

マルホ皮膚科セミナー

2019年9月16日放送

「第48回日本皮膚免疫アレルギー学会 ⑤

シンポジウム1-2 SLEの発症機序」

奈良県立医科大学 皮膚科
講師 宮川 史

はじめに

全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus ; SLE)は全身性自己免疫疾患のプロトタイプで、核抗原に対する免疫寛容の破綻により生じると考えられています。免疫寛容の破綻により、核抗原に対する過剰な免疫応答が惹起され、核抗原に対する自己抗体が産生されます。DNAを含有する自己抗原に対する自己抗体としては、抗dsDNA抗体、抗ssDNA抗体等があり、RNAを含有する自己抗原に対する抗体としては、抗RNP抗体、抗Sm抗体等があります。産生された自己抗体は免疫複合体を形成し、免疫複合体が標的臓器に沈着することで組織障害を起こしてくると考えられています。本稿では、SLEの発症機序について、我々の研究成果も交えながら、SLEの病態研究から得られてきた最近の知見を解説します。

SLEの発症に関与する因子

SLE患者およびSLEモデルマウスを用いた多数の研究報告により、現在のところSLEの発症に関与する因子として、I型インターフェロン(interferon ; IFN)、自己抗体、アポトーシスの制御異常が代表的な因子と考えられています。SLE患者では、血清中のI型IFN(IFN- α 、IFN- β)の濃度が上昇していることは古くから知られており、病勢と相関します^{1,2)}。SLE患者の末梢血単核球では、種々のIFN応答遺伝子(IFN-stimulated genes ; ISGs) (IFN signature)の発現も上昇していることも示されています^{3,4)}。自己抗体に関しては、抗dsDNA抗体、抗Sm抗体、抗RNP抗体が病勢と相関し、腎障害などの特定の臨床症状とも相関することが報告されています^{2,5)}。さらにSLEでは、アポトーシスの増加、apoptotic cellのクリアランスの低下等のアポトーシスの制御異常があり、アポトーシスにより放出された核

抗原が、自己抗原のソースとなり、SLEの病態に関与していることが報告されています⁶⁻⁸⁾。実際に、apoptotic cell から放出された核酸が SLE 患者の血清中の自己抗体と結合し、形成された免疫複合体が形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cell ; pDCs) を刺激して IFN- α を産生させることが実験的に示されています¹²⁾。自己抗原や免疫複合体の細胞内の取り込みには、B 細胞受容体、Fc γ R、補体レセプターなどが関与しますが、近年 Toll 様受容体(Toll-like receptor ; TLR)を介して核抗原が結合し、I 型 IFN の産生、抗体産生などを誘発することが示唆されました。TLR7、TLR8 は ssRNA、TLR9 は CpG DNA を認識しますので、これらの TLR が核抗原を認識して SLE の発症に関与している可能性があり注目されています。実際に、TLR9 欠損マウスでは DNA を含有する dsDNA などの核抗原に対する自己抗体は生じないことが報告されています^{13, 14)}。TLR7 欠損マウスでは、Sm や RNP などの RNA を含む核抗原に対する自己抗体は生じず、糸球体腎炎などの臨床症状も軽減していることが示されています¹⁴⁾。

GWAS から得られた知見

ヨーロッパ系やアジア系の集団の大規模なゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study ; GWAS) により、SLE の疾患感受性遺伝子が明らかになってきました¹⁵⁾ (図 1)。疾患感受性遺伝子の多くは、抗原提示、サイトカインシグナル、アポトーシス、T 細胞や B 細胞の表面分子、転写因子などに関連していることが判明しました。GWAS の結果より SLE では、(1) アポトーシスのクリアランスの低下、(2) TLR と I 型 IFN を介する自然免疫の活性化、(3) T 細胞、B 細胞すなわち獲得免疫の活性化の異常が生じていることが示唆されています。

現在の SLE の発症機序の考え方

以上を踏まえて、現在の SLE の発症機序をまとめると図 2 のようになります¹⁶⁾。遺伝的素因のある人、例えば感受性遺伝子を持っているような人に、紫外線、外科手術などのストレス、妊娠、出産、有機物への曝露などの環境因子が加わること

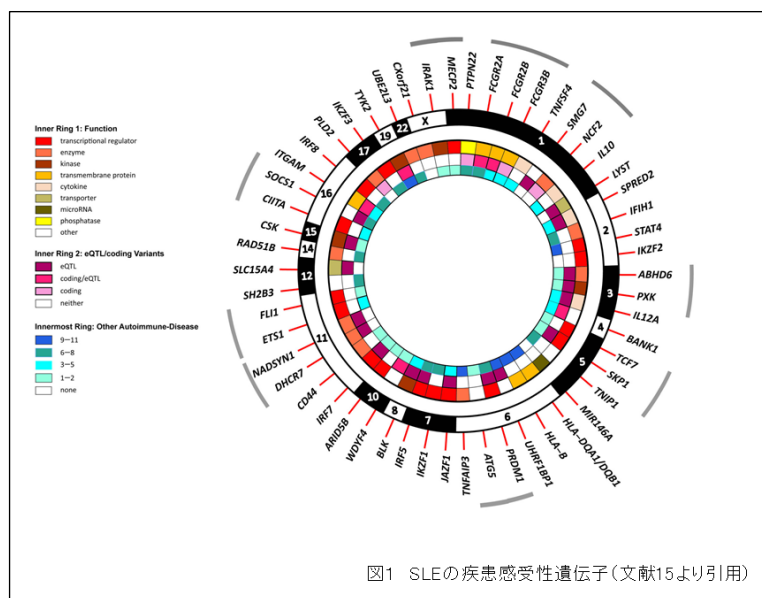


図1 SLEの疾患感受性遺伝子(文献15より引用)

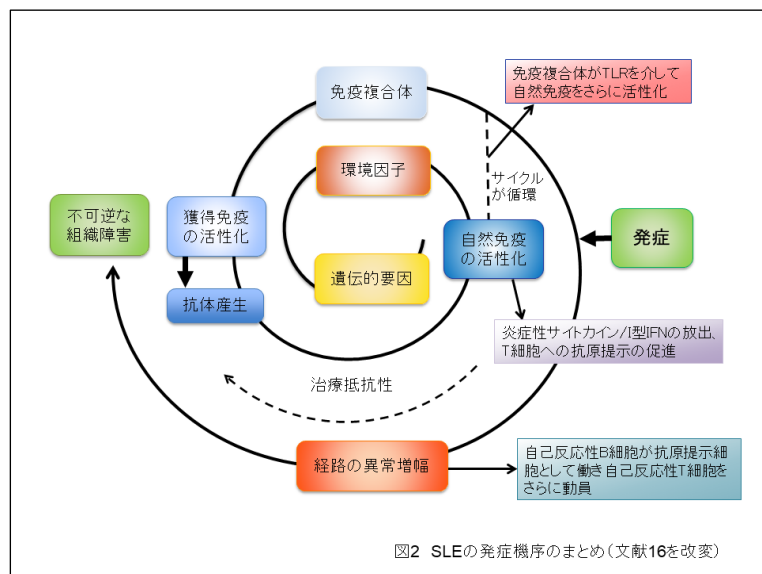


図2 SLEの発症機序のまとめ(文献16を改変)

で自然免疫が活性化されると考えられています。その結果 I 型 IFN を含む炎症性サイトカインが放出され、さらに T 細胞への抗原提示が促進され、獲得免疫が活性化されます。その結果、抗体が産生され、核酸に結合した免疫複合体が TLR を介して、自然免疫をさらに活性化します。自己反応性の B 細胞が抗原提示細胞として働き、自己反応性 T 細胞をさらに動員し、これらのサイクルが増幅し悪循環に入り臨床症状が出現し、不可逆な組織障害が生じると考えられています。

SLE の病態における IRF7 の役割の解明

I 型 IFN が SLE の発症に重要な役割を果たしていることは既に述べました。I 型 IFN 遺伝子の転写制御に中心的な役割を担っている転写因子にインターフェロン制御因子 (Interferon regulatory factor; IRF) があります。SLE における I 型 IFN の重要性を反映して、9 個ある IRF ファミリー転写因子のうち IRF5、IRF7、IRF8 が GWAS により SLE の感受性遺伝子として同定されました¹⁵⁾。我々はプリスタン誘導 SLE モデルマウスを用いて IRF7、IRF8 の SLE における役割を検討していますが、今日は IRF7 の SLE の病態に果たす役割についての研究結果をお話します。プリスタン誘導 SLE モデルマウスは、複数ある SLE のマウスモデルの中で、唯一ヒト SLE の IFN signature を模倣するモデルであるため、I 型 IFN の役割を検討するには最適であると考えられます。また IRF7 は I 型 IFN 依存性の免疫反応の master regulator で IRF7 欠損マウスでは I 型 IFN の産生はみられません¹⁷⁾。IRF7 欠損マウスにプリスタンにより SLE を誘発させてやることで、自己抗体、臓器障害等の SLE の病態を代表する症状がそれぞれ異なったシグナル経路により制御されていることが、我々の研究の結果より明らかとなってきました¹⁸⁾。

(1) IRF7/I 型 IFN 経路は自己抗体の産生に必要だが、臓器障害には必須ではない

プリスタン誘導 SLE モデルマウスは確立されたモデルで、プリスタン (2, 6, 10, 14-tetramethylpentadecane ; TMPD) を野生型マウスの腹腔内に投与すると、約 10 ヶ月の経過の後に、糸球体腎炎、自己抗体の産生等がみられ、ヒトの SLE に類似した症状を呈します。IRF7 欠損マウスにプリスタンを投与すると、野生型マウスと同様に糸球体腎炎は認められますが、血清中の自己抗体は検出されないという結果が得られました (図 3)。すなわち IRF7 欠損マウスにおいても、プリスタン投与 10 ヶ月後には、尿蛋白が検出されるとともに、蛍光抗体直接法にて

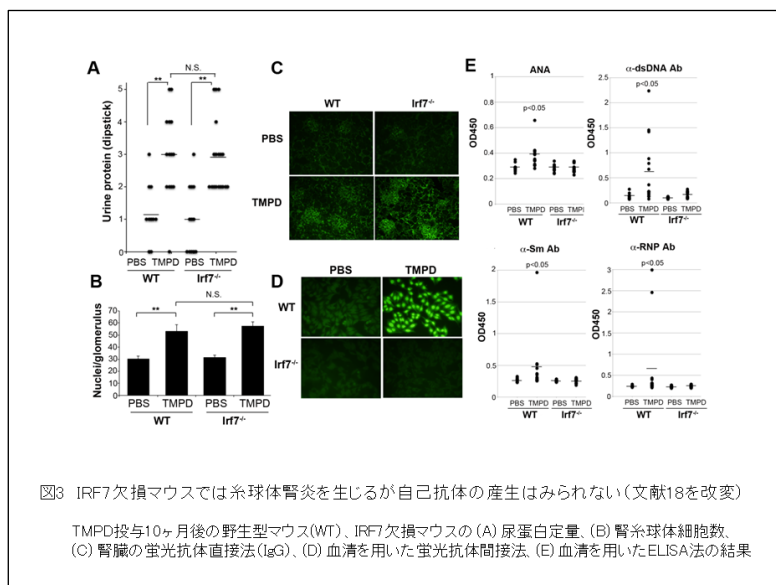


図3 IRF7欠損マウスでは糸球体腎炎を生じるが自己抗体の産生はみられない(文献18を改変)

TMPD投与10ヶ月後の野生型マウス(WT)、IRF7欠損マウスの(A)尿蛋白定量、(B)腎糸球体細胞数、(C)腎臓の蛍光抗体直接法(IgG)、(D)血清を用いた蛍光抗体間接法、(E)血清を用いたELISA法の結果

腎糸球体に IgG の沈着が認められましたが、ELISA 法にて血清中の抗核抗体、抗 dsDNA 抗体、抗 ssDNA 抗体、抗 Sm 抗体、抗 RNP 抗体は検出できませんでした。また Hep-2 細胞を用いた蛍光抗体間接法においても、IRF7 欠損マウスの血清中には、抗細胞質抗体を含めたいかなる抗体も検出できなかつたことより、腎における IgG の沈着は炎症後に二次的に生じている可能性が考えられました。

(2) IRF7 欠損マウスでは野生型マウスと同程度にアポトーシスが誘導される

プリスタンはアポトーシスを誘導することが知られていますので、両系統のマウスの表現型の違いは誘発されるアポトーシスの程度の差異に起因している可能性も考えられました。そこでプリスタン投与2週間後の腹腔内細胞を抗 Annexin V 抗体、抗 Active caspase 3 抗体で染色し、フローサイトメトリーで解析したところ、Annexin V 陽性細胞及び Active caspase 3 陽性細胞は野生型マウスと IRF7 欠損マウスで同程度認められました。すなわち両系統のマウスにおいて、プリスタンにより誘導されるアポトーシスの程度には差は認められず、アポトーシスの制御異常が両系統のマウスの表現型の違いには関与していないと考えられました。

(3) 自己抗体の産生と臓器障害は異なるシグナル経路により制御されている

次にプリスタン投与2週間後の脾臓を用いて real-time PCR を施行しますと、野生型マウスでは IFN 応答遺伝子の発現の上昇は認められましたが、IRF7 欠損マウスでは認められませんでした

(図 4)。この結果は、IRF7 を介する I 型 IFN 経路が自己抗体の産生に重要な役割を果たしている可能性を示唆するものだと考えられます。ところが NF- κ B target genes の発現は両系統のマウスで認められたことより、inflammation に中心的な役割を果たす NF- κ B 経路の活性化は、I 型 IFN 経路とは無関係に起こっており、臓器障害に関与している可能性が示唆されました。そこで IRF7 欠損マウスに NF- κ B 阻害剤を投与した上でプリスタンにより SLE を誘発した

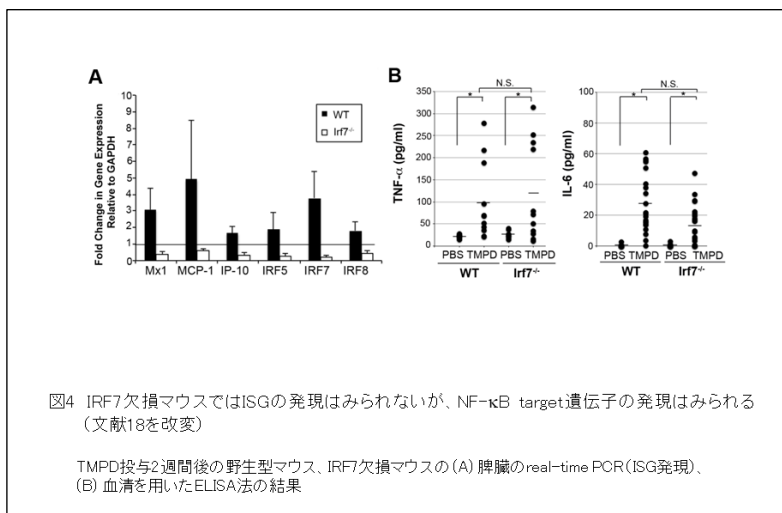


図4 IRF7欠損マウスではISGの発現はみられないが、NF- κ B target遺伝子の発現はみられる(文献18を改変)

TMPD投与2週間後の野生型マウス、IRF7欠損マウスの(A) 脾臓のreal-time PCR (ISG発現)、(B) 血清を用いたELISA法の結果

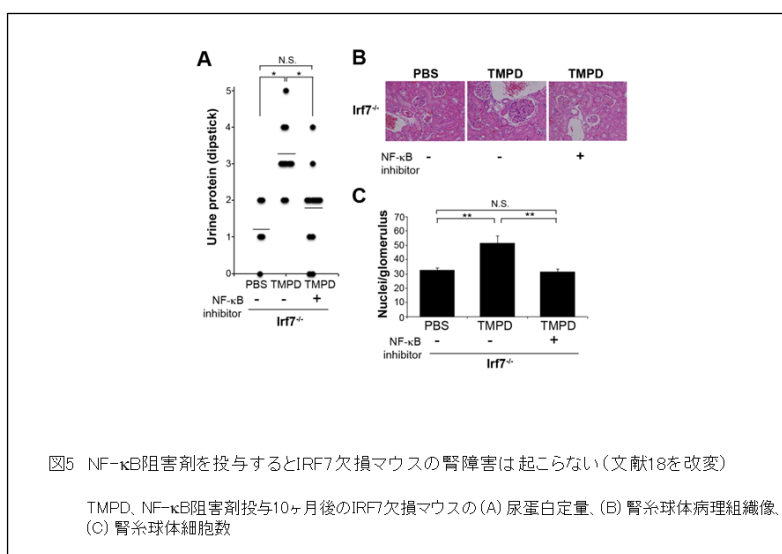


図5 NF- κ B阻害剤を投与するとIRF7欠損マウスの腎障害は起こらない(文献18を改変)

TMPD、NF- κ B阻害剤投与10ヶ月後のIRF7欠損マウスの(A) 尿蛋白定量、(B) 腎糸球体病理組織像、(C) 腎糸球体細胞数

ところ、腎障害が軽減したことより糸球体腎炎の発症にはNF- κ B 経路が関与していることが検証されました (図5)。この結果より、SLEにおいては自己抗体の産生と臓器障害は異なるシグナル経路により制御されている可能性が示され、臓器特異的な治療法の開発につながる可能性も期待されると考えます。

● 文献

- 1) Hooks, J. J., Moutsopoulos, H. M., Geis, S. A., Stahl, N. I., Decker, J. L., and Notkins, A. L. 1979. Immune interferon in the circulation of patients with autoimmune disease. *N. Engl. J. Med.* 301:5-8.
- 2) Kirou, K. A., Lee, C., George, S., Louca, K., Peterson, M. G., and Crow, M. K. 2005. Activation of the interferon-alpha pathway identifies a subgroup of systemic lupus erythematosus patients with distinct serologic features and active disease. *Arthritis. Rheum.* 52:1491-1503.
- 3) Baechler, E. C., Batliwalla, F. M., Karypis, G., Gaffney, P. M., Ortmann, W. A., Espe, K. J., Shark, K. B., Grande, W. J., Hughes, K. M., Kapur, V., Gregersen, P. K., and Behrens, T. W. 2003. Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100:2610-2615.
- 4) Bennett, L., Palucka, A. K., Arce, E., Cantrell, V., Borvak, J., Banchereau, J., and Pascual, V. 2003. Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *J. Exp. Med.* 197:711-723.
- 5) Alba, P., Bento, L., Cuadrado, M. J., Karim, Y., Tungekar, M. F., Abbs, I., Khamashta, M. A., D'Cruz, D., and Hughes, G. R. 2003. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Ann. Rheum. Dis.* 62:556-560.
- 6) Emlen, W., Niebur, J., and Kadera, R. 1994. Accelerated in vitro apoptosis of lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 152:3685-3692.
- 7) Amoura, Z., Piette, J. C., Chabre, H., Cacoub, P., Papo, T., Wechsler, B., Bach, J. F., and Koutouzov, S. 1997. Circulating plasma levels of nucleosomes in patients with systemic lupus erythematosus: correlation with serum antinucleosome antibody titers and absence of clear association with disease activity. *Arthritis. Rheum.* 40:2217-2225.
- 8) Herrmann, M., Voll, R. E., Zoller, O. M., Hagenhofer, M., Ponner, B. B., and Kalden, J. R. 1998. Impaired phagocytosis of apoptotic cell material by monocyte-derived macrophages from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis. Rheum.* 41:1241-1250.
- 12) Lovgren, T., Eloranta, M. L., Bave, U., Alm, G. V., and Ronnblom, L. 2004. Induction of interferon-alpha production in plasmacytoid dendritic cells by immune complexes containing nucleic acid released by necrotic or late apoptotic cells and lupus IgG. *Arthritis. Rheum.* 50:1861-1872.
- 13) Christensen, S. R., Kashgarian, M., Alexopoulou, L., Flavell, R. A., Akira, S., and Shlomchik, M. J. 2005. Toll-like receptor 9 controls anti-DNA autoantibody production in murine lupus. *J. Exp. Med.* 202:321-331.

- 14) Christensen, S. R., Shupe, J., Nickerson, K., Kashgarian, M., Flavell, R. A., and Shlomchik, M. J. 2006. Toll-like receptor 7 and TLR9 dictate autoantibody specificity and have opposing inflammatory and regulatory roles in a murine model of lupus. *Immunity*. 25:417-428.
- 15) Bentham J, Morris DL, Graham DSC, Pinder CL, Tomblinson P, Behrens TW, Martin J, Fairfax BP, Knight JC, Chen L *et al*: Genetic association analyses implicate aberrant regulation of innate and adaptive immunity genes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* 2015, 47(12):1457-1464.
- 16) Liu, Z., and Davidson, A. 2012. Taming lupus-a new understanding of pathogenesis is leading to clinical advances. *Nat. Med.* 18:871-882.
- 17) Honda K, Yanai H, Negishi H, Asagiri M, Sato M, Mizutani T, Shimada N, Ohba Y, Takaoka A, Yoshida N *et al*: IRF-7 is the master regulator of type-I interferon-dependent immune responses. *Nature* 2005, 434(7034):772-777.
- 18) Miyagawa F, Tagaya Y, Ozato K, Asada H: Essential Requirement for IFN Regulatory Factor 7 in Autoantibody Production but Not Development of Nephritis in Murine Lupus. *J Immunol* 2016, 197(6):2167-2176.