慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

| | |
|---|---|
| Title | 自己免疫疾患における末梢トレランスの制御機構の解明 |
| Sub Title | Elucidation of regulatory mechanism on peripheral tolerance in autoimmune disease |
| Author | 鈴木, 勝也(Suzuki, Katsuya)<br>山根, 史嗣( Yamane, Fumitsugu) |
| Publisher | |
| Publication year | 2019 |
| Jtitle | 科学研究費補助金研究成果報告書 (2018. ) |
| JaLC DOI | |
| Abstract | 全身性自己免疫疾患は、自己の組織成分に対する免疫応答を端緒に多臓器の炎症、機能障害が生じる疾患群である。本研究では制御性T細胞亜分画に焦点を絞り、末梢トレランスの評価法確立することを目的とした。全身性自己目免疫疾患の末梢血制御性T細胞を詳細に解析し亜分画の異常を明らかにした。<br>一方で個人差がかなり多いことも判明し、今後の課題と考えられた。今後さらに末梢トレランスを規定する新規分子の探索とそれによるヒト自己免疫疾患末梢血における評価を継続していく予定である。<br>Systemic autoimmune disease is considered to be caused by break of immune tolerance. In this study, we analyzed proportion of regulatory T cell sub population by flow cytometry analysis. We identified some abnormalities of proportion of regulatory T cell sub population in RA and other autoimmune diseases. This insight will help elucidation of peripheral tolerance mechanism. |
| Notes | 研究種目：基盤研究 (C) (一般)<br>研究期間：2016～2018<br>課題番号：16K09904<br>研究分野：内科学 |
| Genre | Research Paper |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_16K09904seika |

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

# 科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　元 年　 ６ 月　 ４ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2018
課題番号：１６Ｋ０９９０４

研究課題名（和文）自己免疫疾患における末梢トレランスの制御機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of regulatory mechanism on peripheral tolerance in autoimmune disease

研究代表者
鈴木　勝也（Suzuki, Katsuya）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：７０３０６６９５

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,500,000円

研究成果の概要（和文）：全身性自己免疫疾患は、自己の組織成分に対する免疫応答を端緒に多臓器の炎症、機能障害が生じる疾患群である。本研究では制御性T細胞亜分画に焦点を絞り、末梢トレランスの評価法確立することを目的とした。全身性自己目免疫疾患の末梢血制御性T細胞を詳細に解析し亜分画の異常を明らかにした。一方で個人差がかなり多いことも判明し、今後の課題と考えられた。今後さらに末梢トレランスを規定する新規分子の探索とそれによるヒト自己免疫疾患末梢血における評価を継続していく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義
全身性自己免疫疾患のおける末梢トレランスに関する実証的研究を行なった。全身性自己免疫疾患では、本来反応が抑制されている自己に対する免疫応答が生じると考えられているが、その詳細な機構は明らかになっていなかった。本研究では、全身性自己目免疫疾患の末梢血制御性T細胞を詳細に解析し亜分画の異常を明らかにした。さらなる分子解析により、ヒトにおける末梢トレランスの評価法の確立に役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：Systemic autoimmune disease is considered to be caused by break of immune tolerance. In this study, we analyzed proportion of regulatory T cell sub population by flow cytometry analysis. We identified some abnormalities of  proportion of regulatory T cell sub population in RA and other autoimmune diseases. This insight will help elucidation of peripheral tolerance mechanism.

研究分野：内科学

キーワード：自己免疫疾患　末梢トレランス　制御性T細胞

## 1. 研究開始当初の背景

全身性自己免疫疾患は、自己の組織成分に対する免疫応答を端緒に多臓器の炎症、機能障害が生じる疾患群である。プロトタイプである全身性エリテマトーデス(SLE)は妊娠可能な年代の女性に好発し、本邦における罹患数は 5-10 万人と推定されている指定難病である。本疾患は多くの疾患と同様に遺伝的素因に環境要因が加わることで発症すると考えられている。病態としては免疫異常と多彩な自己抗体産生により特徴づけられ、T および B 細胞の異常活性化とその不適切な持続が主たる要因と考えられている。難治性病態、感染症の併発に加え、骨壊死、消化管出血、動脈硬化などの副作用が課題としてあり、20 年生存率は未だ約 70%で若年発症が多いことを鑑みると長期予後は良好とは言い難いのが現状である。難治性自己免疫疾患の真の克服には、自己免疫病態の解明が必要不可欠である。胸腺、末梢あるいは組織において T 細胞活性化は免疫系により厳密な制御を受けている。その生理的な制御機構については未だに明確にはなっていなかったが、近年、免疫系に抑制的な役割を担っている細胞群が同定され特徴が徐々に明らかとなってきた。本邦の Sakaguchi、Taniguchi らのそれぞれ先駆的な研究に端を発した制御性Ｔ細胞(Regulatory T cell, Treg)、NKT 細胞(Natural Killer T cell)といわれている細胞群である。とりわけ注目されている Treg であるが、胸腺、末梢 T 細胞、末梢に属する制御性転写因子で、その発現は CD25 陽性 CD4 陽性Ｔ細胞にほぼ限局している。Treg はリンパ組織で 5-10%を占めていて CD25 分子を高発現する CD4 陽性Ｔ細胞群に含まれている。同マーカーは活性化 T 細胞の表現系でもありその識別が困難であったが、FOXP3 遺伝子の発現の有無により Treg か否かの識別が可能であることが判明した。FOXP3 分子は Forkhead/winged-helix family に属する制御性転写因子で、その発現は CD25 陽性 CD4 陽性Ｔ細胞にほぼ限局している。Treg は CD25+CD4-Ｔ細胞の増殖を細胞間接触により抑制し､TNFαやインターフェロンγなどのサイトカイン産生を抑制する。CD8+Ｔ細胞、B 細胞、NKT 細胞への抑制機能も有すると報告されている。生後 3 日目のマウスから胸腺摘出をすると末梢に CD25+CD4+T 細胞数が著減し、自己免疫疾患を発症する。この系で CD25+CD4+T 細胞を発症前に移入すると発症を抑制されることから、Treg は末梢トレランスの維持に重要で、その数の低下が自己免疫性疾患の病因として注目されることとなった。また、多彩な自己免疫病を呈する scurfy マウスモデルにおける FOXP3 遺伝子の変異は、ヒトにおいては稀な多発自己免疫疾患である IPEX(Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy and X　linked Syndrome)に相当し、FOXP3 遺伝子変異が Treg 機能異常をきたす疾患であることが判明した。近年 Treg の質的量的の変化が報告され、末梢トレランス低下の機序として興味深い結果が得られている。しかしながら、ヒト全身性自己免疫疾患において Treg そのものに異常があるのかそれとも二次的な結果であるのかに関する点などに関する有用な報告はなく未解明である。さらに Treg の数や質的な異常を是正して末梢トレランスを制御することにより本疾患の治療あるいは予防が可能であるのかどうかなど、臨床免疫学的にもきわめて重要な課題と考えられる。

## ２．研究の目的

**本疾患の病因、病態の解明および新規治療法の開発が最終的な目標であるが、**本研究では新たに定義された制御性 T 細胞および新規トレランス関連 T 細胞サブセットに焦点を絞り、末梢トレランスの制御機構に関する方向性を明らかにすることを目的とする。

## ３．研究の方法

**ヒト自己免疫疾患末梢血における制御性Ｔ細胞**(Treg) **亜分画の量的異常の有無を、フローサイトメトリーによるマルチカラー解析を行い定量し、統計学的解析を行った。(表 1、表 2、図** 1)

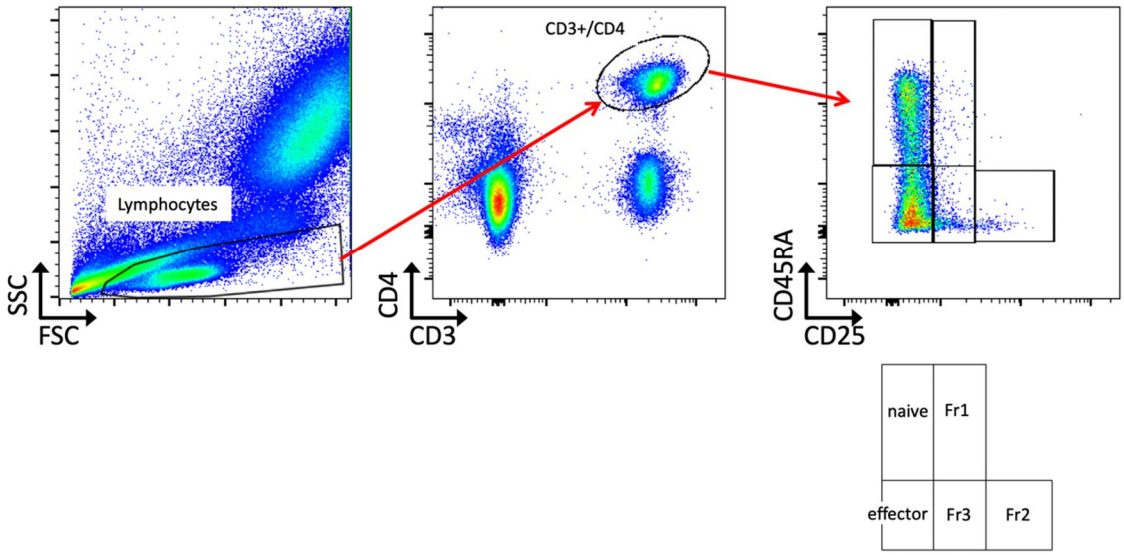
**表1 疾患内訳**

| 疾患 | N |
|---|---|
| HC | 38 |
| M2/PBC | 79 |
| RA | 256 |
| RA寛解 | 39 |
| RA未治療 | 18 |
| SjS | 52 |
| SjS susp | 26 |

**表2 FACS解析に用いた抗体**

| 抗体(anti-) | 色素 |
|---|---|
| CD3 | APC/Cy7 |
| CD4 | BV510 |
| CD45RA | BV421 |
| CD185(CXCR5) | PerCP/Cy5.5 |
| CD196(CCR6) | PE |
| CD25(IL-2R1) | FITC |
| C183(CXCR3) | APC |
| CD127(IL-7Ra) | PE/Cy7 |

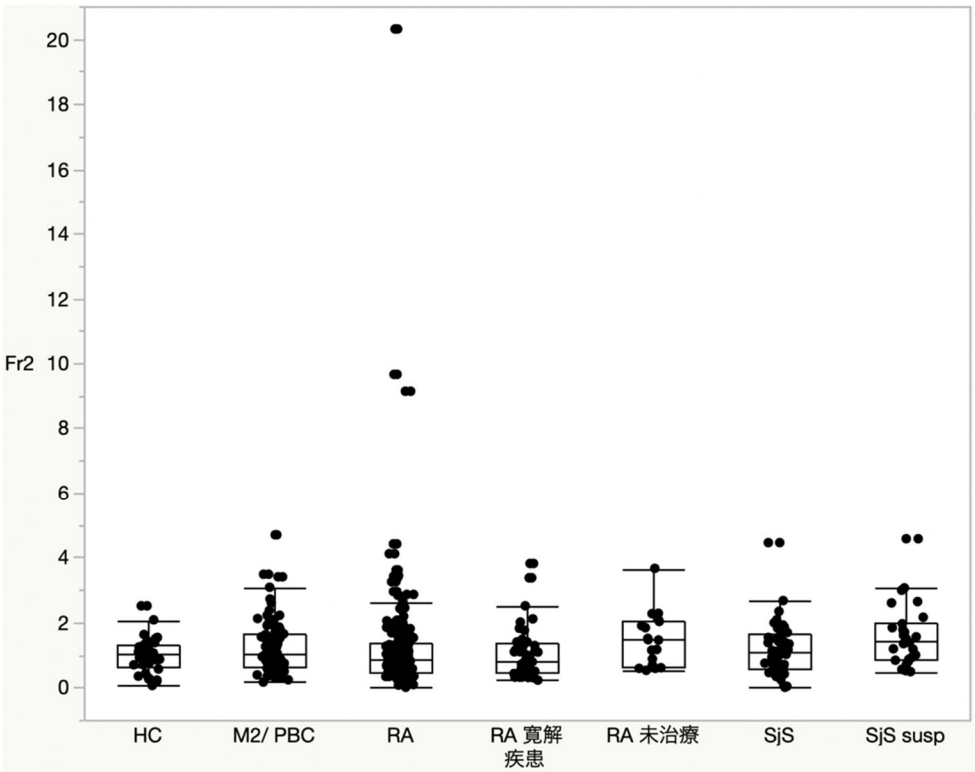
図1 Gating strategy




**４．研究成果**

**ヒト自己免疫疾患末梢血における制御性Ｔ細胞**(Treg) **亜分画の量的異常の有無を検討した。**5 **つの分画に分け、その割合を統計学的に検討した。結果の一部を図** 2 **に示す。活性化作用を有する** Fr2 **は自己免疫疾患では一定の傾向は認めるものの個人差が極めて大きい結果となった。今後さらに**末梢トレランスを規定する新規分子の探索とそれによる**ヒト自己免疫疾患末梢血における評価を継続していく予定である。**

図2 全身性自己免疫疾患におけるTreg亜分画(Fr2)




５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計７件）


1. Tasaki S, Suzuki K, Kasai Y et al. Multi-omics monitoring of drug response in rheumatoid arthritis: In pursuit of molecular remission. *Nature Communications*, 2018 Jul 16;9(1):2755. doi: 10.1038/s41467-018-05044-4. 2018 (査読あり)
2. Takanashi S, Akiyama M, Suzuki K, et al. IgG4-related fibrosing mediastinitis diagnosed with computed tomography-guided percutaneous needle biopsy: Two case reports and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Jun;97(22):e10935. (査読あり)

3. Sasaki T, Akiyama M, Kaneko Y, Yasuoka H, Suzuki K, et al. Risk factors of relapse following glucocorticoid tapering in IgG4-related disease. ***Clin Exp Rheumatol.*** May-Jun;36 Suppl 112(3):186-189. 2018(査読あり)
4. Suzuki K, Takeuchi T. [Diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis:toward the best practice. Towards precision medicine in rheumatoid arthritis.]. ***Clin Calcium.*** 2018;28(5):626-629. (査読なし)
5. Saito S, Suzuki K, et al. Restoration of Decreased T Helper 1 and CD8+ T Cell Subsets Is Associated With Regression of Lymphoproliferative Disorders Developed During Methotrexate Treatment. ***Front Immunol.*** 2018 Apr 4;9:621. (査読あり)
6. Akiyama M, Sasaki T, Kaneko Y, Yasuoka H, Suzuki K, et al. Serum soluble interleukin-2 receptor is a useful biomarker for disease activity but not for differential diagnosis in IgG4-related disease and primary Sjögren's syndrome adults from a defined population. ***Clin Exp Rheumatol.*** May-Jun;36 Suppl 112(3):186-189. 2018 (査読あり)
7. Tsukamoto M, Suzuki K, et al. Increased circulating CD14brightCD16+ intermediate monocytes are regulated by TNF-α and IL-6 axis in accordance with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. ***Clin Exp Rheumatol.*** 2018 Jan 31. [Epub ahead of print] (査読あり)

## ６．研究組織

**(1)研究協力者**
**研究協力者氏名：山根　史嗣**
**ローマ字氏名：YAMANE, Humitsugu**