

平成21年度名古屋市立大学医学会賞  
受賞論文

体外循環式光化学療法（フォトフェレーシス）による  
CD4陽性 CD25陽性制御性 T 細胞の誘導

前田 晃

名古屋市立大学大学院医学研究科 加齢・環境皮膚科学

Extracorporeal photopheresis induces CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells

AKIRA MAEDA

*Department of Geriatric and Environmental Dermatology,  
Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences*

Introduction

ナローバンド UVB および PUVA をはじめとする紫外線治療は制御性 T 細胞を誘導することにより様々な皮膚疾患に対し有効であることが知られている。この制御性 T 細胞は様々な自己免疫疾患や移植後の拒絶反応などにかかわっており、このことから紫外線療法が様々な自己免疫疾患や拒絶反応の抑制に応用できる可能性を秘めていると考えられる。その可能性を裏付けるように体外循環式光化学療法は様々な自己免疫疾患や拒絶反応に有効である。

体外循環式光化学療法（extracorporeal photopheresis）は別名フォトフェレーシス（photopheresis）とも呼ばれる体外循環と紫外線を用いたユニークな治療法である。

フォトフェレーシスは大きく3つの行程に分けられる。

- ① 患者血液より白血球分画を分離し、それ以外の赤血球や血漿成分を患者血液に戻す。
- ② 体外に取り出した白血球分画（バフィーコート）に光感作物質として8-methoxypsoralen を添加し、紫外線（UVA）を照射する。
- ③ 照射後このバフィーコートは再び患者の

循環血液に戻される。

体外フォトフェレーシス装置としては、テラコス・インコーポレイテッド（ペンシルベニア州エクストン）によって製造されている装置：商品名 UVAR XTS（登録商標）があげられる。フォトフェレーシスは最初、皮膚 T 細胞性リンパ腫（CTCL）の治療として抗腫瘍効果をもちつつも副作用の少ない方法として Edelson らによって開発された<sup>1)</sup>。その後、尋常性天疱瘡<sup>2)</sup> やリウマチ性関節炎<sup>3)</sup>、全身性ループスエリテマトーデス<sup>4)</sup> などさまざまな自己免疫疾患において有効であるとの報告がされている。さらに Barr らによってフォトフェレーシスが心臓移植後の拒絶反応の抑制に有効であることが報告され<sup>5)</sup>、さらには宿主対移植片病（GvHD）に対しても有効な治療であることが報告されている<sup>6)</sup>。

Action mechanisms of photopheresis

我々はこのフォトフェレーシスのメカニズムを探るために接触皮膚炎のモデルを用いてマウスのモデルを確立した（Figure 1）<sup>7)</sup>。すでに感作したマウス所属リンパ節細胞より単核球を得たのちソラレン（8-methoxypsoralen）の存在下で UVA1 を照射した。照射後、単核球はナイー

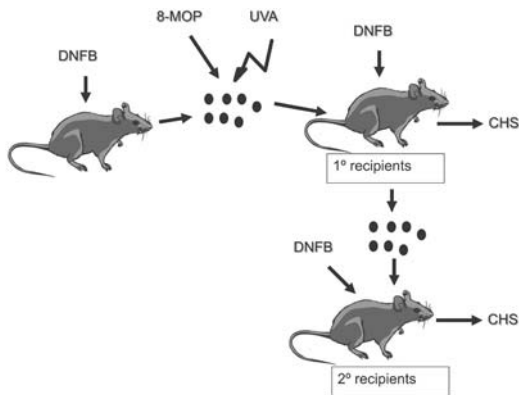


Figure 1. Scheme of experimental in vivo model for CHS and ECP.

Spleen and lymph node cells were obtained from mice which were sensitized with DNFB. Cells were exposed extracorporeally to 8-MOP+UVA radiation. Treated cells were injected i.v. into naïve syngeneic recipients (1° recipients). Five days after injection, recipients were sensitized against DNFB and ear challenge performed 5 days later. In some experiments lymph node cells were obtained from the recipient mice and transferred i.v. into a second generation of syngeneic naïve mice (2° recipients). 24 h after transfer, mice were sensitized against DNFB and ear challenge performed 5 days later.

ブな recipient に移植しこの recipient における接触過敏反応を調べた。この recipient において接触過敏反応は著明に抑制されていた (Figure 2)<sup>7)</sup>。さらにこのフォトフェレーシスにより免疫学的トレランスが誘導されるか否かを検討する目的でフォトフェレーシスにより接触過敏反応が抑制されたマウスより所属リンパ節を得たのち再度ナイーブな recipient に移植した。この recipient における接触過敏反応はやはり著明に抑制されておりフォトフェレーシスが免疫学的トレランスを誘導することが明らかとなった (Figure 3)<sup>7)</sup>。

フォトフェレーシスによってT細胞などリンパ球のアポトーシスが誘導される一方で、樹状細胞やマクロファージなどCD11c陽性細胞は紫外線誘導アポトーシスに抵抗性を示した<sup>9)</sup>。さらに白血球分画よりこのCD11c陽性細胞を除いてフォトフェレーシス処理をした細胞はトレランスを誘導できないことから、フォト

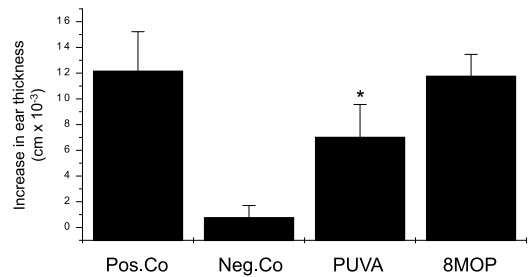


Figure 2. Injection of ECP-treated cells, obtained from DNFB-sensitized mice, inhibits sensitization in the recipients.

Spleen and lymph node cells were obtained from mice which were sensitized with DNFB. Cells were exposed extracorporeally to 200 ng/ml 8-MOP + 5 J/cm<sup>2</sup> UVA radiation. Treated cells were injected i.v. into naïve syngeneic recipients (1° recipients). Five days after injection, recipients were sensitized against DNFB and ear challenge performed 5 days later. Positive control mice were sensitized and challenged without injection, negative control mice were ear challenged only. Ear swelling was measured 24 h after challenge. Ear swelling response is expressed as the difference (cm x 10<sup>-3</sup>, mean ± SD) between the thicknesses of the challenged ear compared to the thickness of the vehicle-treated ear.

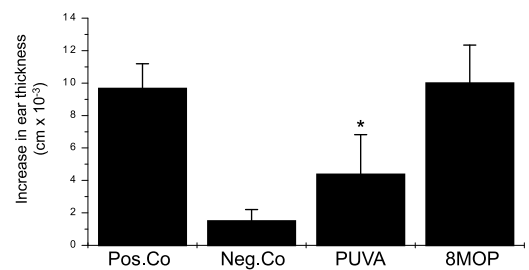


Figure 3. Injection of ECP-treated cells obtained from DNFB-sensitized mice induces transferable tolerance in recipients.

Spleen and lymph node cells were obtained from mice, which were sensitized with DNFB. Cells were exposed extracorporeally to 200 ng/ml 8-MOP + 5 J/cm<sup>2</sup> UVA radiation. Treated cells were injected i.v. into naïve syngeneic recipients (1° recipients). Five days after injection, recipients were sensitized against DNFB. Five days thereafter, spleen and lymph node cells were obtained from the recipient mice and transferred i.v. into a second generation of syngeneic naïve mice (2° recipients). Mice were sensitized against DNFB 24 h after transfer and ear challenge performed 5 days thereafter.

フェレーシスのメカニズムにフォトフェレーシス処理した CD11c 陽性細胞が関与していることが明らかとなった (Figure 4)<sup>7)</sup>. さらにこのモデルではフォトフェレーシス処理を行った後に感作し接触過敏反応を検討している. したがって治療モデルとはいえないためすでに感作されているマウスにおいてもフォトフェレーシス処理を施したところ, すでに感作されたマウスにおいても接触過敏反応の抑制が見られた (Figure 5)<sup>8)</sup>. こうした結果より図に示すような複数のメカニズムからトレランスを誘導していると考えられる (Figure 6)<sup>9)</sup>.

### Conclusion

残念ながらこのフォトフェレーシスは現在のところ日本では行われていない. 従って, 日本で行うに当たっては様々な疾患に対し治療プロトコルを定め試験を行い, 効果と副作用の再検討が必要である. さらに今後の展望としては図に示すようにフォトフェレーシスのターゲットは単一ではない. したがって, 光増感剤の改良や照射プロトコルの工夫によりさらなる有効性および安全性を得ることが期待される. 疾患ごとの治療戦略の確立のためさらな

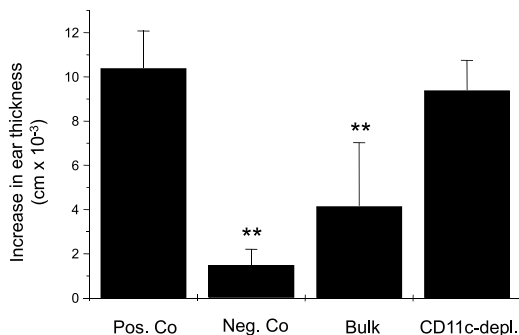


Figure 4. ECP targets CD11c<sup>+</sup> cells.

Spleen and lymph node cells were obtained from mice, which were sensitized with DNFB. Cells were exposed extracorporeally to 200 ng/ml 8-MOP + 5 J/cm<sup>2</sup> UVA radiation. One group of cells was depleted by magnetobead separation of CD11c<sup>+</sup> cells. Depleted or bulk cells were injected i.v. into naïve syngeneic recipients (1° recipients). Five days after injection, recipients were sensitized against DNFB and ear challenge performed 5 days later.

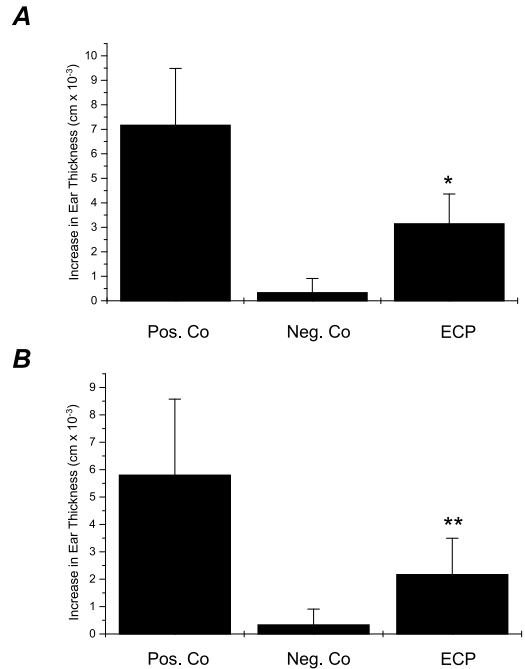


Figure 5. ECP inhibits also the effector phase of CHS. Splenocytes and lymph node cells were obtained from DNFB-sensitized WT mice and treated with 8-MOP and UVA. Cells were injected into naïve mice which were sensitized against DNFB 4 days earlier (1° recipients, **A**). 24 h thereafter recipient mice (ECP) were challenged with 0.3% DNFB. Ear swelling was measured 24 h after challenge. Splenocytes and lymph node cells obtained from 1° recipients were injected into naïve mice (2° recipients, **B**). Mice (ECP) were sensitized against DNFB 24 h after transfer, and ear challenge was performed 5 days later.

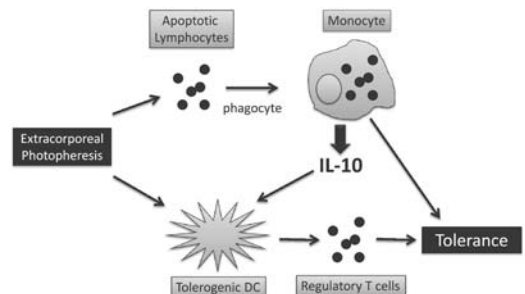


Figure 6. Mechanisms of tolerance induced by ECP. ECP-treated dendritic cells and monocytes phagocytosed apoptotic lymphocytes induce tolerance via induction of functional CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells.

るメカニズムの検討も必要であろうと思われる。

### Acknowledgements

The author thanks Prof. Akimichi Morita, Department of Dermatology, Nagoya City University Medical School, and Prof. Thomas Schwarz, Department of Dermatology, University Kiel for his critical reading of the manuscript.

### References

- 1) Edelson, R et al: N Engl J Med 316: 297-303, 1987
- 2) Rook, AH et al: Ann Intern Med 112: 303-305, 1990
- 3) Malawista, S.E. et al: Arthritis Rheum 34: 646-654, 1991
- 4) Knobler, R.M. et al: Arthritis Rheum 35: 319-324, 1992
- 5) Barr, M.L. et al: Transplant Proc 27: 1993-1994, 1995
- 6) Rosetti, F et al: Transplantation 14: 149-151, 1995
- 7) Maeda, A et al: J Immunol 174: 5968-5976, 2005
- 8) Maeda, A et al: J Immunol 181: 5956-5962, 2008
- 9) Maeda, A et al: J Dermatol Sci 54: 150-156, 2009