

審査の結果の要旨

氏名 永渕泰雄

本研究は関節リウマチの遺伝因子と免疫学的異常、臨床像の関連を明らかにするため、82名の関節リウマチ患者の遺伝因子 shared epitope の有無と末梢血単核球免疫細胞タイピング結果と臨床像を併せて検討することで、関節リウマチ患者の免疫学的変化の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 71名の健常人と82名の関節リウマチ患者末梢血との比較では、CD4陽性T細胞サブセットのうちnaive T細胞比率が増加しており、Th1、Th17、Tfh 更にTreg比率も有意に減少していた。B細胞サブセット比率の広範な変化とCD14brightCD16+単球の増加及び骨髄系樹状細胞の減少も認められた。個々のサブセット比率のうち、いずれも単独で活動性指標であるDAS28もしくは身体機能評価指標であるHAQと有意な相関を示すものは認めなかった。
2. shared epitope陽性関節リウマチ患者ではmemory T細胞比率が有意に増加しており、抗CCP抗体値とmemory T細胞比率には正の相関が認められた。T細胞のHLA-DR陽性率もまた抗CCP抗体値との正の相関を示し、T細胞の活性化が関節リウマチの抗CCP抗体産生において役割を果たすことが示唆された。shared epitope陽性関節リウマチにおいてのみ、抗原提示細胞であるB細胞及び単球上のHLA-DR発現量上昇を認め、抗原提示を効率化していると考えられた。
3. 関節リウマチ関節滑液のCD4陽性T細胞を6例で検討したところ、96.7%がCD45RA陰性、92.6%がCXCR4陽性であり、これらは関節滑液CD4陽性T細胞の特徴と考えられた。24例の関節リウマチ患者と26例の健常人で比較したところ、関節リウマチ患者末梢血のCD4陽性T細胞のすべてのサブセットでCXCR4の発現上昇を認めた。更に関節リウマチ患者のmemory T細胞のCXCR4発現がDAS28と最も強い正の相関を示し、抗CCP抗体値、HAQとも正の相関を示した。したがって末梢血CD4陽性T細胞の中でも特にmemory T細胞のCXCR4発現上昇が疾患活動性や抗CCP抗体と関わることが示唆された。
4. 免疫細胞タイピングにおけるサブセット分類の妥当性を検討するため、1名の健常人と3名の関節リウマチ患者において、Naive、Th1、Th2、Th17、Th17.1、Tfh、CD25+の7サブセットのRNA-sequencingによる発現解析を行った。主成分分析による比較では、各サブセットはそれぞれ発現パターンが似通っており、第一主成分によってNaiveサブセットはそれ以外の6サブセットと区別され、第二主成分によってCD25+サブセットはエフェクターサブセットに相当するTh1、Th2、Th17、Th17.1、Tfhと

区別された。各サブセットにはそれぞれ特有の mRNA 発現パターンが存在し「サブセット」として妥当であることが示された。

5. RNA-sequencing による発現解析において、マスター転写因子とされる TBX21、GATA3、RORC、BCL6、FOXP3 やサイトカイン産生などの重要遺伝子の発現から各サブセットを評価すると、表面マーカーは妥当であっても重要遺伝子の発現は必ずしも均一ではないことが示された。免疫細胞タイピングにおいて病態に関与するサブセット候補であった Th1, Th17, Tfh, Treg と疾患活動性には明確な相関を認めなかったが、その一つの背景として免疫細胞タイピングによる分類の不均一性に関わる可能性が示された。

以上、本論文は CD4 陽性 T 細胞を介した獲得免疫反応が実際に shared epitope 陽性関節リウマチで活性化し、抗 CCP 抗体産生に関わることを示唆した。更に、shared epitope 陽性関節リウマチ患者では、CD45 陰性 CD4 陽性 T 細胞に CXCR4 の発現上昇が起こり、関節への遊走能を高め、関節局所で抗 CCP 抗体産生を促しているという新たな病態モデルを提示した。本研究によって、関節リウマチの免疫学的な解明と、新規治療の開発にも結び付く可能性があるものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。