

【背景】

アバタセプトは細胞傷害性 T リンパ球抗原 4 (CTLA4) の細胞外ドメインと免疫グロブリン G (IgG) の Fc 部分を融合したリコンビナント蛋白で、関節リウマチ (RA) に対する治療薬として広く用いられている。アバタセプトの作用機序は、T 細胞活性化に必須な抗原提示細胞上の CD80 や CD86 と T 細胞上に発現される共刺激分子 CD28 との結合の競合的阻害と考えられ、T 細胞共刺激阻害薬に分類されている。一方、CTLA4 は CD80、CD86 への結合を介して B 細胞、樹状細胞、マクロファージ、破骨細胞前駆細胞などに直接作用し、T 細胞非依存的に獲得免疫応答、炎症、細胞分化に対して抑制的に作用することが報告されている。そこで、本研究では、アバタセプトが高純度末梢血単球の短期培養に与える影響を調べることで、RA におけるアバタセプトの T 細胞非依存的な作用機序を追究することを目的とした。

【方法】

2010 年の米国リウマチ学会/欧州リウマチ学会による関節リウマチ分類基準を満たし、中疾患活動性以上の RA 患者 57 例と健常者や非炎症性骨関節疾患から構成される対照 12 例を対象とした。末梢血から比重遠心法で単核球を分離し、MACS[®]磁気ビーズを用いて高純度 CD14 陽性単球を精製した。末梢血単球をアバタセプトまたは CD28-Ig 存在下で 37°C、24 時間培養し、既報で RA 病態との関連が示されている単球由来因子の発現変動を調べた。細胞表面マーカー (CD16, CD32, CD40, CD54, CD62L, CD64, CD80, CD86, CD181, CD182, CD184, CD191, CD192, CD194, CD195, CD273, CD275, CX3CR1, HLA-DR) の発現はフローサイトメトリーによる平均蛍光強度 (MFI) として測定し、発現レベルはコントロールの MFI に対する比で表した。培養上清中のサイトカイン/ケモカイン (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IFN- γ , TNF α , CCL2) 濃度はマルチプレックスビーズを用いたフローサイトメトリーで測定した。また、末梢血単球の全細胞溶解液を抗原とした免疫ブロットでは、目的とする分子の発現レベルは β -actin に対するシグナル強度比で表した。シトルリン化したフィブリノゲンを抗シトルリン化蛋白抗体 (ACPA) 高力価陽性 RA 患者血清由来 IgG と反応させることで ACPA 免疫複合体を作成し、アバタセプト存在下での末梢血単球培養に添加し、培養上清中のサイトカイン/ケモカイン濃度を測定した。本研究は日本医科大学附属病院倫理委員会での承認を受け、全ての被験者から研究参加前に文書によるインフォームドコンセントを取得した。

【結果】

まず、アバタセプトおよび CD28-Ig との培養で発現が変動する末梢血単球由来分子をスクリーニングするため、RA 患者および対照各 5 例を用いて 20 種の膜表面分子と 8 種のサイトカイン/ケモカインの発現変動をスクリーニングした。その結果、CD64/Fc γ 受容体 I、CD80、CD86、CXCR2 が候補分子として抽出された。次に、これら分子の発現変動について RA 患者 20 例と対照 8 例の末梢血単球を用いて検証したところ、いずれの群においても CD64/Fc γ 受容体 I の発現はアバタセプト添加によって減少したが、CD28-Ig 添加では有意な変動はみられなかった。末梢血単球におけるアバタセプト添加による CD64 発現低下は培養 6 時間後でみられ、少なくとも 48 時間後まで持続した。アバタセプトによる CD64 発現抑制作用は末梢血単球の全細胞溶解液を抗原とした免疫ブロットでも確認された。CTLA4 が結合する単球上の受容体を同定するため、アバタセプト存在下での末梢血単球培養に抗 CD80 抗体、抗 CD86 抗体、または両抗体を加えたところ、抗 CD86 抗体存在下でのみ CD64/Fc γ 受容体 I 発現低下が阻害された。最後に、ACPA 陽性未治療 RA 患者 19 例の末梢血単球をアバタセプト添加および非添加の条件下で ACPA 免疫複合体と 24 時間培養したところ、ACPA 免疫複合体刺激により誘導された IL-1 β 、IL-6、CCL2、TNF α の産生はアバタセプト添加により低下した。

【考察】

本研究では、アバタセプトが末梢血単球上の CD86 への結合を介して CD64/Fc γ 受容体 I の発現を速やかに低下させることにより、ACPA 免疫複合体により誘導される炎症性サイトカイン産生を抑制する機序を見出した。アバタセプトの T 細胞非依存的な本作用機序は、T 細胞共刺激阻害作用とともに RA 病態の改善に貢献すると考えられる。アバタセプトと TNF 阻害薬の効果を比較した無作為化二重盲検比較試験では、両薬剤とも速やかな作用発現を示した。直接的な抗サイトカイン作用を持たないアバタセプトにみられる迅速な効果発現機序はこれまで明らかでなかったが、本研究で見出された末梢血単球に対する迅速な CD64/Fc γ 受容体 I 発現抑制、炎症性サイトカイン産生阻害で説明可能である。また、アバタセプトの有効率は ACPA 陽性例、特に高値陽性例で高いことが臨床試験やコホート研究で示されている。この点もアバタセプトによる ACPA 免疫複合体を介した RA 病態を抑制で説明可能であ

る。TNF 阻害薬、IL-6 阻害薬と異なるアバタセプトの多面的な作用機序の解明は、RA 患者における本薬剤の有効性予測などの適正使用に役立つ。