

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

全身性紅斑狼瘡的性荷爾蒙相關治療(3/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2314-B-002-146-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：國立臺灣大學醫學院臨床醫學研究所

計畫主持人：江伯倫

計畫參與人員：莊仁杰.詹家偉.陳偉莉

報告類型：完整報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 10 月 31 日

行政院國家科學委員會補助專題計畫成果報告

計畫名稱：全身性紅斑狼瘡的性荷爾蒙相關治療總結
報告

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC 89-2314-B-002-379

NSC 90-2314-B-002-118

NSC 91-2314-B-002-146

執行日期：民國八十九年八月一日至民國九十二年七月三十一日

計畫主持人：江伯倫 教授

計畫參與人員：莊仁杰先生、詹家偉先生及陳偉莉小姐

執行單位：台大醫學院臨床醫學研究所

中文摘要

摘要內容：

在本年度計畫中，由於我們已經發現 tamoxifen 能夠有效地抑制全身性紅斑狼瘡的發生。同時，也發現與細胞凋亡的核小體在自體免疫疾病的誘發上扮演著一個十分重要的角色。所以在今年的計畫中，我們利用純化的 nucleosome 與培養出來的樹突細胞一道培養，我們在樹突細胞培養六天後加入 nucleosomes，而在兩天後將這些樹突細胞與純化出來的 T 細胞一道培養，再測定其細胞增殖反應。我們研究的結果發現，這些經過培養的樹突細胞可以有效地刺激由 NZB/W F1 小鼠身上純化出來的自體反應性 T 細胞，但是不會刺激由正常的 DBA/NZW F1 小鼠身上所純化出來的 T 細胞。同時，這些 T 細胞的增殖反應會受到第二型 MHC 抗體的抑制。我們更進一步合成與這些 nucleosomes 相關的 peptides，利用這些 peptides 來進行 T 細胞抗原決定位的分析。我們分別合成了 histone 蛋白的 H2a, H2b, H3 和 H4 的 peptides，也將這些蛋白的主要抗原決定位找出來，同時，我們利用這些 peptides 進一步來進行治療，結果發現其中 H3 的一段 peptide 可以得到相當好的治療，能夠有效地抑制抗 DNA 抗體的產生，同時可以降低蛋白尿的發生，而有效地延長紅斑狼瘡小鼠的生命。

關鍵詞：tamoxifen，核小體，全身性紅斑狼瘡

Abstract

Systemic lupus erythematosus (SLE) is characterized by the existence of a heterogeneous group of autoantibodies directed against nuclear intact structures, such as nucleosomes. The most prominent are those against dsDNA and histones. The majority of these autoantibodies are of the IgG isotype and show affinity maturation, both of which are known hallmarks of T cell help. Several evidences suggest that the nucleosome would be a major candidate autoantigen in SLE. Identification of the critical Th cell autoepitopes in nucleosomes will help in understanding how the pathogenic Th cells of lupus emerge, and potentially lead to the development of peptide-based tolerogenic therapy. In the present study, we have examined the self-T cell responses against nucleosome and further identified the T cell epitope(s) of nucleosome in NZB x NZW F1 (BWF1) mice using bone marrow-derived dendritic cells (BM-DCs) as the APCs. Several potential auto-T cell epitopes of histone proteins (H2A, H2B, H3 and H4) have been identified. The cytokine profile of the nucleosome-specific T cells of BWF1 mice was skewed toward the Th1 phenotype. In addition, intradermal immunization of BWF1 mice with the H3₁₁₁₋₁₃₀ peptide not only suppressed the level of anti-ds and ssDNA IgG, but also significantly delayed the progress of glomerulonephritis in lupus-prone BWF1 mice. Our results presented here will help in understanding how the pathogenic autoimmune responses develop in the spontaneous SLE, and potentially open the way to T cell-based immunotherapy for lupus.

Key words: Tamoxifen, systemic lupus erythematosus,

計畫目標：由前兩年得到的研究結果，再進一步研究是否能夠找出紅斑小鼠的 T 細胞抗原決定位。

成果報告：

這是三年計畫中的第三年計畫，我們發現經過 tamoxifen 治療的 NZB/W F1 小鼠，的確可以達到改善病情的效果。

1. 我們目前利用 tamoxifen 來分別治療狼瘡小鼠，NZB/W F1 和 MRL.lpr/lpr 小鼠，雖然機轉可能有些不同，但是都可以達到改善疾病的效果。我們在 NZB/W F1 小鼠的治療效果發現 tamoxifen 具有抗發炎的效果，能夠降低一些發炎性細胞激素的分泌。相對的，tamoxifen 在 MRL.lpr/lpr 小鼠的治療效果反而是降低 CD4-CD8-的 T 細胞，而達到改善的效果。相關的論文如下：

Wu WM et al: Tamoxifen decreases renal inflammation and alleviates disease severity in autoimmune NZB/W F1 mice. *Scandinavian Journal of Immunology* 2000; 52:393-400.

Wu, WM et al: Tamoxifen alleviates disease severity and decreases double negative T cells in autoimmune MRL.lpr/lpr mice. *Immunology* 2000; 100: 110-118.

2. 在第二年及第三年的計畫中，我們在研究 MRL.lpr/lpr 小鼠的模式時同時也發現，由 MRL.lpr/lpr 小鼠分離出的 B 細胞會表現較高量的 CD40L。這些由 MRL.lpr/lpr 小鼠分離出的 B 細胞有較高的細胞增殖反應。而將這些小鼠的 B 細胞分離出加以培養時，會分泌較高量的 IgM。而在這些 B 細胞培養時加入 tamoxifen，能夠抑制這些自發性的 IgM 分泌。

3. 我們在第三年的研究中，又利用目前已經培養出的樹突細胞來進行 T 細胞的抗原決定位。所以我們利用樹突細胞與 nucleosome 一起培養，已經找出 histone 的 T 細胞抗原決定位。同時，我們又利用此一 T 細胞抗原決定位的 peptide 來進行紅斑性狼瘡小鼠的治療。結果發現此一 peptide 可以有效地治療紅斑狼瘡小鼠，能夠降低抗 DNA 抗體的製造和延長生命期。

表一 . 由 MRL.lpr/lpr 小鼠分離出的活化 B 細胞會表現出較高量的 CD40L。

圖一 . 已經活化的 B 細胞 (>45%) 會有較高的細胞增殖反應。

圖二 . ML.lpr/lpr 小鼠會自發性地分泌較高量的 IgM 抗體 , 而此一現象在正常小鼠則不會出現。

圖三 . 已經受到活化的 B 細胞在 LPS 及自發的情形下都會分泌較高量的 IgM 抗體。