

氏 名 田中 勇希

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博甲第 7861 号

学位授与年月 平成 28 年 3 月 25 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

審 査 研 究 科 人間総合科学研究科

学位論文題目 Human cartilage glycoprotein-39 (HC gp-39) is highly expressed on Foxp3⁺ Treg cells, and inhibits the proliferation and cytokine production of antigen-specific Th1 and Th17 cells in GPI-induced arthritis model. (Human cartilage glycoprotein-39 (HC gp-39)は GPI 誘導関節炎モデルにおいて Foxp3⁺ Treg 細胞に高発現し、抗原特異的 Th1 および Th17 の増殖およびサイトカイン産生を抑制する)

主 査 筑波大学教授 博士 (医学) 渋谷 彰

副 査 筑波大学講師 博士 (医学) 三島 初

副 査 筑波大学講師 博士 (医学) 古田 淳一

副 査 筑波大学講師 博士 (医学) 矢藤 繁

論文の内容の要旨

(目的)

関節リウマチは関節滑膜を病変の首座とする慢性炎症性自己免疫疾患である。関節滑膜には CD4⁺ T 細胞が多く浸潤し、一部はクローナルに増殖している点から、病態形成に活性化 CD4⁺ T 細胞が重要であると考えられている。活性化 CD4⁺ T 細胞には複数のサブセットが存在し、関節リウマチでは IFN γ を産生する Th1 および IL-17 産生を主体とする Th17 サブセットが、マクロファージや好中球などからの炎症性サイトカイン (IL-6, TNF α など) の産生、B 細胞からの自己抗体の産生を誘導し、炎症や組織破壊へと進行していくと考えられている。さらに最近では、制御性 T 細胞 (Treg) が RA 病態の抑制に重要であることがいわれている。Glucose-6-phosphate isomerase (GPI) は解糖系の酵素であり、関節炎を自然発症する K/BxN マウスから同定された自己抗原である。この GPI を DBA/1 マウスに免疫することにより関節炎が誘導される GPI 誘導関節炎モデルが確立されている。本モデルでは関節炎の発症に T 細胞が必須であり、ヒト同様、Th1 および Th17 が病態形成に寄与している。また、Treg が GPI 誘導関節炎の抑制に関与することも明らかになった。このように関節リウマチと GPI 誘導関節炎モデルは病態の発症に CD4⁺ T 細胞が重要であるという共通点を有することから、本モデルは実際の RA 病態に近似すると考えられる。近年、炎症性サイトカインを標的とした生物学的製剤の開発により治療は大きく進歩したが、治療効果に乏しい患者は少なくない。このため新規治療法の開発は必至である。そのため、本研究では

関節炎病態の起点と考えられる活性化 CD4⁺ T 細胞に強発現する分子に焦点を当て、機能解析を行うことにより、特異的かつ根治的治療の開発を目指した。

(対象と方法)

- (1) DBA/1 マウス (関節炎感受性マウス) および C57BL/6 マウス (関節炎抵抗性マウス) に GPI を免疫、7 日目 (関節炎発症早期) に脾臓を採取した。その後 CD4⁺ T 細胞を単離し、GeneChip 解析にて強発現分子を比較検討した。
- (2) GPI 免疫後のマウスから経時的に血清を採取し、血清中 HC gp-39 を ELISA 法にて測定した。
- (3) 関節炎マウスより採取した CD4⁺ T 細胞での HC gp-39 mRNA および蛋白発現をそれぞれ定量 PCR およびウェスタンブロッティングにて経時的に解析した。
- (4) 各 T 細胞サブセット (Th1, Th17, Treg) における HC gp-39 の発現を検討した。
- (5) HC gp-39 の機能を明らかにするため、リコンビナント HC gp-39 を用いて抗原特異的 CD4⁺ T 細胞の増殖抑制能を検討した。
- (6) (5) と同様にリコンビナント HC gp-39 を用いて、HC gp-39 が IFN γ および IL-17 産生に与える影響を解析した。

(結果)

- (1) 関節炎発症早期 CD4⁺ T 細胞に強発現する分子の一つとして HC gp-39 を同定した。
- (2) GPI 免疫後、関節炎発症早期である day7 において血清中 HC gp-39 は増加を認めた。
- (3) HC gp-39 は CD4⁺ T 細胞においても (1) と同様に day7 で増加を認めた。
- (4) HC gp-39 は抑制性の CD4⁺ T 細胞である Treg に高発現を認めた。
- (5) リコンビナント HC gp-39 の添加により抗原特異的 CD4⁺ T 細胞の増殖が抑制された。
- (6) リコンビナント HC gp-39 の添加により抗原特異的 CD4⁺ T 細胞からの IFN γ および IL-17 産生が抑制された。

(考察)

関節炎マウスにおいて HC gp-39 は関節炎発症早期の CD4⁺ T 細胞に強発現を認めた。HC gp-39 は T 細胞サブセットの中でも Treg に著明な発現を認め、抗原特異的 CD4⁺ T 細胞の増殖を抑制した。また、抗原特異的 T 細胞からの IFN γ および IL-17 産生を抑制することも明らかとなった。先行研究より、CD25⁺ Treg 細胞を除去することで GPI 誘導関節炎の遷延が認められることが報告されている。このことから、GPI 誘導関節炎の抑制は Treg から産生される HC gp-39 が関与している可能性が考えられた。

審査の結果の要旨

(批評)

本論文は HC gp-39 が GPI 誘導関節炎モデルにおける抗原特異的 Th1 および Th17 の増殖およびサイトカイン産生を抑制することを世界で初めて明らかにした論文で、きわめて質の高い研究成果である。

平成 28 年 1 月 6 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。