

総説 (2016年度横浜市立大学医学研究奨励賞受賞研究)

## 全身性エリテマトーデスの治療法開発に向けた 自然免疫応答制御機構の解明

藩 龍馬

横浜市立大学大学院医学研究科 免疫学

**要 旨:** 転写因子 interferon regulatory factor-5 (IRF5) は自然免疫応答において重要な役割を担う一方で, 全身性エリテマトーデス (SLE) の病態発症と関連することが知られている. 我々は Toll 様受容体 (TLR) を介した自然免疫応答シグナル伝達経路において IRF5 と直接結合し, その転写活性化能を選択的に抑制する制御因子として Lyn を同定した. さらに, SLE マウスモデルのひとつである Lyn 欠損マウスを用い, IRF5 の過剰な活性化が SLE 様病態を引き起こし, IRF5 の欠損はその発症を阻止することを明らかにした. 我々が研究した Lyn 欠損マウスを含め, これまで研究された全ての SLE モデルマウスにおいて, IRF5 が病態発症に必須であることが示されている. したがって IRF5 は SLE の有力な治療標的であり, その活性や発現の選択的阻害が新規治療法開発につながる可能性が期待される.

**Key words:** 全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus), 自然免疫応答 (innate immunity), interferon regulatory factor, Lyn, TLR-MyD88 経路 (TLR-MyD88 pathway)

### はじめに

全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus, SLE) は難治性の自己免疫疾患であり, 抗 DNA 抗体などの自己抗体が組織に沈着することで全身の臓器に多様な病変が生じる. ステロイドや免疫抑制剤を中心とした治療により生存率は高いが, 日和見感染症や骨粗しょう症などの様々な副作用があるため, quality of life や長期予後を改善できる新たな治療法開発が望まれている<sup>1)</sup>. SLE では様々な遺伝的要因に環境的要因が加わることで自己に対する免疫寛容が破綻し, さらに免疫複合体による増悪のサイクルが形成されることで慢性的な炎症と重度の組織損傷が引き起こされると考えられている<sup>2, 3)</sup>.

我々は SLE の治療標的のひとつとして, interferon regulatory factor-5 (IRF5) に着目し研究を行っている. IRF5 は IRF 転写因子ファミリーのメンバーであり, 自然免疫受容体である Toll 様受容体 (Toll-like receptor; TLR)

を介した自然免疫応答において重要な役割を担う<sup>4)</sup>. TLR の下流において, IRF5 はアダプタータンパク質である myeloid differentiation primary response 88 (MyD88) と会合し, ユビキチン化やリン酸化などの翻訳後修飾 (post-translational modification, PTM) を受けて活性化される. 活性化型 IRF5 は細胞質から核に移行し, I 型インターフェロン (interferon, IFN) や炎症性サイトカインの遺伝子発現を誘導する<sup>5-8)</sup>.

IRF5 の活性化が自然免疫応答に重要である一方で, IRF5 が SLE の病態発症と密接に関わることがヒト SLE ならびに SLE モデルマウスの研究により明らかとなっている. ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study, GWAS) により, IRF5 遺伝子多型が SLE の発症リスクと強く関連しており, いくつかの多型は IRF5 の発現上昇に関わることが示された<sup>9, 10)</sup>. また, SLE 患者の単球において IRF5 が核移行しているという報告もある<sup>11)</sup>. さらに, SLE モデルマウスを用いた複数の研究により, SLE の発

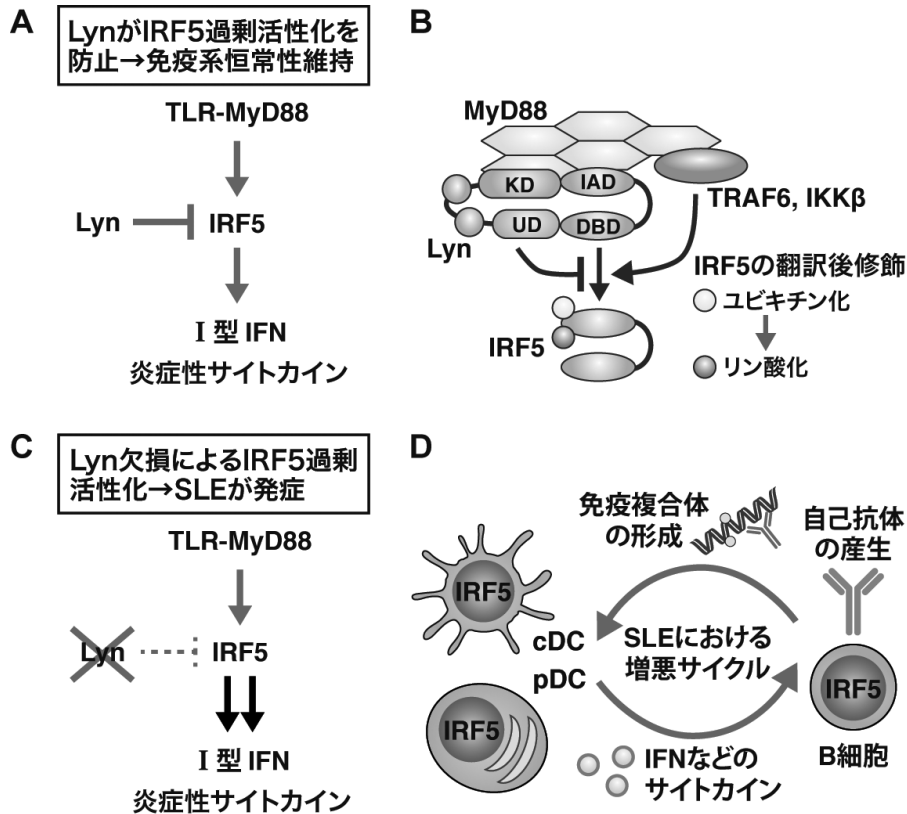


図1 Lynを介したIRF5活性化調節による免疫系恒常性維持とその破綻によるSLE発症のモデル

- A. TLR-MyD88経路において、LynはIRF5の過剰活性化を抑制することで、免疫系の恒常性維持の一端を担っている。
- B. LynはIRF5とそれぞれ2つの結合部位を介して結合し、IRF5の翻訳後修飾（TRAF6によるユビキチン化やIKKβによるリン酸化）を阻害することでIRF5の活性化を抑制する。UD, unique domain; KD, kinase domain; DBD, DNA-binding domain; IAD, IRF association domain; TRAF6, tumor necrosis factor receptor-associated factor 6; IKKβ, Inhibitor of NF-κB kinase-β。
- C. Lynが欠損するとTLR-MyD88経路においてIRF5の過剰活性化が引き起こされSLEの発症につながる。
- D. Lyn欠損によるIRF5の過剰活性化が樹状細胞（cDCとpDC）におけるI型IFNや炎症性サイトカイン産生を亢進させ、それによって自己反応性B細胞による自己抗体産生が促される。自己抗体は免疫複合体を形成し、これがさらに樹状細胞を刺激する。このような増悪のサイクルが回ることにより、SLEの病態が発症する。

症にIRF5が必要であることが示されている（後述）。以上のように、IRF5がSLE発症に対して正に作用することが示唆されているが、IRF5の活性化とSLE発症との因果関係が不明であった。そこで我々は、IRF5活性の選択的な調節機構、特に抑制機構が存在するのであれば、その破綻によるIRF5の過剰活性化とSLE発症との関わりを明らかにできるのではないかと考えた。

### IRF5の選択的な抑制因子Lynの同定

IRF5の選択的活性制御メカニズムを明らかにするため、我々はIRF5タンパク質と結合するキナーゼタンパク質のスクリーニングを行い、Lynを含む複数のSrcファミリーキナーゼを同定した。なかでもLynはIRF5と発現パターンが類似していることが特徴的で、いずれも樹状細胞（dendritic cell, DC）、単球、マクロファージおよびB細胞において高発現していた。Lynは非受容体型チロシンキナーゼであるSrcファミリーキナーゼのひとつであり、B

細胞受容体（B cell receptor, BCR）シグナル伝達経路において正・負両方の作用を担っている<sup>12, 13</sup>。興味深いことに、Lynを欠損したマウスはSLE様病態を自然発症することが知られている<sup>14-16</sup>。ヒトにおいても、GWASによってLYN遺伝子の多型とSLE発症リスクとの間に相関が認められている<sup>17</sup>。さらに、DCあるいはB細胞特異的なLyn欠損マウスにおいて、いずれもMyD88依存的にSLE様病態を呈すること、すなわちTLR-MyD88経路を介した自然免疫応答がLyn欠損マウスにおけるSLE様病態発症に重要であることが示唆されている<sup>18, 19</sup>。上述の結果ならびにLynもSLEと関係があることから、Lynに着目して解析を進めた。

LynがIRF5の活性に与える影響を検討した結果、LynはIRF5の転写活性化能を抑制する一方で、自然免疫応答で重要な別の転写因子であるNF-κBの転写活性化能は抑制せず、IRF5を選択的に抑制することが示された。意外なことに、キナーゼ活性を失ったLynの変異体でもMyD88経路を介したIRF5による転写活性化を阻害した。した

がって、Lynはキナーゼ活性非依存的にIRF5による転写活性化を阻害していることが判明した。スクリーニングの結果と一貫して、細胞内でもLynとIRF5が結合しており、この結合はMyD88の共発現によって増強されることから、三者の複合体が形成されていることが示唆された。ドメイン解析の結果、LynとIRF5はそれぞれ2つの結合部位を介して結合し、それによってIRF5の活性が阻害されることが示された。LynによるIRF5抑制機構をさらに検討するために、IRF5の活性化に重要なPTMであるユビキチン化とリン酸化を解析した結果、IRF5のユビキチン化はリン酸化よりも上流で起こるイベントであり、LynはIRF5のユビキチン化とリン酸化のいずれも抑制することが明らかとなった。LynはIRF5と結合してそのPTMをLynのキナーゼ活性非依存的に抑制することで、IRF5が過剰に活性化してしまうのを防いでおり、この精密な調節機構が免疫系の恒常性を維持する役割の一端を担っていると考えられる(図1A, B)。

### Lyn欠損によるIRF5の過剰活性化とSLE病態発症との関わり

SLEの病態発症において、古典的樹状細胞(conventional DC, cDC)と形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid DC, pDC)の両者がサイトカイン産生を介した自己反応性T細胞とB細胞、あるいはDC自身の活性化に関与する<sup>20)</sup>。また、DC特異的にLynを欠損したマウスがSLE様病態を発症するのは、TLR-MyD88経路の過剰な活性化が原因であると考えられている<sup>19)</sup>。DCにおけるLynとIRF5の関係について*in vitro*で分化誘導した骨髄由来DC(bone-marrow-derived DC, BMDC; cDCとpDCの両方を含む)を用いて解析した結果、TLR刺激したLyn<sup>-/-</sup> BMDCにおけるIRF5のユビキチン化およびリン酸化は野生型と比較して亢進した。また、TLR刺激時のI型IFNと炎症性サイトカインの産生もLyn<sup>-/-</sup> BMDCで亢進した。興味深いことに、Lyn<sup>-/-</sup> BMDCの過剰なI型IFN産生は、Lyn<sup>-/-</sup> Irf5<sup>+/-</sup> BMDCにおいて野生型と同等の産生量に戻ること、すなわち正常化することが分かった。したがって、LynによるIRF5の選択的抑制が欠損したことによりDCにおいてIRF5の過剰活性化が起こり、それによってI型IFNと炎症性サイトカインの産生が亢進することが示唆された(図1C)。B細胞においても同様であり、TLR刺激時の休止期B細胞によるIgG2c産生はLyn<sup>-/-</sup> B細胞において亢進しており、Lyn<sup>-/-</sup> Irf5<sup>+/-</sup> B細胞においては野生型と同等になった。

Lyn欠損マウスはSLE様病態を発症することが知られているため<sup>14-16)</sup>、これを用いてIRF5の過剰活性化とSLE病態発症との因果関係を検討した。マウスから単離したDCを用いてIRF5の活性化状態を解析した結果、Lyn<sup>-/-</sup>

DCにおいてIRF5はリン酸化され、しかも核移行していることが判明した。すなわち、Lynが欠損するとIRF5はDCにおいて恒常的に活性化してしまうことが示された。Lyn<sup>-/-</sup>マウスの病態を解析した結果、抗二本鎖DNA抗体産生や糸球体腎炎などのSLEに特徴的な症状はLyn<sup>-/-</sup> Irf5<sup>-/-</sup>マウスにおいて顕著に抑制された。したがって、Lyn<sup>-/-</sup>マウスにおけるSLE様病態発症にIRF5が必要であることが示された。さらに、これらの症状はIrf5を片アレル欠損したLyn<sup>-/-</sup> Irf5<sup>+/-</sup>マウスにおいても、両アレル欠損のLyn<sup>-/-</sup> Irf5<sup>-/-</sup>マウスと同様に抑制されることが判明した。以上の結果から、Lyn欠損によりIRF5がDCあるいはB細胞において過剰活性化されることで、DCにおける過剰なサイトカイン産生およびB細胞における自己抗体産生が引き起こされ、SLE様病態が発症することが示唆された。このように産生された自己抗体は免疫複合体を形成し、さらにDCを刺激することでSLEにおける増悪のサイクルが形成されると考えられる(図1D)。

### IRF5を標的としたSLE治療法開発の今後

上述の我々の研究<sup>21)</sup>を含め、これまで研究された全てのSLEモデルマウス(*lpr*, *gld.ApoE*<sup>-/-</sup>, *FcγRIIB*<sup>-/-</sup>, *FcγRIIB*<sup>-/-</sup> *Yaa*, *Lyn*<sup>-/-</sup>ならびにpristane-induced lupus)においてIRF5がその病態発症に必要であることが示されている(表1)<sup>21-28)</sup>。IRF5の過剰活性化とSLE様病態発症との関係が示されたLyn<sup>-/-</sup>マウスのみならず、*gld.ApoE*<sup>-/-</sup>, *FcγRIIB*<sup>-/-</sup>ならびに*FcγRIIB*<sup>-/-</sup> *Yaa*マウスにおいて、IRF5の量を半分に減らすだけでこれらのSLEモデルマウスにおけるSLE様病態発症を阻止できることから、IRF5の活性あるいは発現の選択的制御により、副作用が少なく効果の高いSLEの新たな治療法につながることを期待される。また、SLEはヘテロな病態の疾患であり、遺伝的要因と環境的要因が複雑に組み合わせることで発症するが、これらのSLEモデルマウスの研究結果や、IRF5の遺伝子多型がSLE発症リスクと強い相関を示すSLE患者のGWAS解析結果から、IRF5は多くのSLE患者において病態形成に関与している可能性が高い。

IRF5を標的とした新規SLE治療法を開発する上で、解決すべき課題が残されている。これまでのSLEモデルマウスにおけるIRF5の研究では、Irf5遺伝子が先天的に欠損したマウスを用いており、SLE様病態が発症する前にIRF5を抑制する「予防」実験であったと言える。したがって、SLE様病態が発症した後にIRF5を抑制することで病態が改善するかを検討する「治療」実験を行うことで、実験的proof of concept (POC)を取得する必要がある。これには2種類のアプローチがあり、ひとつはIRF5コンディショナル欠損マウスを用いる方法がある。例えば、Irf5<sup>lox/lox</sup> Cre-ERマウスではタモキシフェン投与によりIrf5

表1 IRF5が病態形成に必須であることが示されたSLEマウスモデル

モデル (系統)	主なSLE様病態・特徴	考えられている発症要因	IRF5欠損の効果
<i>lpr</i> (MRL)	<ul style="list-style-type: none"> <li>多様な自己抗体産生, 血中免疫複合体産生, 著しいリンパ節の腫大, 糸球体腎炎, 死亡率の増加<sup>29)</sup></li> <li>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>T細胞の異常増殖<sup>30)</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>細胞死受容体<i>Fas</i>の変異により, 自己反応性クローンのアポトーシスによる除去が損なわれる<sup>31)</sup>.</li> <li>TLR7-MyD88経路やTLR9を介したTLR7の制御が病態形成に重要である<sup>32, 33)</sup>.</li> </ul>	<i>Irf5</i> <sup>-/-</sup> においてSLE様病態が顕著に抑制される <sup>28)</sup> . リンパ腫と脾腫が抑制され脾臓のCD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup> T細胞数が減弱する一方で, B細胞数は減弱しない. <i>Irf5</i> <sup>+/-</sup> における病態抑制は部分的である.
<i>gld.ApoE</i> <sup>-/-</sup> (B6)	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>gld</i>マウスにおけるSLE様病態(自己抗体産生, リンパ節や脾臓の腫大, 糸球体腎炎)がApoE欠損により重症化<sup>34)</sup></li> <li>アテローム性動脈硬化, アポトーシス細胞増加<sup>34)</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>FasL</i>の変異により, <i>lpr</i>と同様に自己反応性クローンの除去が損なわれる<sup>35)</sup>.</li> <li>脂質代謝制御因子ApoEの欠損により増加した酸化LDLがスカベンジャー受容体と結合してアポトーシス細胞の貪食を阻害する<sup>34)</sup>.</li> </ul>	<i>Irf5</i> <sup>-/-</sup> ならびに <i>Irf5</i> <sup>+/-</sup> においてSLE様病態が顕著に抑制される <sup>25)</sup> . 一方で, アテローム性動脈硬化や高脂血症などの脂質代謝異常については <i>Irf5</i> <sup>-/-</sup> ならびに <i>Irf5</i> <sup>+/-</sup> において悪化する.
<i>FcγRIIB</i> <sup>-/-</sup> ならびに <i>FcγRIIB</i> <sup>-/-</sup> <i>Yaa</i> (B6)	<ul style="list-style-type: none"> <li>抗核抗体などの自己抗体産生, リンパ節や脾臓の腫大, 糸球体腎炎, 死亡率の増加<sup>36, 37)</sup></li> <li><i>Yaa</i> (主に<i>Tlr7</i>の重複)により重症度が増加<sup>37)</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>抑制性Fc受容体であるFcγRIIBの欠損によりB細胞免疫寛容が破綻し, 自己反応性のB細胞(特に形質細胞)が増加する<sup>38)</sup>.</li> </ul>	<i>Yaa</i> の有無に関わらず, <i>Irf5</i> <sup>-/-</sup> ならびに <i>Irf5</i> <sup>+/-</sup> においてSLE様病態が顕著に抑制される <sup>23)</sup> . 他のモデルと異なり, <i>Dock2</i> 変異(*)の影響については不明である.
<i>Lyn</i> <sup>-/-</sup> (B6)	<ul style="list-style-type: none"> <li>抗DNA抗体などの自己抗体産生, リンパ節や脾臓の腫大, 糸球体腎炎<sup>6)</sup></li> <li>自己反応性の形質芽球ならびに形質細胞の増殖<sup>14)</sup></li> <li>DCにおけるIRF5活性化の亢進<sup>21)</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>BCRシグナル伝達の制御因子である<i>Lyn</i>が欠損することでB細胞免疫寛容が破綻する<sup>14)</sup>.</li> <li><i>Lyn</i>はTLR-MyD88経路でIRF5活性化を抑制しており, <i>Lyn</i>欠損によりIRF5が過剰に活性化されてSLEの増悪サイクルが形成される(図1)<sup>21)</sup>.</li> </ul>	<i>Irf5</i> <sup>-/-</sup> ならびに <i>Irf5</i> <sup>+/-</sup> においてSLE様病態が顕著に抑制される <sup>21)</sup> . 脾臓の形質芽球と形質細胞の増加そのものは <i>Irf5</i> <sup>-/-</sup> ならびに <i>Irf5</i> <sup>+/-</sup> において抑制されない.
Pristane-induced lupus (B6)	<ul style="list-style-type: none"> <li>プリスタンの腹腔単回投与により発症(抗RNP抗体などの自己抗体産生, ISGの発現, 糸球体腎炎)<sup>39, 40)</sup></li> <li>Ly6C<sup>high</sup>単球の蓄積<sup>41)</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>腹腔に浸潤したLy6C<sup>high</sup>単球がI型IFNを産生し, これが長期的に持続することでDCの成熟やT細胞の生存, B細胞のクラススイッチなどが促進され最終的に自己寛容が破綻する<sup>41)</sup>.</li> <li>IRF5はB細胞においてクラススイッチを直接制御することでも病態形成に関与する<sup>24)</sup>.</li> </ul>	<i>Irf5</i> <sup>-/-</sup> においてSLE様病態が顕著に抑制される <sup>22, 24, 26, 27)</sup> . <i>Irf5</i> <sup>+/-</sup> における病態抑制については不明である.

(\*) IRF5欠損マウスの特定の系統では, *Irf5*遺伝子欠損と同時に*Dock2*遺伝子にも機能欠失型変異が生じている<sup>28)</sup>. *Dock2*はリンパ球の組織への移動やTLRシグナルなどに関与するため, IRF5欠損の影響を正しく評価するためには*Dock2*遺伝子が正常なIRF5欠損マウスの系統を用いる必要がある. 本表の*FcγRIIB*<sup>-/-</sup>と*FcγRIIB*<sup>-/-</sup>*Yaa*マウス以外のSLEモデルマウスの研究では*Dock2*変異が無いIRF5欠損マウスが用いられている.

略語: ApoE, apolipoprotein E; FasL, Fas ligand; LDL, low-density lipoprotein; Dock2, dedicator of cytokinesis 2; RNP, ribonucleoprotein; ISG, interferon-stimulated gene.

遺伝子の欠損を誘導することができる. したがって, このマウスと交配したSLEモデルマウスを作製することで, SLE様病態を発症後に*Irf5*遺伝子を欠損させることが可能である. もうひとつのアプローチは, SLEモデルマウスにおいて病態発症後にIRF5阻害物質(低分子化合物やペプチドなど)によるIRF5の活性阻害あるいはRNA干渉(RNAi)法によるIRF5の発現抑制を検討することである.

IRF5の活性阻害と発現抑制は実験的POCの取得と同時にIRF5を標的としたSLE治療法につながるものであり, IRF5の選択的阻害や, 副作用の有無などについて検討す

る必要がある. 後者に関して, *gld.ApoE*<sup>-/-</sup>マウスではApoE欠損という特殊な遺伝的背景ではあるが, アテローム性動脈硬化や高脂血症などの脂質代謝異常がIRF5の欠損により悪化すると報告がある<sup>25)</sup>. また, IRF5は自然免疫応答に重要な転写因子であるため, IRF5の部分的な抑制では易感染症にはならないことなどを確認する必要もあると考えられる.

SLE患者検体の解析も今後の重要な課題である. 上述のようにIRF5を標的とした治療法は, 多くのSLE患者に適用可能であることが期待できるが, 一方で対象患者群

の選定や予後評価を適切に行うことは重要であり、それに用いるバイオマーカーとして活性化型IRF5が有用である。IRF5の活性化とSLE患者の病勢との関係性を解析することで、コンパニオン診断を伴うSLE治療法の開発につながることを期待される。

## おわりに

IRF5の活性あるいは発現量を選択的に減らすことができれば、副作用が少なく効果の高いSLEの新たな治療法となることが期待される。一方で、SLE病態の発症後にIRF5を抑制しても症状が改善するのかどうか（実験的POCの取得）や、SLE患者の病勢とIRF5活性化状態の関連など、確認が必要なことも残っている。我々は現在エーザイ株式会社と協働でIRF5阻害剤を取得するためのハイスループットスクリーニングを行い、複数の候補化合物が得られている。今後はこれらの課題に取り組みながら、IRF5を標的とした新規SLE治療法開発につなげたいと考えている。

本研究における遺伝子組み換え生物の取り扱いについては、横浜市立大学医学部等遺伝子組み換え実験安全委員会での審議・承認を経て、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」を遵守して行った。また本研究における実験動物の使用については、横浜市立大学動物実験委員会での審議・承認を経て、「横浜市立大学における動物実験の実施に関する規定」を遵守し、動物愛護上の配慮をもって行った。

## 謝 辞

本研究をご指導下さいました横浜市立大学・大学院医学研究科免疫学の田村智彦教授をはじめ、同・先端医学科学研究センターの平野久先生、木村弥生先生、木村鮎子先生、野村文子先生、同・大学院医学研究科微生物学の梁明秀先生、松永智子先生、同・大学院医学研究科消化器腫瘍外科学の遠藤格先生、鈴木紳祐先生、同・大学院医学研究科実験動物医学の中澤正年先生、東京大学・生産技術研究所炎症免疫制御学社会連携研究部門の谷口維紹先生、柳井秀元先生、東京大学・総合文化研究科広域科学専攻の大杉美穂先生、沖縄科学技術大学院大学・細胞シグナルユニットの山本雅先生、エーザイ株式会社の吉松賢太郎様、塚原克平様、宮下定一様、黒光淳郎様をはじめとする皆様、そして免疫学教室の皆様にご心より御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Kaul A, Gordon C, Crow MK, et al: Systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Dis Primers*, **2**: 16039, 2016.
- 2) Liu Z & Davidson A: Taming lupus—a new understanding of pathogenesis is leading to clinical advances. *Nat Med*, **18**: 871–882, 2012.
- 3) Tsokos GC, Lo MS, Costa Reis P & Sullivan KE: New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*, **12**: 716–730, 2016.
- 4) Tamura T, Yanai H, Savitsky D & Taniguchi T: The IRF family transcription factors in immunity and oncogenesis. *Annu Rev Immunol*, **26**: 535–584, 2008.
- 5) Balkhi MY, Fitzgerald KA & Pitha PM: Functional regulation of MyD88-activated interferon regulatory factor 5 by K63-linked polyubiquitination. *Mol Cell Biol*, **28**: 7296–7308, 2008.
- 6) Lopez-Pelaez M, Lamont DJ, Pegg M, Shpiro N, Gray NS & Cohen P: Protein kinase IKK  $\beta$ -catalyzed phosphorylation of IRF5 at Ser462 induces its dimerization and nuclear translocation in myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, **111**: 17432–17437, 2014.
- 7) Ren J, Chen X & Chen ZJ: IKK  $\beta$  is an IRF5 kinase that instigates inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*, **111**: 17438–17443, 2014.
- 8) Takaoka A, Yanai H, Kondo S, et al: Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors. *Nature*, **434**: 243–249, 2005.
- 9) Eames HL, Corbin AL & Udalova IA: Interferon regulatory factor 5 in human autoimmunity and murine models of autoimmune disease. *Transl Res*, **167**: 167–182, 2016.
- 10) Graham RR, Kyogoku C, Sigurdsson S, et al: Three functional variants of IFN regulatory factor 5 (IRF5) define risk and protective haplotypes for human lupus. *Proc Natl Acad Sci USA*, **104**: 6758–6763, 2007.
- 11) Stone RC, Feng D, Deng J, et al: Interferon regulatory factor 5 activation in monocytes of systemic lupus erythematosus patients is triggered by circulating autoantigens independent of type I interferons. *Arthritis Rheum*, **64**: 788–798, 2012.
- 12) Scapini P, Pereira S, Zhang H & Lowell CA: Multiple roles of Lyn kinase in myeloid cell signaling and function. *Immunol Rev*, **228**: 23–40, 2009.
- 13) Xu Y, Harder KW, Huntington ND, Hibbs ML & Tarlinton DM: Lyn tyrosine kinase: accentuating the positive and the negative. *Immunity*, **22**: 9–18, 2005.
- 14) Gutierrez T, Halcomb KE, Coughran AJ, Li QZ & Satterthwaite AB: Separate checkpoints regulate splenic

- plasma cell accumulation and IgG autoantibody production in Lyn-deficient mice. *Eur J Immunol*, **40**: 1897 – 1905, 2010.
- 15) Hibbs ML, Tarlinton DM, Armes J, et al: Multiple defects in the immune system of Lyn-deficient mice, culminating in autoimmune disease. *Cell*, **83**: 301 – 311, 1995.
  - 16) Nishizumi H, Taniuchi I, Yamanashi Y, et al: Impaired proliferation of peripheral B cells and indication of autoimmune disease in lyn-deficient mice. *Immunity*, **3**: 549 – 560, 1995.
  - 17) Deng Y & Tsao BP: Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in the genomic era. *Nat Rev Rheumatol*, **6**: 683 – 692, 2010.
  - 18) Lamagna C, Hu Y, DeFranco AL & Lowell CA: B cell-specific loss of Lyn kinase leads to autoimmunity. *J Immunol*, **192**: 919 – 928, 2014.
  - 19) Lamagna C, Scapini P, van Ziffle JA, DeFranco AL & Lowell CA: Hyperactivated MyD88 signaling in dendritic cells, through specific deletion of Lyn kinase, causes severe autoimmunity and inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*, **110**: E3311 – 3320, 2013.
  - 20) Ganguly D, Haak S, Sisirak V & Reizis B: The role of dendritic cells in autoimmunity. *Nat Rev Immunol*, **13**: 566 – 577, 2013.
  - 21) Ban T, Sato GR, Nishiyama A, et al: Lyn Kinase Suppresses the Transcriptional Activity of IRF5 in the TLR-MyD88 Pathway to Restrain the Development of Autoimmunity. *Immunity*, **45**: 319 – 332, 2016.
  - 22) Feng D, Yang L, Bi X, Stone RC, Patel P & Barnes BJ: *Irf5*-deficient mice are protected from pristane-induced lupus via increased Th 2 cytokines and altered IgG class switching. *Eur J Immunol*, **42**: 1477 – 1487, 2012.
  - 23) Richez C, Yasuda K, Bonegio RG, et al: IFN regulatory factor 5 is required for disease development in the *FcγRIIB*<sup>-/-</sup> *Yaa* and *FcγRIIB*<sup>-/-</sup> mouse models of systemic lupus erythematosus. *J Immunol*, **184**: 796 – 806, 2010.
  - 24) Savitsky DA, Yanai H, Tamura T, Taniguchi T & Honda K: Contribution of IRF5 in B cells to the development of murine SLE-like disease through its transcriptional control of the IgG 2 a locus. *Proc Natl Acad Sci USA*, **107**: 10154 – 10159, 2010.
  - 25) Watkins AA, Yasuda K, Wilson GE, et al: IRF5 deficiency ameliorates lupus but promotes atherosclerosis and metabolic dysfunction in a mouse model of lupus-associated atherosclerosis. *J Immunol*, **194**: 1467 – 1479, 2015.
  - 26) Xu Y, Lee PY, Li Y, et al: Pleiotropic IFN-dependent and -independent effects of IRF5 on the pathogenesis of experimental lupus. *J Immunol*, **188**: 4113 – 4121, 2012.
  - 27) Yang L, Feng D, Bi X, Stone RC & Barnes BJ: Monocytes from *Irf5*<sup>-/-</sup> mice have an intrinsic defect in their response to pristane-induced lupus. *J Immunol*, **189**: 3741 – 3750, 2012.
  - 28) Yasuda K, Watkins AA, Kochar GS, et al: Interferon regulatory factor-5 deficiency ameliorates disease severity in the MRL/lpr mouse model of lupus in the absence of a mutation in DOCK 2. *PLoS One*, **9**: e103478, 2014.
  - 29) Andrews BS, Eisenberg RA, Theofilopoulos AN, et al: Spontaneous murine lupus-like syndromes. Clinical and immunopathological manifestations in several strains. *J Exp Med*, **148**: 1198 – 1215, 1978.
  - 30) Wofsy D, Hardy RR & Seaman WE: The proliferating cells in autoimmune MRL/lpr mice lack L 3 T4, an antigen on "helper" T cells that is involved in the response to class II major histocompatibility antigens. *J Immunol*, **132**: 2686 – 2689, 1984.
  - 31) Watanabe-Fukunaga R, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA & Nagata S: Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. *Nature*, **356**: 314 – 317, 1992.
  - 32) Nickerson KM, Christensen SR, Shupe J, et al: TLR 9 regulates TLR 7 - and MyD88-dependent autoantibody production and disease in a murine model of lupus. *J Immunol*, **184**: 1840 – 1848, 2010.
  - 33) Nickerson KM, Cullen JL, Kashgarian M & Shlomchik MJ: Exacerbated autoimmunity in the absence of TLR 9 in MRL.*Fas*<sup>lpr</sup> mice depends on *Ifnar 1*. *J Immunol*, **190**: 3889 – 3894, 2013.
  - 34) Aprahamian T, Rifkin I, Bonegio R, et al: Impaired clearance of apoptotic cells promotes synergy between atherogenesis and autoimmune disease. *J Exp Med*, **199**: 1121 – 1131, 2004.
  - 35) Takahashi T, Tanaka M, Brannan CI, et al: Generalized lymphoproliferative disease in mice, caused by a point mutation in the Fas ligand. *Cell*, **76**: 969 – 976, 1994.
  - 36) Bolland S & Ravetch JV: Spontaneous autoimmune disease in Fc γ RIIB-deficient mice results from strain-specific epistasis. *Immunity*, **13**: 277 – 285, 2000.
  - 37) Bolland S, Yim YS, Tus K, Wakeland EK & Ravetch JV: Genetic modifiers of systemic lupus erythematosus in *FcγRIIB*<sup>-/-</sup> mice. *J Exp Med*, **195**: 1167 – 1174, 2002.
  - 38) Fukuyama H, Nimmerjahn F & Ravetch JV: The inhibitory Fcγ receptor modulates autoimmunity by limiting the accumulation of immunoglobulin G+ anti-DNA

- plasma cells. *Nat Immunol*, **6**: 99 – 106, 2005.
- 39) Satoh M & Reeves WH: Induction of lupus-associated autoantibodies in BALB/c mice by intraperitoneal injection of pristane. *J Exp Med*, **180**: 2341 – 2346, 1994.
- 40) Satoh M, Richards HB, Shaheen VM, et al: Widespread susceptibility among inbred mouse strains to the induction of lupus autoantibodies by pristane. *Clin Exp Immunol*, **121**: 399 – 405, 2000.
- 41) Lee PY, Weinstein JS, Nacionales DC, et al: A novel type I IFN-producing cell subset in murine lupus. *J Immunol*, **180**: 5101 – 5108, 2008.

### Abstract

#### A NOVEL REGULATORY MECHANISM IN THE INNATE IMMUNE RESPONSE AND ITS RELEVANCE TO THE DEVELOPMENT OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Tatsuma BAN

*Department of Immunology, Yokohama City University Graduate School of Medicine*

The transcription factor interferon regulatory factor-5 (IRF5) plays an important role in innate immune responses, and also contributes to the pathogenesis of the autoimmune disease systemic lupus erythematosus (SLE). We identified Lyn as a selective IRF5 regulator that directly binds to IRF5 and inhibits its transcriptional activity. Furthermore, using Lyn-deficient mice, a murine model of SLE, we showed that hyperactivation of IRF5 causes the development of an SLE-like disease. Notably, all murine models examined to date, including the Lyn-deficient mice we analyzed, have shown that SLE-like diseases are ameliorated by IRF5 deficiency. Selective suppression of IRF5 activity or expression may thus provide novel therapeutics for the treatment of SLE.

