化を介した機序により SLE の自己抗体産生へ関与している可能性が考えられた。

次に SLE 患者において CD52^{low}T 細胞を誘導する因子を同定するため CD52^{low} および CD52^{high} T cell における cDNA マイクロアレイを行い遺伝子情報の比較解析を行なった。CD4⁺CD52^{lo} T 細胞においてはケモカインレセプターの発現に着目したところ Chemokine Receptor (CCR)2、CCR5、CCR8、C-X-C Motif Chemokine Receptor 2 (CXCR2) の mRNA 発現が亢進していた。次に SLE 患者より分離した CD4⁺T 細胞と上記 4 つの CCR に対応するリガンド (Growth Related Oncogene(GRO), Monocyte Chemoattractant Protein-1(MCP-1), regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted (RANTES), thymus and activation-regulated chemokine (TARC), Interleukin-8 (IL-8)) とともに 24 時間培養を行った後に CD4⁺CD52^{lo} T 細胞発現を解析した。その結果、CCR8 のリガンドとして報告されている TARC が CD4⁺CD52^{lo}T 細胞を誘導することが明らかとなった。この結果より、TARC は CD4⁺CD52^{lo}T 細胞の誘導を介した機序により SLE の病態形成に関与している可能性が示された。

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 1 件)

Umeda M, Koga T, Ichinose K, Igawa T, Sato T, Takatani A, et al. CD4⁺ CD52^{lo}

T-cell expression contributes to the development of systemic lupus erythematosus. Clinical immunology (Orlando, Fla). 2018;187:50-57. (査読あり).

[学会発表](計 1 件)

Umeda M, Koga T, Ichinose K, Igawa T, Kurushima S, Takatani A, Shimizu T, Fukui S, Nishino A, Horai Y, Kawashiri S, Iwamoto N, Hirai Y, Tamai M, Nakamura H, Origuchi T, Kawakami A. The CD4+CD52low T cell Contributes to the Development of Systemic Lupus Erythematosus through the CCR8/TARC Pathway. Japan college of Rheumatology International Concurrent Workshop、2017 年 4 月

[図書]

なし

[産業財産権]

なし

[その他]

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

梅田 雅孝 (UMEDA, Masataka)

長崎大学・病院 (医学系)・助教

研究者番号 : 20750053

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

古賀 智裕 (KOGA, Tomohiro)

長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系)・

助教

研究者番号：90537284

一瀬 邦弘(ICHINOSE, Kunihiro)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・

講師

研究者番号：60437895