

## 論文の内容の要旨

論文題目 全身性エリテマトーデス患者の末梢血単核球の解析  
と CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T 細胞の検討

氏名 加藤 里佳

全身性エリテマトーデス (SLE) とは免疫寛容の破綻により T 細胞・B 細胞をはじめとする免疫担当細胞が活性化し、自己抗体を産生することで全身の臓器に障害を呈する自己免疫疾患である。免疫学的恒常性を保つためにはヘルパーT 細胞と制御性 T 細胞のバランスが重要であるが、そのバランスに不均衡が生じることが SLE 発症に関与している可能性が指摘されている。ヘルパーT 細胞は主に Th1、Th2 と Th17 に分類され、それぞれ IFN $\gamma$ 、IL-4、IL-17A を産生する。SLE 患者では Th1/2 バランスが崩れていることが広く指摘されているが、Th1、Th2 のどちらに偏位しているかは議論が多い。また、RORc を特異的に発現する Th17 は IL-17A を産生し、上皮細胞や線維芽細胞などのケモカインやサイトカイン産生を促進し、好中球、マクロファージやリンパ球の分化や成熟を促すことが知られており、SLE の病態にも大きく関わっていると指摘されている。

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>制御性 T 細胞 (CD25<sup>+</sup>Treg) は、末梢において自己反応性 T 細胞を制御し、免疫寛容を維持する重要な役割を担っており、転写因子である Foxp3 を特異的に発現する。CD25<sup>+</sup>Treg の SLE における機能については議論が多く、さらに、CD25<sup>+</sup>Treg と Th17 の間に

可塑性があることも明らかになっている。

リンパ球活性化遺伝子 3 (LAG3) は CD4 と類似した構造をもち、MHC class II と強い結合能力をもつ分子であるが、LAG3 を欠損するマウスは自己免疫疾患を起こしやすくなることが知られている。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>LAG3<sup>+</sup>Treg は IL-10 依存性に免疫活性化を抑制する働きをもち、ループモデルマウスに移入すると病勢を抑えることができる。

また、B 細胞、単球、NK 細胞に関しても SLE との関連が様々報告されているが議論の残るところが多い。

今回私は、27 名の SLE 患者、30 名の健常人と 30 名の関節リウマチ患者を対象に末梢血中の免疫担当細胞分画を解析し、病勢をはじめとした臨床指標との関連、SLE 治療前後の変化を検討した。

CD4<sup>+</sup>T 細胞については、CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T 細胞、CD25<sup>+</sup>Treg と Th17 が SLE 患者において有意に増加しており、CD4<sup>+</sup>ナイーブ T 細胞は SLE で有意に減少していた。B 細胞についてはナイーブ B 細胞と Transitional B 細胞が SLE 患者で有意に減少し、クラススイッチ後メモリー B 細胞と形質芽細胞は SLE 患者で有意な増加を認めた。単球については CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup>単球が SLE 患者において有意に減少していたが、NK 細胞については有意な変化を認めなかった。

これらの各サブセットの比率と SLE の臨床学的指標との順位相関係数を解析した。病勢指標として幅広く用いられている SLEDAI と最も高い相関関係を示したのは CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>

単球、クラススイッチ後メモリーB細胞、次いで CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞であった。また、SLEDAI の低い SLE 患者に比べ、SLEDAI の高い SLE 患者において CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞、Th2細胞、CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>単球が有意に増加していた。さらに、SLE に対する治療がどのように免疫担当細胞サブセットの比率に影響を与えるかを検討したところ、ほとんどのサブセットにおいて一貫した傾向を示さなかった中で、CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞は一貫して治療後に減少する傾向を認めた。

以上より、SLE において健常人との比較で有意差があり、また SLE 高疾患活動性でも有意に増加している細胞サブセットは CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞と Th2 であった。そのうち、CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞は SLEDAI との相関が弱いながらあり、加療により有意に減少していた。そのため、私は SLE の病態と関連する可能性のある細胞群として CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞に注目し、解析を進めた。

健常人の末梢血から CD4<sup>+</sup>ナイーブ T細胞、CD25<sup>-</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞、CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞、CD25<sup>+</sup>Treg を分取し、CD3/28 刺激をして定量的 PCR を行ったところ CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞では少ないながら Foxp3 の発現を認め、また意外なことに RORc の発現が有意に高かった。次に蛋白レベルでの各細胞群のサイトカイン産生・Foxp3 産生を解析するために、健常人の末梢血から同様に上記 4 サブセットを分取、CD3/28 刺激を行ったうえで細胞内染色をした。すると、やはり CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞では IL-17A と Foxp3 の発現が高かった。CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞が Foxp3 を発現するため、細胞増殖抑制能を検討したところ、CD25<sup>+</sup>LAG3<sup>+</sup>T細胞では

明らかな細胞増殖抑制能を認めなかった。

本研究内容をまとめると、 $CD25^+LAG3^+T$  細胞が SLE 患者で、かつ高疾患活動性 SLE で有意に増加し、SLEDAI とも相関関係があることを見つけた。また  $CD25^+LAG3^+T$  細胞は Foxp3 を発現し、IL-17A を出し、細胞増殖抑制能を持たない細胞群であることが分かった。Foxp3 は  $CD25^+Treg$  のマーカーであるが、ヒトでは活性化した細胞でも一過性の Foxp3 発現を認める。ヒト FOXP3 遺伝子座のいくつかの領域における DNA の脱メチル化は  $CD25^+Treg$  でのみ観察されており、これが重要な鑑別点となる。今回の研究では  $CD25^+LAG3^+T$  細胞における Foxp3 発現の意義の検討、つまり FOXP3 遺伝子座における DNA の脱メチル化を見ておらず、今後解析が望まれる。 $CD25^+LAG3^+T$  細胞は炎症性疾患との関連が指摘されている  $IL-17^+Foxp3^+T$  細胞と一致するところが多く、SLE の病勢と密接に関連していると考えられ、本細胞群の解析が今後、SLE の病態解明につながると考える。