

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10001

研究課題名(和文)断片化抗CD3抗体による免疫調節と自己免疫疾患治療

研究課題名(英文)Modified anti-CD3 as a therapeutic antibody for lupus

研究代表者

水井 理之(Mizui, Masayuki)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：30423106

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：SLEなどの自己免疫において、自己反応性Tリンパ球の機能を制御することは、疾患の進展抑制において標的となりうる。T細胞受容体(TCR)発現を低下させる作用を有し、補体活性や貪食誘発作用を欠落させた抗CD3サイレント抗体を用いて、自然発症SLEマウスモデルであるNZB/W F1マウスへの効果を検討したところ、若年マウスにおいては自己抗体産生を、疾患活動期での投与では肺や腎などの臓器障害を軽減しうることを見出した。この作用機序として、濾胞性ヘルパーT細胞分化抑制や、自己反応性エフェクターT細胞の臓器への浸潤や活性化抑制を介していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗CD3サイレント抗体は、TCR発現を低下させることにより、SLE早期では自己抗体産生を、中後期においては臓器の炎症惹起を抑制することにより、自己免疫疾患を改善させることが示唆された。ヒトにおける当該抗体はすでに存在しており、これらのメカニズムをさらに詳細に検討し解明することで、近い将来臨床応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Modulating functions of autoreactive T-lymphocytes could be a therapeutic strategy for autoimmune diseases including systemic lupus erythematosus. Anti-CD3 silent antibody, which lacks binding activity both to complement and to Fc receptor, can induce down-regulation of T cell receptor (TCR). To address the efficacy of anti-CD3 silent antibody for the treatment of autoimmune diseases, the antibody was injected intraperitoneally once a week for 4 times into lupus prone NZB/W F1 mice at the age of 10 weeks or 20 weeks. As a result, we found that anti-double strand DNA antibody was reduced in mice of younger age with the suppression of differentiation of T follicular helper cells. Furthermore, when mice were treated at the age of 20 weeks, tissue damages such as lung and kidney were significantly attenuated with the association of reduced infiltration of inflammatory cells. Taken together, we propose that anti-CD3 silent antibody could have therapeutic potential for SLE.

研究分野：臨床免疫アレルギー学

キーワード：抗CD3サイレント抗体 SLE 自己抗体 臓器障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

TCR の発現量と自己免疫疾患の関連性の発端は、SLE モデルマウスで TCR コンポーネントである CD247 をヘテロで欠損させた場合に、自己免疫疾患が著明に軽快することを見出したことであるが、その後の解析にて自己抗体産生が CD247(+/-) マウスで有意に減少していること、免疫細胞数や TCR シグナルは CD247(+/+)と同等であるが、TCR 発現量が約 30%減弱していることが判明した。外来抗原で免疫した際にも抗原特異的抗体産生が低下していたことから、TCR 発現量低下が抗体産生減少を引き起こす可能性が示唆された。これらの結果より、治療的介入により TCR 発現を低下させると抗体産生や組織傷害を軽減させることが可能か否かを明らかにすることを目的として、以下の検討を行うこととした。

## 2. 研究の目的

T 細胞受容体 (TCR) の発現を調節することによって、自己免疫疾患の組織傷害や抗体産生を抑制できる可能性について、検証を行った。

## 3. 研究の方法

方法としては TCR 発現を低下させる効果のある抗 CD3 抗体を用いている。これまでヒトにおいて移植医療として使用されてきた抗 CD3 抗体 (OKT3) は、その副反応が強いこともあり十分な効果を見いだせず、現在は販売中止となっている。申請者はこれまでの検討により、断片化抗 CD3 抗体 (anti-CD3e F(ab')<sub>2</sub>) をマウスに投与することにより、T 細胞を除去することなく TCR 発現を低下させることができ、抗体産生反応を減弱させることができることを確認しているが、自己免疫疾患等へ治療効果があるかどうかを目的として、疾患発症後 10 週齢の MRL/lpr マウスに抗体を 20 および 100 mg/body を 3 日毎に投与した。その結果、100 mg/body 投与群においてのみ、CD4 陽性 T 細胞と CD4-CD8-T 細胞での TCR 発現量は低下したが、同時に活性化マーカーである CD69 発現が CD4, CD8 にて著明に増加していた。これに対し、Treg は明らかな増加を認めなかった。さらに、2 週間の投与では、MRL/lpr マウスの自己免疫疾患の軽減は明らかではなかった。これらの結果は、断片化 CD3 抗体においては、TCR 発現は低下させるものの、同時に T 細胞に軽度の刺激が入ることにより、免疫反応低下が相殺されていることが考えられた。断片化抗 CD3 抗体は、疾患発症後に投与した場合には効果は減弱してしまう可能性は否定できない。

そこで、断片化抗 CD3 抗体 (Anti-CD3e F(ab')<sub>2</sub>) に代わり、Hamster およびマウス由来の、Fc 部分の補体結合と Fc 受容体結合活性を欠落させた抗 CD3-Fc fragment 不活化抗体 (anti-CD3 Silent) を入手し、比較する目的で、C57BL/6J マウスに 20 mg 投与した。Hamster と Mouse の比較では、双方ともに同様の TCR 減弱効果を認めたため、より抗原性の少ない Mouse 由来の anti-CD3 Silent 抗体を使用することとした。

## 4. 研究成果

まず、C56BL/6J マウスに腹腔内投与することにより anti-CD3 silent と通常の anti-CD3 抗体の生体内における効果の相違を検討したところ、anti-CD3 silent 抗体は、通常抗体に比し、長期間安定した TCR 発現抑制効果が認められることがわかった。次に、ヒト SLE モデルのひとつである MRL/lpr マウスへの anti-CD3 silent 抗体投与を行ったが、その結果自己抗体産生抑制、組織傷害抑制効果は明らかではなかった。これは、MRL/lpr マウスの T 細胞が腫瘍性に増殖するため、抗体の標的細胞へのデリバリーが十分に行われなかったことが原因と考えられた。そこで別の自然発症 SLE モデルマウスである、NZB/W F1 マウスを使用することとした。このマウスでは、20 週齢以降に自己抗体上昇を伴う強い自己免疫性臓器障害を生じることがわかっている。まず、臓器障害が明らかになる前の 10 週齢より 1 ヶ月間、anti-CD3 Silent 抗体を投

与したところ、自己抗体である抗 ds-DNA 抗体価の上昇が抑制されることが判明した。これに対し、通常の anti-CD3 抗体では、減少効果は認められなかった。さらに、silent 抗体投与マウスにおいては、対照群に比して脾臓における濾胞性ヘルパーT 細胞数減少とともに濾胞中心 B 細胞の有意な減少を認めた。このことは、自己反応性 T 細胞の活性化抑制を介して、結果として抗体産生減少が誘導されたことを示唆するものである。

さらに、より疾患が重篤化する 20 週齢から 1 ヶ月間、同様に anti-CD3 silent 抗体を投与した。この週齢からの投与では、抗 ds-DNA 抗体価の抑制効果は認められなかった。しかしながら、腎臓や肺といった末梢臓器において、リンパ球やマクロファージなどの炎症細胞浸潤は抑制されており、特に腎系球体における細胞浸潤は著明に抑制されていた。さらに、腎実質における炎症性サイトカインの発現も減少傾向が認められた。通常の anti-CD3 抗体投与群では、炎症抑制効果は有意ではなかったことから、anti-CD3 silent 抗体による安定した長時間の TCR 発現抑制によって、局所での炎症惹起が抑えられたと考えられる。

これらの結果より、anti-CD3 silent 抗体は、TCR 発現を低下させることにより、SLE 早期では自己抗体産生を、中後期においては臓器の炎症惹起を抑制することにより、自己免疫疾患を改善させることが示唆された。得られた結果は現在投稿準備中である。ヒトにおける当該抗体はすでに存在しており、これらのメカニズムをさらに詳細に検討し解明することで、近い将来臨床応用が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Masayuki Mizui and George C. Tsokos	4. 巻 9
2. 論文標題 Targeting Regulatory T Cells to Treat Patients With Systemic Lupus Erythematosus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 786-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00786">https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00786</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----