全身性エリテマトーデス患者由来pDCにおいて IRFファミリー転写因子が果たす役割の解析

埼玉医科大学　リウマチ膠原病科　講師　**佐藤　浩二郎**

【研究の背景】

膠原病は原因不明の炎症性疾患であり、過剰な免疫応答が生体に悪影響を及ぼす自己免疫疾患と考えられている。その病態解明のためには、各種膠原病患者の体内でどのような種類の免疫応答が起きているのかを理解する必要がある。

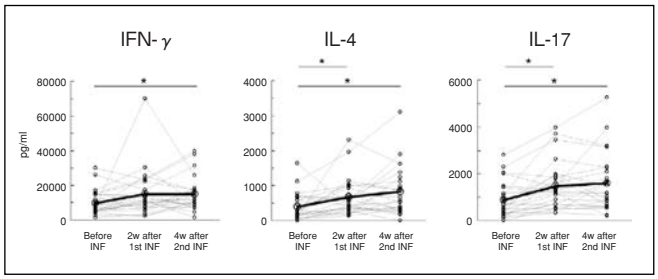
末梢血は比較的安全にサンプルを採取でき、生体の環境を反映することから重要な臨床検体である。たとえば血清中のタンパク質であるCRPの濃度を測定することで全身性の炎症の程度を推測することができる。しかし末梢血を用いて、炎症の程度のみならず炎症の種類を推測することができるだろうか？

免疫応答の分類には様々なものがあるが、免疫応答の種類を決定づける指揮者としての役割を果たす細胞としてヘルパーT（Th）細胞が挙げられる。Th細胞は胸腺において分化した直後はナイーブTh細胞という状態であるが、周囲の環境に応じてTh 1，Th 2 という 2 種類のサブセットに分化することがおよそ30年前に報告された。Th 1 細胞はインターフェロン（IFN）-γを産生してマクロファージを活性化し（細胞性免疫）、細胞内に寄生する病原体（ウイルス、結核菌など）の排除を促進する。Th 2 細胞はインターロイキン（IL）-4，IL-5，IL-13などを産生してB細胞からの抗体産生（液性免疫）を活性化し、細胞外に寄生する病原体（線虫など）を排除する。更に最近、第 3 のエフェクターThサブセットとしてTh17が報告され、これはIL-17などを産生して好中球の増殖、遊走を促進する。結果として各種細菌や真菌感染を終結させる働きがある。免疫応答をこれら 3 種類に分類した場合、各種膠原病はどのグループに属するだろうか。

【T 細胞応答の解析】

血清中のIFN-γ，IL-4，IL-17の濃度を測定すれば上記の答えは出ると考えられる。しかし問題があり、IFN-γは血清レベルで測定できることもあるが、IL-4，IL-17についてはほとんどの場合で測定感度以下である。そこで、代替案として末梢血中の単核球を試験管内で刺激し、産生されるサイトカイン量を測定することがよく行われている。関節リウマチ（RA）患者、全身性エリテマトーデス（SLE）患者、ベーチェット病（BD）患者由来の単核球を用いて刺激後の 3 種類のサイトカイン濃度のバランスを測定したところ、SLEはIL-17優位、BDはIFN-γおよびIL-17優位であった。Th 1 型の疾患、あるいは最近はTh17型の疾患ではないかと言われているRAは意外なことに有意な偏りを示さなかった。

図 1



近年RAの臨床は、レミケードを嚆矢とする生物学的製剤の実用化によって非常に治療成績が良くなっている。このレミケードによる治療前後のサイトカイン産生を調べたところ、興味深いことに治療後にサイトカイン産生が 3 種類とも増加していることが分かった（図 1 ）。これは治療が奏功していないということではな

図 2

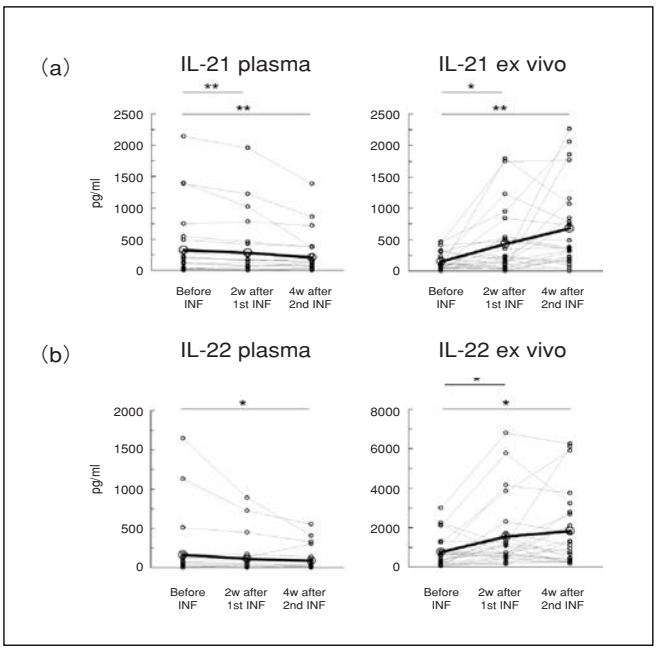
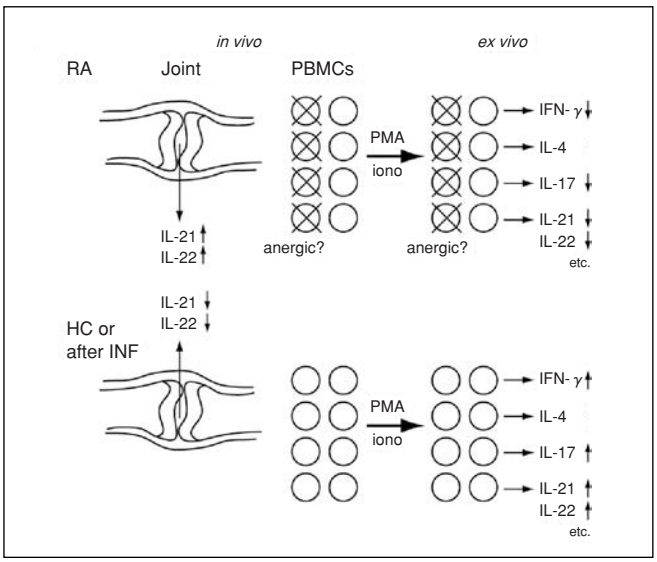


図 3



く、CRP濃度やRA活動性の示標であるDAS28はいずれも治療後に低下していた。この予想外の結果はどのように解釈できるだろうか。CRPはIL-6刺激で肝細胞から産生される。すなわちCRPが低下することは生体内でのIL-6が低下していることを示唆する。ただし血清IL-6もまた測定困難である。単核球刺激後に産生されるIL-6を測定すると、これも治療後に増加していた。すなわち、治療後に生体内（in vivo）のIL-6は低下し、単核球刺激後に産生される（ex vivo）IL-6は増加するという鏡像関係が成立することが示唆された。この仮説を検証するためには血清中で測定できるサイトカインを探索する必要がある。スクリーニングの結果、IL-21およびIL-22が（全検体ではないが）測定感度を超えていることが分かった。in vivo（血清）およびex vivoのこれらのサイトカイン濃度を測定すると予想通り逆相関の関係が確認された（図2）。ではどうしてin vivoとex vivoのサイトカイン濃度が逆相関するのだろうか。以前から炎症性疾患ではT細胞の反応の低下（anergy）が報告されている。炎症を抑制しようとするネガティブフィードバックシステムと考えられるが、そのメカニズムの候補としては制御性T細胞が挙げられる。これらの結果については現在投稿中である（図3：概念図。HC: 健常対照群。関節リウマチにおいてはanergyに陥っている単核球が多いためex vivoのサイトカイン産生は減少している。治療後にこのanergyは解除される）。

【抗原提示細胞の解析】

Th細胞分化を規定する外部環境もやはりサイトカイン濃度であるが、その多くが抗原提示細胞（APC）から産生される。つまり免疫応答の指揮者は実はTh細胞というよりもむしろAPCという見方もできる。最近SLE患者の一塩基多型（SNP）解析から、転写因子IRF-5がSLEの発症に関係することが示唆されている。我々はIFN-αの産生細胞として知られる形質細胞様樹状細胞（pDC）におけるIRF-5の発現に着目し、フローサイトメトリー解析によって、CpG刺激を行ったpDC内ではIRF-5の発現が増強し、そのようなIRF-5 hiのpDCがIFN-αを産生していることを見いだした。これはIRF-5がIFN-α発現を制御することを示唆するが、それを証明するためにはIRF-5をノックダウンした場合にIFN-α産生が低下することを示す必要がある。しかしヒト末梢血由来のpDCは非常に数が少なく、ノックダウン実験は容易ではないことが判明した。現在条件検討を進めている。ノックダウン実験が終了した後に実際のSLE患者由来の検体で解析を行う予定としている。