

---

## 総 説

---

# 全身性エリテマトーデスの原因遺伝子の解明とそれに基づく新規治療法の可能性

安 友 康 二

徳島大学医学部病態予防医学講座生体防御医学分野

(平成15年3月3日受付)

(平成15年3月6日受理)

### はじめに

自己免疫疾患は免疫学的寛容の破綻によって惹起される疾病であり、複数の臓器が標的となる場合と、臓器特異的な障害が引き起こされる場合がある。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代表疾患であり<sup>1)</sup>、血清学的に抗 ds-DNA 抗体、抗 Sm 抗体などの核成分に対する自己抗体をはじめとする自己成分に対する抗体が出現すること、C3などの血清補体価が低下することが特徴である<sup>2)</sup>。その中でも、特に血清中の抗 ds-DNA 抗体の出現は SLE の疾患特異性が高いと考えられている。

最近、我々は DNA を分解する酵素である DNase 1 遺伝子異常によって SLE が引き起こされることを明らかにした<sup>3,4)</sup>。また、自己抗原あるいは死細胞を効率よく排除できない事により SLE が発症する可能性が他のグループの研究により示唆されている<sup>5,8)</sup>。つまり、自己抗原の排除機構の破綻が SLE 罹患者においてのリンパ球の異常活性化を引き起こす一因となっている可能性が示唆される。

本稿では我々の研究を含めて、SLE の発症原因としての自己抗原の排除機構の破綻を中心に概説し、それらの知見を基盤とした治療法の確立の可能性について述べたい。

### SLE の免疫学的異常

従来の研究により、SLE の病態に自己反応性リンパ球が関与していることが明らかになっている。具体的には、自己反応性 T および B リンパ球の活性化能の亢進、サプレッサー T リンパ球の分化障害等が報告されてい

る<sup>1)</sup>。マウスモデルにおいては、T および B リンパ球の抗原に対する感受性が亢進すると SLE 様症状が出現する<sup>9,14)</sup>。また T リンパ球の活性化を抑制する TGF- $\beta$  遺伝子が破壊されたマウスでも全身性の自己免疫病が発症する<sup>15)</sup>。また、異常活性化したリンパ球を activation induced cell death の機構により除去できないことによって全身性自己免疫病が発症する<sup>16,17)</sup>。それらのマウスから得られた実験結果は、抗原に対する感受性の亢進あるいは TGF- $\beta$  の機能不全に代表されるリンパ球の活性化の抑制機序の欠如、活性化リンパ球の除去機構に破綻がヒト SLE の根本的な原因となりうることを推測させる。しかし、SLE 罹患者において、リンパ球活性化能の亢進、サプレッサー T 細胞分化障害、リンパ球のアポトーシスの異常が引き起こされる機構については不明であり、観察されている現象がヒト SLE の根本的な原因なのか、それ以外の原因によって SLE が発症した事による結果なのかどうかは明らかになっていないのが現状である。

Datta らは T-cell receptor (TCR)  $\gamma$  の発現の低下が SLE 罹患者の T リンパ球では認められることを報告している<sup>18)</sup>。TCR $\gamma$  は TCR が主要組織適合抗原遺伝子複合体に提示された抗原を認識したときに細胞内に的確な情報を伝達するために必須の分子である<sup>19)</sup>。つまり、TCR $\gamma$  の発現不全により T リンパ球の異常活性化を引き起こしている可能性が示唆される。発現不全の原因に関して、Tsokos らは TCR $\gamma$  の 3' 側非翻訳領域における遺伝子多型が SLE 罹患者に高頻度に認められることを報告した<sup>20)</sup>。しかし、その遺伝子がどのように TCR $\gamma$  の発現不全と関連しているかは不明である。

## SLE 原因遺伝子

これまでに、連鎖解析法を用いて SLE の原因遺伝子の特定に関する研究が進められ、1 q41 42 領域を含むいくつかの染色体領域が SLE の発症と相関があることが報告されている<sup>21)</sup>。しかし、その染色体上のどの遺伝子の異常とヒト SLE の発症が相関しているかどうかは解明されていない。ヒトゲノム配列解明によりそれらの研究が飛躍的に進むことが期待されている。

さまざまな、疾病に SLE が併発することが知られており、その疾病と SLE の発症の関連性が推測されている。例を挙げると、ヒト C1q 遺伝子欠損患者に高率に SLE が合併することが判明しており<sup>22)</sup>、またマウス C1q 遺伝子破壊マウスでも SLE 様症状が引き起こされる<sup>6)</sup>ことより C1q 遺伝子機能低下が SLE の発症と密接に関連していることが推測されている。

1990年前半から遺伝子破壊マウスの作製が一般的となり、その数ある遺伝子破壊マウスの中で幾種類かのヒト SLE 様症状を呈するミュータントマウスが作成されてきた<sup>9 15)</sup>。その結果から明らかになったことは、全く異なる細胞に発現しており、それぞれに直接の相関がない分子異常によりヒト SLE 症状が発症するという点である。この知見からヒト SLE も単一遺伝子異常で疾病が引き起こされ得るが、原因は必ずしも一つではない可能性が示唆される。また、複数の遺伝子異常が重なることによってはじめて SLE が発症する可能性ももちろん考えられる。

## DNase 1 遺伝子異常によって引き起こされる SLE

DNA を分解する酵素の一つである DNase 1 遺伝子欠損マウスの表現系が2000年に発表され、そのマウスで

SLE 様症状が認められることが報告された<sup>23)</sup>。われわれはこの結果に基づいて、SLE 罹患者の DNase 1 遺伝子変異を検索した。その結果二例において DNase 1 遺伝子変異を有する SLE 患者を見出した<sup>3)</sup>。遺伝子変異は DNase 1 のエクソン 2 の五番目のアミノ酸部位の塩基の置換により、アミノ酸合成が5番目のアミノ酸以降で止まっているナンセンス変異であった。またその遺伝子変異はヘテロ遺伝子変異であり、他側の DNase 1 遺伝子は正常であった。もう一例の患者も同様の遺伝子変異であった。

DNase 1 遺伝子変異が SLE の発症と関連があるかを知るために、DNase 1 活性の低下によってヌクレオソーム抗原が体内に蓄積し、それに対して反応するリンパ球が増加しているかどうかを検討した(表1)。患者の T および B リンパ球ともにヌクレオソーム抗原に対して反応する実数が DNase 1 遺伝子変異を有さない SLE 患者と比較しても10倍以上増加している。健康人と比較するに約100倍増加していた。つまり、それらの結果は、DNase 1 遺伝子変異を持つ SLE 患者ではヌクレオソーム抗原に対して反応するリンパ球が著増していることを示している。これらの結果より、DNase 1 活性が低下することにより、ヌクレオソーム抗原に対して反応するリンパ球が増殖し、それらが SLE の発症と関連していることが明らかとなった。

では、果たしてすべての抗原の異常蓄積が SLE を引き起こす原因となりうるのであろうか？また、どうして核成分に対する免疫寛容の破綻が SLE を引き起こすのであろうか？ DNase 1 の活性が低下した SLE 患者では、ヌクレオソームに対して反応するリンパ球が著増していた。更に、抗 DNA 抗体を B リンパ球が過剰分泌するトランスジェニックマウスにおいても SLE 様症状が引き起こされることが報告されている<sup>24)</sup>。これらの結果は、

表 1

	ヌクレオソーム抗原に反応する細胞数 ( × 10 <sup>6</sup> )	
	B リンパ球	CD4 <sup>+</sup> T リンパ球
患者 1	24.1	14.4
患者 2	32.1	19.5
DNase1遺伝子異常を持たない SLE	2.1 ± 0.2	0.4 ± 0.1
健常女性	0.2 ± 0.02	0.1 ± 0.01

DNase 1 遺伝子異常を持つ SLE 患者、DNase 1 遺伝子異常を持たない SLE 患者 ( 5 人の平均 ± 1SD )、健常女性 ( 5 人の平均 ± 1SD ) における血清中あるいはトランスフォームされた B 細胞の DNase 1 活性およびヌクレオソーム抗原反応性の CD4陽性 T リンパ球、B リンパ球の実数を示す。結果は代表的な実験の一例を示す。

少なくとも核成分の過剰蓄積が SLE のリンパ球異常活性化を引き起こすトリガーとなっていることが推測される。また DeGiorgio らは SLE 罹患者の抗 ds-DNA 抗体は、NMDA (N-methyl-D-aspartate) と交叉反応する事を示し、そのことにより SLE による脳障害を引き起こされる可能性を示唆した<sup>25)</sup>。今後は、核成分に対する自己抗体が NMDA 以外のどのような自己抗原と交叉反応するのか、あるいは核成分抗原以外の自己抗原蓄積が SLE を含む自己免疫病の発症に関与するか否かについて解析する必要があると思われる。

#### 今後の研究課題

現在の SLE をはじめとする自己免疫疾患の治療法としてはステロイド等の免疫抑制剤が主体である。もちろん、免疫抑制剤の投与はリンパ球の活性化を抑制するという合目的な治療法であり、実際にその治療法により病態が軽快し、寛解状態を持続させることも可能である。しかし、われわれの今回の研究から明らかになったように、SLE の一部の症例は、自己抗原の過剰な蓄積がその病因となっている。このことから、それらの SLE 罹患者に対しては自己抗原の蓄積を解除する治療法が確立されることが望まれる。そのためにも、今後は、DNase 1 以外のどのような遺伝子異常によって SLE が惹起されるかの遺伝子解析が必要である。そして、どのような自己抗原が蓄積することが SLE の病態にとって重要かを明らかにすることが重要である。そこから得られた知見を基盤として、SLE を惹起する自己抗原を効率よく排除するという新規の治療法の確立が望まれる。

#### 文 献

- 1 ) Davidson, A., Diamond, B. : Autoimmune diseases. *N. Engl. J. Med.*, 345 : 340 ,2001
- 2 ) Tan, E.M., Cohen, A.S., Fries, J.F., *et al.* : The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 25 : 1271 , 1982
- 3 ) Yasutomo, K., Horiuchi, T., Kagami, S., *et al.* : Mutation of DNASE1 in people with systemic lupus erythematosus. *Nat. Genet.*, 28 : 313 ,2001
- 4 ) Maekawa, Y., Yasutomo, K. : Defective clearance of nucleosomes and systemic lupus erythematosus. *Trends Immunol.*, 22 : 662 ,2001
- 5 ) Bickerstaff, M.C., Botto, M., Hutchinson, W.L., *et al.* : Serum amyloid P component controls chromatin degradation and prevents antinuclear autoimmunity. *Nat. Med.*, 5 : 694 ,1999
- 6 ) Botto, M., Dell'Agnola, C., Bygrave, A.E., *et al.* : Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. *Nat. Genet.*, 19 : 56 ,1998
- 7 ) Scott, R.S., McMahon, E.J., Pop, S.M., *et al.* : Phagocytosis and clearance of apoptotic cells is mediated by MER. *Nature* 411 : 207 ,2001
- 8 ) Boes, M., Schmidt, T., Linkemann, K., *et al.* : Accelerated development of IgG autoantibodies and autoimmune disease in the absence of secreted IgM. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 97 : 1184 ,2000
- 9 ) Bachmaier, K., Krawczyk, C., Kozieradzki, I., *et al.* : Negative regulation of lymphocyte activation and autoimmunity by the molecular adaptor Cbl-b. *Nature* 403 : 211 ,2000
- 10 ) Chiang, Y.J., Kole, H.K., Brown, K., *et al.* : Cbl-b regulates the CD28 dependence of T-cell activation. *Nature* 403 : 216 ,2000
- 11 ) Hibbs, M.L., Tarlinton, D.M., Armes, J., *et al.* : Multiple defects in the immune system of Lyn-deficient mice, culminating in autoimmune disease. *Cell* 83 : 301 ,1995
- 12 ) Majeti, R., Xu, Z., Parslow, T.G., *et al.* : An inactivating point mutation in the inhibitory wedge of CD45 causes lymphoproliferation and autoimmunity. *Cell* ,103 : 1059 ,2000
- 13 ) O'Keefe, T.L., Williams, G.T., Davies, S.L., *et al.* : Hyperresponsive B cells in CD22-deficient mice. *Science* 274 : 798 ,1996
- 14 ) Tivol, E.A., Borriello, F., Schweitzer, A.N., *et al.* : Loss of CTLA 4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA 4. *Immunity* , 3 : 541 ,1995
- 15 ) Shull, M.M., Ormsby, I., Kier, A.B., *et al.* : Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 359 : 693 ,1992

- 16) Watanabe-Fukunaga, R., Brannan, C.I., Copeland, N. G., *et al.* : Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. *Nature* ,356 : 314 ,1992
- 17) Takahashi, T., Tanaka, M., Brannan, C.I., *et al.* : Generalized lymphoproliferative disease in mice, caused by a point mutation in the Fas ligand. *Cell* ,76 : 969 , 1994
- 18) Liou, S.N., Ding, X.Z., Dennis, G.J., *et al.* : Altered pattern of TCR/CD3-mediated protein-tyrosyl phosphorylation in T cells from patients with systemic lupus erythematosus. Deficient expression of the T cell receptor zeta chain. *J. Clin. Invest.*, 101 : 1448 ,1998
- 19) Shores, E.W., Huang, K., Tran, T., *et al.* : Role of TCR zeta chain in T cell development and selection. *Science* ,266 : 1047 ,1994
- 20) Nambiar, M.P., Enyedy, E.J., Warke, V.G., *et al.* : Polymorphisms/mutations of TCR-zeta-chain promoter and 3' untranslated region and selective expression of TCR zeta-chain with an alternatively spliced 3' untranslated region in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Autoimmun.* ,16 : 133 ,2001
- 21) Wakeland, E.K., Liu, K., Graham, R.R., *et al.* : Delineating the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Immunity* ,15 : 397 ,2001
- 22) Kirschfink, M., Petry, F., Khirwadkar, K., *et al.* : Complete functional C1q deficiency associated with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin. Exp. Immunol.*, 94 : 267 ,1993
- 23) Napirei, M., Karsunky, H., Zevnik, B., *et al.* : Features of systemic lupus erythematosus in Dnase1-deficient mice. *Nat. Genet.*, 25 : 177 ,2000
- 24) Tsao, B.P., Ohnishi, K., Cheroutre, H., *et al.* : Failed self-tolerance and autoimmunity in IgG anti-DNA transgenic mice. *J. Immunol.*, 149 : 350 ,1992
- 25) DeGiorgio, L.A., Konstantinov, K.N., Lee, S.C., *et al.* : A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in systemic lupus erythematosus. *Nat. Med.*, 7 : 1189 ,2001

## *Defective antigen clearance and systemic lupus erythematosus*

*Koji Yasutomo*

*Department of Immunology and Parasitology, The University of Tokushima, School of Medicine, Tokushima, Japan*

### SUMMARY

Autoimmune diseases are caused by defective genes, aberrant gene expression or regulation, and environmental factors. Autoimmune disease susceptibility is determined by the interplay of these factors, which eventually affect autoreactive lymphocyte activation status or cell death sensitivity. Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease characterized by a broad variety of clinical symptoms and autoantibody production against nucleic acids, typically double-stranded DNA. Several lines of evidence indicate SLE development has a strong genetic basis. Recent studies have shown that most of the peripheral CD4+ or CD8+ T-cells have a potential to respond to self-antigens and persistence of such self antigens *in vivo* can provoke human or murine SLE. These recent findings in basic and clinical immunology would cause us to reconsider the importance of antigen clearance and persistence as a cause of SLE. Thus, I would like to review the lymphocyte abnormal responses seen in SLE patients from the view point of defective self-antigen clearance.

Key words : systemic lupus erythematosus, T-cells, DNase1, self-antigen,