

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： ゲノムおよび遺伝子発現情報の統合的解析に基づく全身性エリテマトーデスの治療標的の同定とその制御法の開発

2. 研究開発代表者： 山本 一彦（東京大学医学部附属病院アレルギー・リウマチ内科）

3. 研究開発の成果

本研究の目的は全身性エリテマトーデス（SLE）の病因、病態の解明を通じた、革新的な医薬品の開発に向けたシーズの探索である。内容としては、まず SLE の末梢血の各種免疫細胞サブセットのトランスクリプトームを次世代シーケンス（NGS）で解析する。得られた免疫細胞サブセット毎の発現情報について各種解析パッケージを用いて解析し、SLE に重要な免疫細胞サブセット及び特異的な免疫経路を同定する。さらにゲノムの遺伝子多型情報と組み合わせ、網羅的に治療標的となる遺伝子または経路を同定する。また SLE 患者由来 iPS 細胞を含む患者検体で機能解析を行うこととで、得られた候補経路の中から治療標的を明確にする。そして治療標的の制御手段を、合成化合物、抗体製剤や、申請者らが最近 SLE モデルマウスで治療効果を確認したサイトカイン TGF- β 3 を候補として探索し、治療コンセプトを確立する。

2015 年度は SLE 50 例、健常人 30 例の免疫担当細胞の回収目標に対して、2016 年 2 月に目標例数の回収を完了した。NGS 解析用ライブラリー作成については条件検討を行い、最適なプロトコールを構築した。既に SLE15 例、健常人 14 例について、各 20 種類のリンパ球サブセット由来の mRNA 合計 580 サンプル分の cDNA ライブラリーを作成し NGS 解析を行った。この SLE15 例の発現遺伝子を遺伝子解析パッケージで解析したところ、従来知られている I 型インターフェロン下流の遺伝子発現の亢進が、ほぼすべての免疫細胞サブセットで確認された。しかしより詳細に検討すると、免疫細胞サブセットごとに特徴的な修飾を認め、特にスイッチメモリー B 細胞および CD16 陽性単球で著明な遺伝子発現修飾を認めた。この知見は、従来の末梢血リンパ球全体の遺伝子発現解析では分からない、特定のリンパ球サブセットに特徴的な機能修飾を同定する上で、強力な手掛かりになると考えられる。残る SLE 35 例、健常人 16 例分の合計 1020 サンプルについても cDNA ライブラリーを作成中であり、2016 年 7 月までに NGS を完了する予定である。また SLE に対する疾患コントロールとして RA12 例のサンプルを回収し、NGS 解析を行う予定としている。

SLE 患者 2 名由来の iPS 細胞は親株の樹立に成功し、凍結したサンプルの性能確認を行った。現在 iPS 細胞からの単球および樹状細胞の分化誘導を行っており、各種サイトカインによる段階的な培養により、CD14 陽性 HLA-DR 高発現の単球の分化誘導に成功した。現在誘導した細胞の発現遺伝子を確認中であり、それにより樹状細胞の分化誘導及び誘導した細胞に対する刺激条件の検討を行う。

治療薬候補の TGF- β 3 分子については、マウスにおいて IL-10 と協調して強力な抗体産生抑制能と、SLE モデルマウス治療効果を発揮することを明らかとした。TGF- β 3 と IL-10 を作用させた B 細胞の NGS を行い、B 細胞分化に重要な転写因子である IRF4 と Blimp1 の発現抑制と同時に抑制される転写因子の経路を複数同定した。今後ウェスタンブロットなどにより TGF- β 3 による B 細胞抑制経路を解明し、将来明らかとする SLE の病態経路との関連解析の準備を行う。

本研究により SLE の各リンパ球サブセットにおける機能修飾について、網羅的な解析が進みつつあるといえる。今後複数の治療標的候補が同定されることが予想され、iPS 細胞による機能解析や TGF- β 3 による介入を併用することで、速やかな治療コンセプトの確立につながることを期待される。