

審査の結果の要旨

氏名 石上 (前田) 淳子

本研究は混合性結合組織病 (MCTD)の疾患予後を規定する重要な合併症である間質性肺炎 (ILD) において、新規治療標的の創出を長期的な目標とし、病態形成に重要な役割を果たしている新たな系を明らかにするため、MCTD 患者と健常人の末梢血から 26 種の免疫担当細胞を採取し、次世代シーケンサー (NGS) を利用して RNA-Seq による細胞種特異的なトランスクリプトームの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 末梢血中の免疫担当細胞の存在比率について ILD を伴う MCTD と ILD を伴わない MCTD、健常人を比較したところ ILD を伴う MCTD のみで変化を示すサブセットは認めなかった。一方で、サブセット毎に重み付け遺伝子発現ネットワーク解析である WGCNA を行って発現に関連のある遺伝子同士のグループ (モジュール)を作成し、全サブセットのモジュールと臨床データを統合してネットワーク解析を行った結果、MCTD に伴う ILD (MCTD-ILD)と関連する 65 個のモジュールを同定し、これらのサブセットの量的な変化ではなく質的な変化が MCTD-ILD の発症機序に関わっている可能性が示唆された。
2. CD25 陽性細胞のうち、Fraction III は制御性 T 細胞 (Treg)のマスター制御遺伝子である *FOXP3* および *IL2RA* によりコードされる Treg の細胞表面マーカーである CD25 の発現がやや低く、炎症性サイトカインを産生する非制御性 T 細胞 (non-Treg)として知られている。MCTD-ILD の気管支肺胞洗浄液中での増加も報告されているが、MCTD-ILD との関連を同定した 65 個のモジュールのうち Fraction III の中で最も MCTD-ILD と関連が強いモジュールには Treg のマスター制御遺伝子である *FOXP3* が含まれ、病態に関わる重要な遺伝子群を含むことが示唆された。
3. MCTD-ILD と関連の強い Fraction III のモジュールに含まれる遺伝子群に、抗線維化作用薬 nintedanib の治療標的となる線維芽細胞増殖因子受容体 (FGFR) pathway に関連した *FGFRL1* 遺伝子が含まれた。Fraction III における *FGFRL1* 発現は ILD を伴う MCTD と ILD を伴わない MCTD、健常人の比較で有意差は無いものの、MCTD-ILD 群で増加傾向を認めた。また、*FOXP3*、*IL2RA* の発現と負に相関しており、*FGFRL1* 発現 non-Treg Fraction III の非制御的な形質に関わり、MCTD-ILD の発症を誘導する可能性が示唆された。
4. ブレオマイシン (BLM)誘導間質性肺炎モデルマウスを用いて検証実験を行った結果、BLM 投与群でコントロール群に比較し肺局所における CD4⁺Fgfr1⁺T 細胞が有意に増

加していた。更に *Fgfr1* 発現 $CD4^+$ T 細胞における *Tgfb1* の発現亢進が認められ、BLM における肺線維化病態において中心的役割を果たす TGF- β 1 の産生が、BLM により誘導された $CD4^+$ *Fgfr1* $^+$ T 細胞により担われていることが示唆された。

以上、本論文は末梢血免疫担当サブセット 26 種類の RNA-Seq にて遺伝子発現変動を網羅的に解析し、ILD 発症と関連が示唆されている $CD4^+$ $CD25^+$ non-Treg Fraction III に特異的に発現する *FGFRL1* 遺伝子の同定に成功し、BLM 誘導 ILD モデルマウスにおいて向線維化サイトカイン TGF- β 1 を高発現する $CD4^+$ *Fgfr1* $^+$ T 細胞が肺局所において誘導されるという知見を得た。これまでに $CD4^+$ T 細胞における *FGFRL1* 発現に関する報告は無く、MCTD を含めた ILD において新規治療法開発の可能性を内包していると考えられる。よって本論文は博士 (医学) の学位請求論文として合格と認められる。