

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：74314

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08400

研究課題名(和文) 全身性エリテマトーデスにおけるSOCS1の役割の解明と治療への応用

研究課題名(英文) Elucidating the role of SOCS1 in systemic lupus erythematosus and its therapeutic applications

研究代表者

高橋 令子 (Takahashi, Reiko)

公益財団法人田附興風会・医学研究所 炎症・免疫研究部・主任研究員

研究者番号：90422120

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、JAK-STATシグナル制御因子SOCS1の発現変化とSLEの病態への影響を検討した。T細胞、制御性T細胞(Treg)特異的SOCS1欠損マウスではTregの抑制機能が低下することを報告してきたが、SOCS1トランスジェニックマウス(SOCS1 Tg)ではSLE病態がむしろ増悪することを解明した。SOCS1 Tg由来のTregは炎症下でも抑制機能が亢進し、一方non-Treg細胞ではアポトーシスやサイトカイン産生の増加を認めた。SLE患者末梢血でのSOCS1過剰発現はアポトーシスを誘導した。結論として、SOCS1の発現レベルが高くて低くてもSLEの病態を悪化させる可能性が示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SOCS1欠損マウスの実験にて、制御性T細胞の可塑性防御を含む抑制機能の安定におけるSOCS1の重要性を報告してきたが、本研究にてSOCS1の発現レベルが高くて低くてもSLEの増悪に寄与することが解明され、SLEの病態理解の一助ともなり得る。SLE病態の経時的変化で解析すること、すなわちダイナミクスの理解の重要性が示唆される。SLEの治療への応用に向けて、SOCS1の発現調整と免疫システムの制御についてさらなる解明が必要とされる。

研究成果の概要(英文)：This study examined the impact of changes in the expression of the JAK-STAT signaling regulator suppressors of cytokine signaling (SOCS) 1 on the pathology of systemic lupus erythematosus (SLE). We previously reported that T cell and regulatory T cell (Treg)-specific SOCS1-deficient mice exhibit reduced Treg suppressive function. However, we found that SOCS1 transgenic mice (SOCS1 Tg) show exacerbated SLE pathology. Tregs from SOCS1 Tg mice had enhanced suppressive function even under inflammatory conditions, while non-Treg cells exhibited increased apoptosis and cytokine production. In the peripheral blood of SLE patients, overexpression of SOCS1 induced apoptosis. In conclusion, the study suggests that both high and low levels of SOCS1 expression can potentially worsen SLE pathology.

研究分野：臨床免疫学

キーワード：SOCS1 SLE 制御性T細胞 サイトカイン アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

本研究では、全身性エリテマトーデス (SLE) の病態と免疫寛容で重要な役割を担う JAK-STAT シグナリングの制御分子である suppressors of cytokine signaling (SOCS) 1 の関連を明らかにし、治療標的への応用を目指す。SOCS1 の SLE 病態における重要性の科学的根拠は、以下の2点である。

モデル動物におけるSOCS1の欠損とSLE様症状の関係

申請者は、T細胞や制御性T細胞 (Treg) 特異的 SOCS1 欠損マウスが関節炎、皮膚炎、DNA抗体上昇などのSLE様の自己免疫病態を発症することを発見した。その際のSOCS1欠損Tregは、Tregの可塑性の亢進、すなわち Foxp3 プロモーター/エンハンサーの脱メチル化の低下によるFoxp3の発現の低下と炎症性サイトカイン産生による抑制能低下という機能異常を示すことを解明した (Takahashi R et al., *J Immunol.* (2017), Takahashi R et al., *J Exp Med.* (2011))。

SOCS1の発現制御とSLE病態のリンク

SOCS1は一旦誘導されるとどの細胞でもサイトカイン-JAKカスケードを抑制するが、SOCS1自体の挙動を制御するメカニズムは複雑である (Yamada et al., *Int Immunol* (2006))。上記のT細胞、Treg特異的のみならず各種免疫担当細胞特異的SOCS1欠損マウスで、SOCS1がJAK-STATサイトカインシグナルの制御することで免疫寛容を維持し、自己免疫現象を抑制するのに必須の役割を担っていることが示されている (Yoshimura A et al., *Nat Rev Immunol* (2007))。SLE患者の末梢血単核球や腎炎の組織でSOCS1の発現が低下していることも報告されている (Zhou H et al., *J Am Soc Nephrol* (2013), Sukka-Ganesh B et al., *Scand J Immunol* (2016))。

以上のことから、SOCS1の発現調節とSLE様症状の関連がモデル動物実験や臨床研究で強く示唆されているが、SLEの病態の分子基盤の解明と新規治療法開発のためには、SLE病態とSOCS1欠損の解析のみならず、SOCS1発現動態、症状の重篤度とSOCS1発現量の相関、SLE患者におけるSOCS1の発現調節メカニズムなど、明らかにしなくてはならない点が多く残されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、SLE病態とSOCS1の発現動態の関連を究明し、SLEの治療エビデンスの集積とSOCS1をターゲットとした新規治療の開発を目指す。

3. 研究の方法

1) SOCS1トランスジェニック (SOCS1 Tg) マウスへのSLE病態の誘導

T細胞やTreg)特異的SOCS1欠損マウスの結果を元に、今度はT陽性細胞特異的SOCS1 TgマウスにSLE病態を誘導して解析を施行した。年齢をマッチさせた8週齢の雌の野生型 (WT) マウスとSOCS1 Tgマウスの耳に、既報のようにイミキモドクリームを1日おきに8週まで投与し、DNA抗体の測定や病理学的解析を施行した。

2) SOCS1 TgマウスのTregの解析

フローサイトメトリーにて、総リンパ球数の変化、T細胞数、B細胞数の変化に加えて、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺細胞すなわちTregの割合の変化、細胞数の変化、phenotypeの変化に加えて、CD4⁺CD25^{bright}細胞をセルソーターで採取して、*in vitro*, *in vivo*の培養で機能解析を施行した。TregをCD3/CD28刺激下、IL-2 40ng/ml添加にて72時間培養し、Tregの可塑性の変化も検討した。

3) SOCS1 Tgマウスのnon-Tregの解析

CD4⁺CD25⁻細胞すなわちnon-Tregの割合の変化、細胞数の変化、サイトカイン産生能を含むphenotypeの変化に加え、*in vitro*の培養でアポトーシスの変化を解析した。

4) 患者検体でのSOCS1変動の解析

ヒトSOCS1 cDNAを増幅し、pENTRエントリーベクターにサブクローニングし、LR Clonase IIを用いて発現ベクターに導入した。SLE患者由来のPBMCのトランスフェクションはエレクトロポレーション法で行い、トランスフェクションされたPBMC 5 × 10⁴/well を、CD3/CD28刺激下、IL-2 10ng/ml添加にて培養し、アポトーシスの変化を解析した。

4. 研究成果

1) SOCS1トランスジェニック (SOCS1 Tg) マウスにSLE病態を誘導した時、その病態は抑制されるか

SLE様表現型はDNA抗体測定と病理学的解析により、WTマウスでSLEを誘導した場合よりもSOCS1 Tgマウスにおいて誘導した時に抑制されず、むしろ悪化することを発見した。

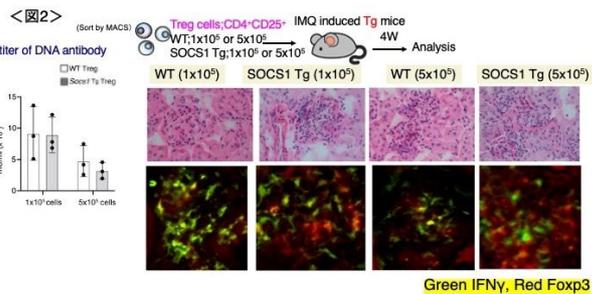
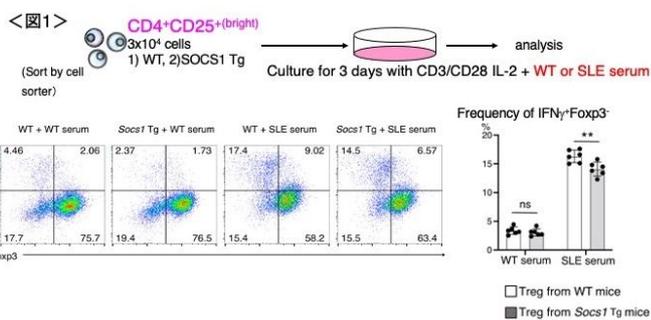
SOCS1欠損マウスでの結果と整合しない結果が得られ、そのメカニズムの解析を進めた。

2) SOCS1 Tg マウスの Treg の解析

in vitro では、SOCS1 Tg マウス由来の Treg は、WT マウスの Treg よりも、炎症条件下 (WT マウスよりも SLE 誘導マウスからの血清を培養上清に添加した時) でも可塑性を阻止して安定した抑制機能を持つことを解明した (図1)。

in vivo では、WT マウスそのままよりも WT マウスに SLE を誘導したマウスに対して Treg を移入した時に、SOCS1 Tg マウス由来の Treg は WT マウスの Treg よりも強力に SLE の病態を抑制した。さらに、SLE 病態を WT ではなく SOCS1 Tg マウスに誘導した状態で同様の実験を行ったところ、SLE 誘導 WT マウスと同量の WT マウスまたは SOCS1 Tg マウス由来の Treg では SLE 病態を抑制できなかったが、SOCS1 Tg マウス由来の Treg を十分量 (1×10^5 から 5×10^5 個に増量) 移入することで抑制できた (図2)。

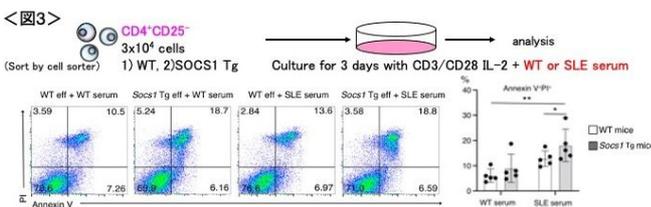
SOCS1 Tg マウスの Treg の抑制機能は、可塑性の防御を伴って WT マウス由来の Treg よりも強力であり、SLE のような炎症環境でその差異がさらに顕著になる。



3) SOCS1 Tg マウスの non-Treg の解析

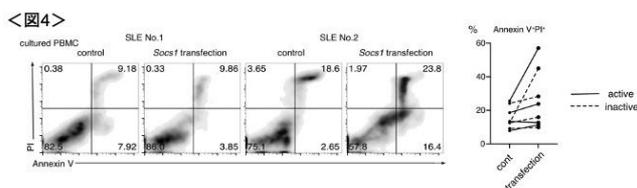
SOCS1 Tg マウスにおいて、脾臓やリンパ節で non-Treg 細胞数が減少し、IL-17A などのサイトカインが産生される傾向が認められ、それらの表現型は SLE の病態誘導で強調された。non-Treg 細胞の減少の原因として、SOCS1 Tg マウスの non-Treg は IL-7 レセプターの発現が低下し、アポトーシスを増加させることを解明した。これは SLE 病態下 (WT マウスよりも SLE 誘導マウスからの血清を培養上清に添加した時) で強調された (図3)。

SOCS1 Tg マウスの non-Treg は、SLE 病態を増悪させる性質を有している。



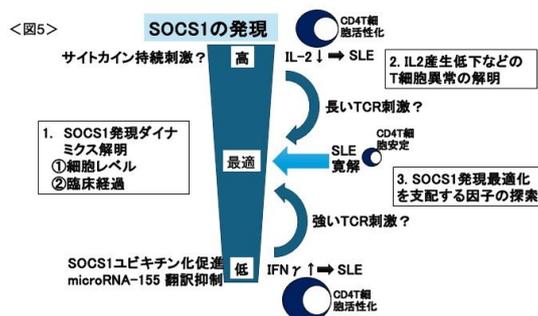
4) 患者検体での SOCS1 変動の解析

SLE 患者の末梢血リンパ球における SOCS1 の発現は、SLE の活動性と特徴的な関係を示さなかった。しかし、SLE 患者のリンパ球に SOCS1 をトランスフェクションすると、一部の患者でアポトーシスが亢進した (図4)。SLE の活動性との関連は認めなかった。



総括すると、SOCS1 の持続的なアップレギュレーションあるいはダウンレギュレーションは、異なるメカニズムを通して CD4⁺ T 細胞に変化を引き起こし、SLE の病態を悪化させる。SOCS1 の治療応用の可能性のみならず、SLE の病態メカニズムの理解のためにも、これらの動態のメカニズムや制御する因子を探索するなど、さらにこれらを探索することの重要性が示唆される (図5)。特に SLE のような病気における、スナップショット解析のみならず、ダイナミクス解析の重要性を呈示する。

研究期間中に、SOCS1 の機能喪失変異家系が発見され、SLE などを発症することが明らかになった (Nature (2020), Nat Commun (2020))。申請者らのマウスでの SOCS1 欠損 Treg の解析結果が、患者でも観察されることが解明された。今後さらに SLE などの自己免疫疾患制御における SOCS1 への着目が高まることが推察される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 高橋令子、井村嘉孝
2. 発表標題 SLE患者における補体とサイトカイン経路抑制分子SOCS1の関係の解析
3. 学会等名 第58回日本補体学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋令子、井村嘉孝
2. 発表標題 全身性エリテマトーデスの病態抑制におけるSOCS1の適切な発現の重要性
3. 学会等名 第50回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Reiko Takahashi, Yoshitaka Imura
2. 発表標題 Fluctuations in SOCS1 expression in the pathogenesis of SLE
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Reiko Takahashi Akihiko Yoshimura Yoshitaka Imura
2. 発表標題 Enforced expression of SOCS1 leads to progression of lupus pathology with stable suppressive function of regulatory T cells
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋令子, 井村嘉孝
2. 発表標題 SLE病態形成過程でのSOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1)の関与
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋令子, 井村嘉孝
2. 発表標題 SOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1)のSLE病態における役割
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋令子
2. 発表標題 SLEモデルマウスへの治療薬投与の結果を基にした制御性T細胞の変化などの病態機序の解明
3. 学会等名 日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Reiko Takahashi
2. 発表標題 One role of regulatory T cells based on the result of administration of the therapeutic agent to lupus model mouse
3. 学会等名 日本免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋令子、井村嘉孝
2. 発表標題 SOCS1の発現異常とSLE病態の關係の解明
3. 学会等名 第51回日本臨床免疫学会總會
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Reiko Takahashi, Yoshitaka Imura
2. 発表標題 Persistent Up- or Down-regulation of SOCS1 Exacerbates the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus Through Several Mechanisms
3. 学会等名 American College of Rheumatology convergence 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------