

ヒト免疫疾患における LAG3 陽性制御性 T 細胞に関する研究

研究分担者 藤尾 圭志 東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科 講師
研究協力者 住友 秀次 東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科 助教
仲地 真一郎 東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科 大学院生

研究要旨 免疫応答を抑制する制御性 T 細胞サブセットとして CD4 陽性 CD25 陽性 Foxp3 陽性制御性 T 細胞 (CD25⁺Treg) が知られているが、CD25⁺Treg を欠損すると 1 型糖尿病などの内分泌疾患や、腸炎、皮膚炎を呈するが、関節リウマチ (RA)、全身性エリテマトーデス (SLE) とは異なる表現型となる。分担研究者らは CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Egr2 陽性の新規制御性 T 細胞 (LAG3⁺Treg) をマウスにおいて同定し、この LAG3⁺Treg が IL-10 を産生しつつ B 細胞の抗体産生を抑制すること、その機能欠損により全身性自己免疫疾患を呈することを見出した。このことから、LAG3⁺Treg は B 細胞の免疫応答と局所の炎症を抑制する、CD25⁺Treg と相補的な免疫寛容機構であると考えられる。本研究ではマウスで得られた知見をもとに、ヒトの CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞を同定し解析している。これまでにヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞の IL-10, Egr2, PD-L1 の発現と、試験管内での B 細胞による抗体産生の抑制活性、生体内での移植片対宿主病の抑制を確認していた。今年度はヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞が Fas-FasL および PD-1-PD-L1 依存性に B 細胞のアポトーシスを誘導することを確認した。また臨床データとの関連を検討したところ、SLE, RA の末梢血で CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞の割合の減少を認めしたが、SLEDAI、DAS28 など疾患活動性との明らかな相関を認めなかった。以上の結果からヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞がマウス LAG3⁺Treg と類似していること、その減少が自己免疫疾患の発症の素因となっている可能性が考えられた。

A. 研究目的

免疫応答を抑制する制御性 T 細胞サブセットとして CD4 陽性 CD25 陽性 Foxp3 陽性制御性 T 細胞 (CD25⁺Treg) が知られているが、この CD25⁺Treg は主に T 細胞の免疫応答を抑制し、CD25⁺Treg を欠損すると 1 型糖尿病などの内分泌疾患や、腸炎、皮膚炎を呈するが、関節リウマチ (RA)、全身性エリテマトーデス (SLE) とは異なる表現型となる。このことは CD25 陽性 Treg 以外の免疫寛容システムの異常が RA や SLE に関与している可能性を示唆している。分担研究者らは、CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Egr2 陽性の新規制御性 T 細胞 (LAG3⁺Treg) をマウスにおいて発見し、この LAG3⁺Treg が IL-10 を産生するとともに Fas と PD-L1 依存性に B 細胞の抗体産生を抑制し、その機能欠損により全身性自己免疫疾患を呈することを見出した。よって LAG3⁺Treg は B 細胞の免疫応答と局所の炎症を抑制する、CD25⁺Treg と相補的な免疫寛容機構である

と考えられる。本研究ではマウスで得られた知見をもとにヒトにおいても類似の表現型の細胞の機能を解析することを目的とし、今年度は臨床パラメータとの関連を中心に解析した。

B. 研究方法

健常人の末梢血および扁桃腺、RA、SLE 患者の末梢血において、CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞を回収し、マウス CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞でみられる抗体産生抑制能・炎症抑制能について試験管内および生体内で解析した。また臨床所見・パラメータと CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞の関連を解析した。

(倫理面への配慮)

臨床検体を用いた研究計画については、東京大学医学部倫理審査委員会の承認を受けた。すべての研究は各施設の遺伝子倫理委員会の審査を受け、承認を受けた研究計画に則って実施された。

C. 研究結果

ヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞が

Fas-FasL および PD-1-PD-L1 依存性に B 細胞のアポトーシスを誘導することを確認した。また臨床データとの関連を検討したところ、SLE, RA の末梢血で CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞の割合の減少を認めたが、SLEDAI、DAS28 など疾患活動性との明らかな相関を認めなかった。アバタセプト投与前後で検討したところ、アバタセプト投与後にヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞増加する傾向を認めた。

D. 考察

ヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞と臨床データの関連を解析したところ、SLE, RA では末梢血のヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞の割合が有意に減少しているが、疾患活動性や炎症反応とは相関を示さなかった。以上の結果からヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞がマウス LAG3⁺Treg と類似していること、その減少が自己免疫疾患の発症の素因となっている可能性が考えられた。

E. 結論

ヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞が自己臓器疾患の病態に関与している可能性が考えられ、今後自己免疫疾患症例におけるさらなる解析が必要である。

F. 健康危機情報 総括にて報告

G. 研究発表

1. 論文発表

Sumitomo S, Fujio K, Okamura T, Morita K, Ishigaki K, Suzukawa K, Kanaya K, Kondo K, Yamasoba T, Furukawa A, Kitahara N, Shoda H, Shibuya M, Okamoto A, Yamamoto K. Transcription factor early growth response 3 is associated with the TGF- β 1 expression and the regulatory activity of CD4-positive T cells in vivo. *J Immunol*. 2013;191:2351-9.

Sumitomo S, Fujio K, Okamura T, Yamamoto K. Egr2 and Egr3 are the unique regulators for systemic autoimmunity. *JAKSTAT*. 2013 Apr 1;2(2):e23952.

Iwasaki Y, Fujio K, Okamura T, Yanai A, Sumitomo S, Shoda H, Tamura T, Yoshida H, Charnay P, Yamamoto K. Egr-2 transcription factor is required for Blimp-1 mediated IL-10 production in IL-27 stimulated CD4(+) T cells. *Eur J Immunol*. 2013 Apr;43(4):1063-73.

Fujio K, Okamura T, Sumitomo S, Yamamoto K. Regulatory cell subsets in the control of autoantibody production related to systemic autoimmunity. *Ann Rheum Dis*. 2013 Apr;72 Suppl 2:ii85-9.

2. 学会発表

Keishi Fujio, Tomohisa Okamura, Shuji Sumitomo, Kaoru Morita, Mariko Inoue, Yukiko Iwasaki, Nakachi Shinichiro, Hirofumi Shoda, Kazuyoshi Ishigaki, Kazuhiko Yamamoto. The role of CD4+CD25-LAG3+ regulatory T cells in autoimmune diseases. 第42回日本免疫学会学術総会 国際シンポジウム 平成25年12月11日

Keishi Fujio, Tomohisa Okamura, Shuji Sumitomo, Kaoru Morita, Mariko Inoue, Yukiko Iwasaki, Kazuhiko Yamamoto.

The B cell control by Egr2-expressing CD4+CD25-LAG3+ regulatory T cells. 2013 アジア国際自己免疫学会 平成25年11月21日

Keishi Fujio, Tomohisa Okamura, Shuji Sumitomo, Yukiko Iwasaki, Kazuyoshi Ishigaki, Akiko Okamoto, Kazuhiko Yamamoto. Egr2-mediated control of autoimmunity. JSCIR-MMCB 2013 symposium 平成25年5月21日

Yukiko Iwasaki, Keishi Fujio, Tomohisa Okamura, Atsushi Yanai, Shuji Sumitomo, Hirofumi Shoda, Kazuhiko Yamamoto. Novel IL-10 induction pathway mediated by Egr2 in IL-27-stimulated T cells. 第57回日本リウマチ学会学術集会 ワークショップ 平成25年4月20日

藤尾圭志、岡村僚久、住友秀次、岩崎由紀子、岡本明子、山本一彦「全身性エリテマトーデスと免疫制御細胞」 第57回日本リウマチ学会学術集会 シンポジウム 平成25年4月19日

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他 なし