

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

分担研究者 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た。これまでの本研究で(1)ヒト扁桃腺の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(2)ヒト扁桃腺の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(3)末梢血のCD4陽性CD25陰性LAG3陽性細胞の臨床データとの関連を検討し、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、一方、SLEDAI、DAS28など疾患活動性との明らかな相関を認めない、ことを確認した。今年度は末梢血のCD4陽性CD25陰性LAG3陽性細胞の機能を検討し、末梢血の濾胞性ヘルパーT細胞（TFH）とB細胞の共培養による抗体産生の抑制を確認できた。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に参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、今年度は末梢血のCD4陽性CD25陰性LAG3陽性細胞の機能を検討した。

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

これまで扁桃腺の CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞については、試験管内の抗体産生抑制能が確認できていたが、今回初めて末梢血の CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞が、末梢血の濾胞性ヘルパー T 細胞 (TFH) と B 細胞の共培養による抗体産生を抑制することが確認できた。また末梢血の CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞を培養すると TGF-β3 の mRNA を発現することが判明した。ヒト TGF-β3 のリコンビナントタンパクはヒト B 細胞の分裂および抗体産生を抑制した。アバタセプトは CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞の試験管内での培養に添加すると LAG3 発現を増強した。

D. 考察

ヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞がマウス LAG3Treg と類似した遺伝子発現機能を持つことが明らかとなった。またヒト B 細胞が TGF-β3 感受性であることから、ヒトにおいても TGF-β3 による B 細胞制御機構が存在する可能性が示唆された。ヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞の機能が、アバタセプトの治療効果と関連している可能性が示唆された。

E. 結論

ヒト CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性細胞が自己免疫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

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Okamura T, Sumitomo S, Morita K, Iwasaki Y, Inoue M, Nakachi S, Komai T, Shoda H, Miyazaki JI, Fujio K, Yamamoto K. TGF-β3-expressing CD4+CD25-LAG3+ regulatory T cells control humoral immune responses. Nat Communications.

2015 in press.

Shoda H, Fujio K, Sakurai K, Ishigaki K, Nagafuchi Y, Shibuya M, Okamura T, Yamamoto K. Autoantigen BiP-derived HLA-DR4 epitopes differentially recognized by effector and regulatory T cells in rheumatoid arthritis. Arthritis & Rheumatology. 2015 in press.

2. 学会発表

Keishi Fujio. TGF-beta3-expressing CD4+CD25-LAG3+ regulatory T cells control humoral immune responses. 第 43 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 12 日

藤尾圭志 TGF-beta3 産生による CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性制御性 T 細胞の B 細胞機能抑制 第 79 回日本インターフェロンサイトカイン学会 (札幌) シンポジウム 2014 年 6 月 19 日

Keishi Fujio, Tomohisa Okamura, Kaoru Morita, Mariko Inoue, Yukiko Iwasaki, Shuji Sumitomo, Shinichiro Nakachi, Kazuhiko, Yamamoto. CD4+CD25-LAG3+ regulatory T cells and systemic autoimmunity. 第 58 回日本リウマチ学会 (東京) 国際リウマチシンポジウム 2014 年 4 月 25 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