

論文内容の要旨

全身性エリテマトーデスにおける 形質細胞様樹上細胞の細胞表面マーカーの検討

大島 美穂

全身性エリテマトーデス (SLE) の血清では $\text{IFN } \alpha$ が高値を示し、その病態形成における $\text{IFN } \alpha$ の関与が報告されている。 $\text{IFN } \alpha$ は、ウイルス複製の抑制、major histocompatibility complex クラス I/II の発現の増強、単球の樹状細胞への分化とそれによる自己応答性 T 細胞への抗原提示亢進とその T 細胞の活性化などの機能を持つ生体防御に重要なサイトカインである。近年、 $\text{IFN } \alpha$ は主に形質細胞様樹状細胞 (interferon-producing cell = *IPC) から産生されることが明らかになった。IPC は、特異的細胞表面マーカーである抗 blood dendritic cell antigen (*BDCA) -2 モノクローナル抗体によって認識されるヒト末梢血単核球 (PBMC) の 0.1–0.5% を占めるにすぎない細胞集団であるが、ウイルス感染時にはリンパ球の 100 倍以上の大量の $\text{IFN } \alpha$ を産生する能力を持つ。現在までの報告において、IPC は SLE の末梢血では減少し、一方皮膚や腎の組織に集積しており、病変の発症に関与していると考えられている。またウイルス刺激した SLE 患者の PBMC が産生する $\text{IFN } \alpha$ は、抗 BDCA-2 抗体により抑制されることが報告されている。

このたび共同研究者である SBI バイオテック株式会社より供与された、ヒト IPC に対する新規作製抗体、5C11 抗体を用いて SLE 患者の PBMC の解析を行った。5C11 抗体は BST2 (bone marrow stroma cell-2) を抗原として認識する。BST2 はリウマチ患者関節滑膜細胞、および多発性骨髄腫細胞より分離された膜

蛋白で、様々な免疫細胞にも発現し、ゴルジ装置などに存在することより物質の輸送に関与する蛋白と考えられているが詳細な機能は不明である。

5C11 抗体の SLE における臨床的意義を検討した。SLE 患者 39 人とコントロール 14 人の PBMC での 5C11+細胞の割合をフローサイトメトリーで見たところ、両群とも BDCA-2+細胞、CD3+細胞、CD19+細胞、CD14+細胞において 5C11+細胞を認めた。SLE では、BDCA-2+細胞、CD3+細胞、CD19+細胞の割合がコントロールに比し減少していたにもかかわらず、BDCA-2+細胞、CD3+細胞、CD19+細胞に占める 5C11+細胞の割合は有意に増加しており（BDCA-2+細胞中の 5C11+細胞の割合: SLE 21.1%, コントロール 3.6% ($p < 0.0001$)、CD3+細胞中の 5C11+細胞の割合: SLE 2.7%, コントロール 0.8% ($p < 0.0001$)、CD19+細胞中の 5C11+細胞の割合: SLE 12.5%, コントロール 6.6% ($p < 0.0001$)), 何らかの病的意義を持つと考えられた。CD3+細胞、CD19+細胞中の 5C11+細胞の割合が SLE において増加していたことから、活性化 T 細胞、B 細胞で 5C11+細胞が増加すると予測し、健常人の単離した T 細胞、B 細胞を mitogen である phorbol 12-myristate 13 acetate / ionomycin (PMA/I) で刺激し、5C11+細胞の割合をみたが、T 細胞、B 細胞とも刺激の有無で変化がみられなかった。従って SLE の血液中の T 細胞、B 細胞中において 5C11+細胞が増加している要因としては、SLE の T、B 細胞が健常人の T、B 細胞の定常状態や mitogen 刺激による活性化状態とは異なる性質を持つこと、mitogen とは異なる活性化機序（例えば SLE 特有の免疫複合体や IFN α による刺激）を持つこと、他の細胞との相互作用により T、B 細胞の性質が変化すること、B 細胞に関しては SLE において増加しているサブセット（メモリーB 細胞等）の細胞表面上で BST2 分子が増加することなど考えられた。SLE パラメーターと 5C11+細胞数との相関では、ステロイド無投与群において CD3+細胞中の 5C11+細胞が多い患者ほど

SLEDAI が有意に高かったことから、CD3+5C11+細胞数が疾患活動性のパラメーターとして使用できる可能性が示された。一方予想に反し、血液中の BDCA-2+細胞中の 5C11+細胞の割合は疾患活動性との相関はなかった。SLE においては IPC が腎や皮膚などの組織に移行しそこで IFN α を産生していると考えられているため、血液中に残っている IPC は疾患の活動性を十分には反映していないと推定される。またステロイドの有無で 5C11+細胞の割合を比較したところ、BDCA-2+細胞では同等であったが、CD19+細胞ではステロイド投与群において 5C11+細胞が有意に増加し、CD3+細胞でも有意差はないものの増加傾向であった。以上により、SLE における 5C11+細胞の割合は、IPC、T 細胞、B 細胞において有意に増加しているものの、疾患活動性、ステロイド投与の有無により異なると考えられる。今後血液中のみならず組織中においても解明を進めること、初発 SLE 症例において重点的に検討することにより診断的応用が可能となるかもしれない。

次に 5C11 抗体の、SLE の PBMC における IFN α 産生抑制効果を検討した。TLR-7 を介するインフルエンザウイルス (PR8)、TLR-9 を介するヒト単純ヘルペスウイルス (HSV-1)、CpG オリゴヌクレオチド (CpG2216) にて PBMC の刺激を行った。5C11 抗体は SLE において PR8、CpG 刺激下の IFN α の産生を抑制したが、その抑制効果はコントロールと同等であった (IFN 抑制率 : PR8 下 SLE 16% vs コントロール 22%、CpG 下 SLE 27% vs コントロール 24%)。また 5C11 抗体は、SLE の CpG 刺激下においては抗 BDCA-2 抗体による抑制効果 (IFN 抑制率 93%) には及ばなかった。これは BDCA-2+細胞中の 5C11+細胞が SLE では 21.1%であることから、IPC 以外に IFN を産生する細胞の存在を念頭におく必要はあるものの、大きな矛盾はないと考えられた。さらに SLE の中でステロイド無投与群に限って見ると、PR8 刺激下では 5C11 抗体による抑

制を認めなかった。従って無治療の SLE 患者では 5C11⁺細胞が主に IFN を産生していると推定される。以上の結果からは、ウイルスや細菌の刺激下においては、血液中の IFN を産生する細胞に対する 5C11 抗体の IFN 抑制効果は SLE に特異的とは言えず、治療応用に結びつけることは現時点では困難と考えられる。しかし SLE では免疫複合体などの内因性のリガンドが抗原となり免疫異常を引き起こすことが知られていることから、今後内因性のリガンドを用いた実験を行い、検討する必要があると考える。また IPC 以外の細胞から産生されるサイトカインや細胞の機能に 5C11 抗体が与える影響を検討することにより増加している 5C11⁺細胞に対する新たな効果を見出すことができるかもしれない。

以上まとめると、SLE において、5C11⁺細胞は血液中では BDCA-2⁺IPC、CD3⁺T 細胞、CD19⁺B 細胞で増加しており、さらに CD3⁺T 細胞中の 5C11⁺細胞の割合は SLEDAI と相関していたことから、5C11⁺細胞は病態形成に関与していると考えられ、今後血液中、組織中でさらに詳細な検討を行うことで診断的に応用できる可能性がある。一方 5C11 抗体は SLE の PBMC において外因性リガンド下の IFN α の産生を抑制したが、その抑制効果は SLE 特異的ではなかったことから治療応用にすぐに結びつけることは困難だが、SLE 特有の内因性リガンドを用いて今後同様の検討を行うことにより、応用が期待できるかもしれない。