

平成 22 年 6 月 5 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19790701

研究課題名（和文） ループス腎炎における PD-1/PD-L 共刺激分子の関与

研究課題名（英文） Association of the PD1/PD-L co-stimulatory pathway in lupus nephritis.

研究代表者

旗智 さおり (HATACHI SAORI)

財団法人田附興風会・医学研究所 第4研究部・研究員

研究者番号：70414117

研究成果の概要（和文）：

全身性自己免疫疾患の腎病変における PD-1/PD-L1 の関与を検証することを目的として、当施設にて行われた腎生検組織検体を用いて同分子の発現を免疫組織染色にて検討した。原疾患やループス腎炎のサブクラスに関わらず、間質浸潤炎症細胞および尿細管上皮に PD-1/PD-L1 の発現を認めたが、我々が報告したループス腎炎モデルマウスである NZB/W F1 マウスの結果とは異なり、糸球体内皮細胞における PD-L1 の発現は確認できなかった。以上より疾患に関わらず腎での免疫応答に PD-1/PD-L1 分子が関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

To investigate the role of the PD-1/PD-L system in the pathology of renal involvement of systemic autoimmune diseases (SAD), we examined the expression of PD-1 and its ligand PD-L1 in renal biopsy specimens from patients with SAD. Immunohistochemical analysis showed that PD-1/PD-L1 was expressed on inflammatory cells infiltrated in the periglomerular regions and on urinary tube epithelial cells. These findings were no relation to the type of SAD and the subclasses of lupus nephritis. Unlikely on our previous report about NZB/W F1 mice, a model of lupus-like nephritis, PD-L1 was not expressed in the glomeruli. These results suggested that the PD-1/PD-L1 pathway may be related to the immunological reaction in the progression to nephritis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,000,000	0	1,000,000
2008年度	(育児休業による交付申請留保)		
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	1,900,000	270,000	2,170,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病、アレルギー、感染症内科学

キーワード：膠原病学、ループス腎炎、PD-1、PD-L1

1. 研究開始当初の背景

(1) 全身性自己免疫疾患の一つである全身性エリテマトーデス (SLE) は共刺激分子の機能異常によるトレランス破綻が病態に関与しているとされるが、病因・病態・治療は未だ研究途上である。

(2) PD-1/PD-L1はT細胞活性化の制御に関与する抑制性共刺激分子でCD28/B7ファミリーに属する。それゆえ、免疫バランスの維持に重要な働きを持ち、自己免疫疾患の病態に大きく関与している。PD-1のノックアウト (KO) マウスはループス様糸球体腎炎を発症し、ヒトにおいてもPD-1はSLEの疾患感受性遺伝子の一つである。

(3) 自らの研究では関節リウマチ (RA) 関節液、シェーグレン症候群 (SJS) 唾液・唾液腺組織で浸潤炎症細胞におけるPD-1発現と臓器特異的細胞 (滑膜細胞や唾液腺上皮細胞) におけるPD-L1発現を証明している。また、SLEモデルマウスであるNZB/W F1マウスにおいてメサングウム領域にPD-L1の発現を確認している。

2. 研究の目的

- (1) ループス腎炎患者の腎生検組織免疫染色で同分子の発現を明らかにする。
- (2) 新WHO class分類のサブクラス別に(1)の結果を比較検討する。
- (3) SLE以外の全身性自己免疫疾患における腎疾患での同分子の発現と比較する。

3. 研究の方法

- (1) SLEを中心とした全身性自己免疫疾患患者を対象に当施設にて診断・治療方針決定目的に行われた腎生検組織検体の凍結切片を用いる。
- (2) モノクローナル抗体 (抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体) を用いて免疫染色を行い、デジタル蛍光顕微鏡で観察する。

(3) 同分子の発現分布や発現強度について、疾患別の比較、ループス腎炎クラス別の比較、再生検症例では治療前後の比較を行う。

4. 研究成果

(1) 症例の内訳

SLE9例、SJS2例、SLE+SJS2例、RA2例、顕微鏡的多発血管炎 (MPA) 1例の計16例、のべ17検体で検討を行った (表1)。ただし、症例6と症例14は同一患者のSLE発症時と治療効果判定時の検体である。

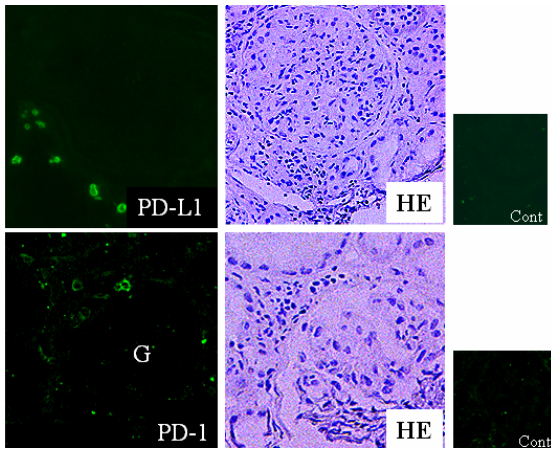
症例	疾患名	年齢	性別	罹病期間	腎生検時治療薬
1	SLE	33	F	1か月	PSL (60mg)
2	SLE Diabetes	60	M	13年	PSL (10mg) AZA
3	SLE	34	F	2年	PSL (9mg) MMF
4	SLE	37	F	16年	PSL (10mg) MMF
5	SLE	35	F	11年	PSL (15mg) MMF
6	SLE	46	F	0	PSL (55mg)
7	SLE	52	F	4年	PSL (6mg)
8	SLE, SJS	46	F	0	-
9	SLE, SJS	43	F	4か月	PSL (30mg)
10	SJS	73	M	1年	-
11	SJS, TBc	45	F	2か月	-
12	MPA	75	M	4か月	PSL (10mg)
13	RA	66	M	34年	PSL (25mg) AZA
14	SLE	47	F	4か月	PSL (15mg) MMF
15	SLE	24	F	5年	PSL (17.5mg) MZB
16	RA	62	F	3年	PSL (7.5mg) TAC
17	SLE	68	M	14年	-

表 1. 患者背景

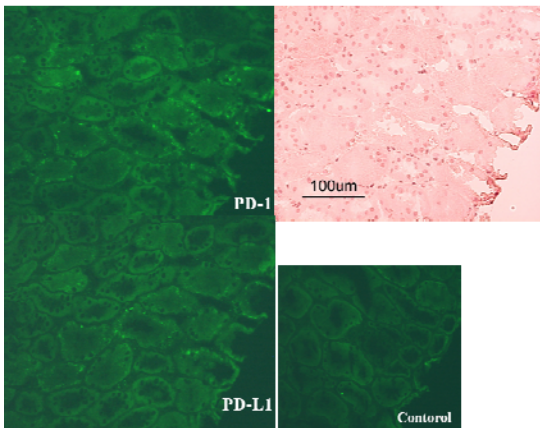
TBc=結核 ; PSL=プレドニゾロン ; AZA=アザチオプリン ; MMF=ミコフェノール酸モフェチル ; TAC=タクロリムス

(2) 免疫染色結果

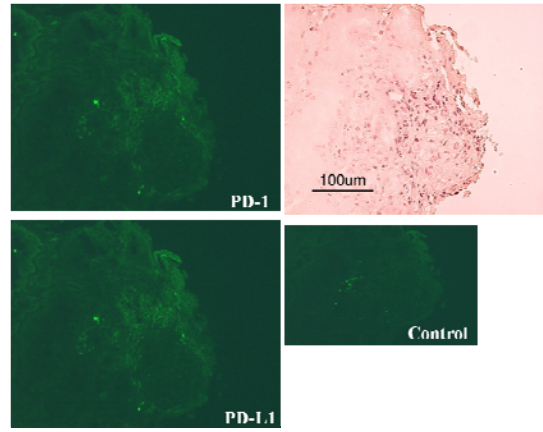
17 例中 5 例に同分子の発現を認めた(表 2)。原疾患やループス腎炎のサブクラスに関わらず、間質浸潤炎症細胞および尿細管上皮に PD-1/PD-L1 の発現を認め、糸球体や血管には発現を認めなかった(図 1、図 2)。特に、間質性腎炎では PD-1/PD-L1 とともに間質浸潤炎症細胞に発現する傾向がみられた(図 3)。



(図 1) 症例 1 間質浸潤炎症細胞に PD-1/PD-L1 の発現を認める。



(図 2) 症例 5 尿細管上皮に PD-1/PD-L1 の発現を認める。



(図 3) 症例 12 間質浸潤炎症細胞に PD-1/PD-L1 の発現を認める。

症例	腎病理所見	PD-1	PD-L1
1	LN III (A/C) + V	I	I
2	LN II + Diabetic nephropathy	-	-
3	LN III (C) + V	-	-
4	LN IV G (A/C) + V	-	-
5	LN V	T	T
6	LN IV G (A)	-	-
7	Interstitial nephritis	-	-
8	LN II + Interstitial nephritis	-	-
9	LN III S (A/C)	-	-
10	Interstitial nephritis with cholesterol embolism	I	I
11	Interstitial nephritis with granulomas	I	I, G
12	Crescentic glomerulonephritis (Pauci-immune type)	I	I
13	Amyloidosis	-	-
14	LN II	-	-
15	LN IV G (A)	-	-
16	RA with vasculitis	-	-
17	LN IV G (A)	-	-

表 2. 腎生検結果一覧

LN=ループス腎炎 ; G=Global ; S=Segmental ; A=Active ; C=Chronic ; I=

Interstitial infiltrating inflammatory cells ; T=Tubules ; G=Glomerulus.

(3)まとめ

原疾患に関わらず、間質浸潤炎症細胞および尿細管上皮にPD-1/PD-L1の発現を認める症例が確認された。ループス腎炎では、必ずしもPD-1/PD-L1の発現は認めなかった。また、モデルマウスとは異なり、糸球体内皮細胞におけるPD-L1の発現は確認できなかった。生検時に、ステロイドや免疫抑制剤の投与下であるので、マウスと違って病態が修飾されている可能性がある。今後さらに症例を集積し、ループス腎炎病態とPD-1/PD-L1発現について詳細な検討が必要であると考えられる。

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6件)

- ① Kasagi S, Kawano S, Okazaki T, Honjo T, Morinobu A, Hatachi S(以下4名省略). Anti-programmed cell death 1 antibody reduces CD4+PD-1+ T cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice. J Immunol. 2010 Mar 1;184(5):2337-47. 査読有
- ② Fujita M, Hatachi S, Yagita M. Dermatomyositis associated with thyroid cancer. Rheumatol Int. 2008 Dec;29(2):203-5. 査読有
- ③ Fujita M, Komatsu K, Hatachi S, Yagita M. Reversible posterior leukoencephalopathy syndrome in a patient with Takayasu arteritis. Mod Rheumatol. 2008;18(6):623-9. 査読有
- ④ Fujita M, Hatachi S, Yagita M. Immunohistochemically proven cytomegalovirus gastrointestinal diseases in three patients with autoimmune diseases. Clin Rheumatol. 2008 Aug;27(8):1057-9. 査読有
- ⑤ Tamaki K, Kogata Y, Sugiyama D, Nakazawa T, Hatachi S (他4名省略). Diagnostic accuracy of serum procalcitonin concentrations for detecting systemic bacterial infection in patients with systemic autoimmune diseases. J Rheumatol. 2008 Jan;35(1):114-9. 査読有
- ⑥ Kurimoto C, Kawano S, Tsuji G, Hatachi S (他7名省略). Thioredoxin may exert a protective effect against tissue damage caused by oxidative stress in salivary glands of patients with

Sjögren's syndrome. J Rheumatol. 2007 Oct;34(10):2035-43. 査読有

[学会発表] (計4件)

- ① 西田美和、大西輝、簗智さおり、古宮俊幸、八木田正人 全身性エリテマトーデスに伴う間質性腎炎を発症した1例 第54回日本リウマチ学会総会・学術集会 2010年4月22-25日 神戸ポートピアホテル
- ② 簗智さおり、笠木伸平、河野誠司、熊谷俊一 全身性自己免疫疾患の腎組織におけるPD-1/PD-L分子の発現 第37回日本臨床免疫学会総会 2009年11月13-15日 東京ステーションコンファレンス
- ③ Shimpei Kasagi, Kawano Seiji, Akio Morinobu, Saori Hatachi (他6名省略). Involvement of IFN- γ producing CD4+PD-1+ T cells in lupus-prone NZB/W F1 mice. 第38回日本免疫学会総会・学術集会 2008年12月1-3日 京都国際会議場
- ④ 笠木伸平、河野誠司、森信暁雄、簗智さおり、熊谷俊一 ループス腎炎モデルマウスにおけるPD-1およびPD-L1の機能解析 第52回日本リウマチ学会総会・学術集会 2008年4月21-23日 ロイトン札幌

6. 研究組織

(1) 研究代表者

簗智 さおり (HATACHI SAORI)

財団法人田附興風会・医学研究所 第4研究部・研究員

研究者番号：70414117