

氏名（本籍）	安部 沙織		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 9931 号		
学位授与年月	令和 3 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	M3 muscarinic acetylcholine receptor reactive Th17 cells in primary Sjögren's syndrome (シェーグレン症候群における M3 ムスカリン作動性アセチルコリン受容体反応性 Th17 細胞の解析)		
主査	筑波大学教授	医学博士	山崎 正志
副査	筑波大学准教授	医学博士	坂本 透
副査	筑波大学講師	博士（医学）	栗田 尚樹
副査	筑波大学助教	博士（医学）	鍋倉 宰

論文の内容の要旨

安部沙織氏の博士学位論文は、シェーグレン症候群（Sjögren's syndrome : SS）における M3 ムスカリン作動性アセチルコリン受容体(M3 Muscarinic acetylcholine receptor: M3R)反応性 17 型ヘルパー T 細胞(Th17 細胞)の検出とその臨床的意義の解析を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

目的

SS は、唾液腺、涙腺の慢性炎症を特徴とする原因不明の自己免疫疾患であり、国の難病に指定されている。SS の病因や発症機序は完全に解明されていないが、免疫組織学的な解析により唾液腺炎の炎症初期に CD4 陽性 T 細胞の浸潤を優位に認めることが明らかとなっており、その T 細胞サブセットの中でも 1 型ヘルパー T 細胞(Th1 細胞)に加え、Th17 細胞の病態への関与が近年報告されている。一方、唾液腺浸潤 T 細胞の T 細胞受容体 (T cell receptors : TCR) 解析により、特定の T 細胞クローンの増加が示され、自己抗原特異的な T 細胞の病態への関与が示唆されている。そのような抗原特異的 T 細胞が認識する自己抗原の候補の一つとして、M3R が報告されており、これまでに抗 M3R 抗体の存在や、M3R 反応性 Th1 細胞の存在が報告されている。

これらの先行研究の結果から、M3R 反応性 Th17 細胞の存在、そして病態への関与が示唆されているが、これまでにその存在を明らかにした報告はない。そのため、著者は本研究において、SS 患者における末梢血中 M3R 反応性 Th17 細胞の検出とその臨床的意義の解析を目的とし、研究を行なった。

方法

目的を明らかにするため、著者は以下の実験を行なっている。

- 1) HLA-DRB1 と結合能が高い M3R ペプチドを選択し、SS10 例、健常人 10 例、IgG 4 関連疾患 5 例の末梢血単核球(PBMC)を刺激培養後、ELISpot 法を用いて IL-17 産生細胞を検出している。

- 2) 刺激に用いた M3R 混合ペプチドを 1 種類毎に分けて 1)と同様の検討を行い、T 細胞エピトープを同定している。
- 3) 末梢血中 CD4⁺ T 細胞と自己末梢血単球由来誘導樹状細胞を、2) で同定された M3R の T 細胞エピトープ存在下で共培養し、M3R 反応性 Th17 細胞を検出している。
- 4) PBMC を M3R の T 細胞エピトープで 8 日間刺激培養し、IFN- γ ・IL-17 の産生能を評価している。
- 5) 末梢血中 M3R 反応性 Th17 細胞と唾液腺浸潤 T 細胞間での TCR レパトワ重複を行なっている。
- 6) M3R 反応性 Th17 細胞陽性患者と陰性患者間での臨床像の比較を行なっている。

結果

- 1) M3R 反応性 IL-17 産生細胞の陽性率は、SS で 50%(5/10 例)であり、健常人 (0/10 例) と IgG4 関連疾患 (0/5 例) では 0%であった。
- 2) 1)の陽性 SS5 例において、M3R ペプチド (AA76-95) が T 細胞エピトープであった。
- 3) 1)の陽性 SS5 例において、末梢血中 M3R 反応性 Th17 細胞の存在を確認した。
- 4) 1)の陽性 SS3 例において、M3R 刺激後 IL-17⁺CD4⁺ T 細胞と IL-17⁺IFN- γ ⁺CD4⁺ T 細胞の有意な増加を認めた。
- 5) 1)の陽性 SS1 例で、唾液腺浸潤 T 細胞と末梢血中 M3R 反応性 Th17 細胞間で約 10%の TCR レパトワ重複を認めた。
- 6) M3R 反応性 Th17 細胞陽性患者は陰性患者と比較し、M3R 第 2、第 3 細胞外領域に対する抗 M3R 抗体価が高く、疾患活動性が高い傾向にあり、HLA-DQA1 01:02 を有する頻度が有意に高かった。

考察

著者は、SS 患者末梢血中 M3R 反応性 Th17 細胞の存在を明らかにし、その T 細胞エピトープの特定も行っている。また IL-17 単独産生細胞のみでなく、IFN- γ と IL-17 の両者を産生する Th17 細胞サブセットが存在することも明らかにしている。さらに炎症局所である唾液腺においても末梢血中で同定された M3R 反応性 Th17 細胞と同一の T 細胞クローンが存在することを示し、臨床的意義として疾患活動性と抗 M3R 抗体との関連性を示している。

結論

著者の研究により、SS における末梢血中抗原特異的 Th17 細胞の存在が示され、その臨床的意義が明らかとなった。これらの知見は、SS の病態を理解する上で重要な新規知見であり、将来的に抗原特異的 T 細胞を標的とした新たな治療戦略の可能性を示した報告として重要であると考えられる。

審査の結果の要旨

(批評)

著者は、SS 患者末梢血を用いて M3R 反応性 Th17 細胞の検出を行い、その機能解析と炎症局所の唾液腺の解析も行うことで、M3R 反応性 Th17 細胞の病的意義を明らかにしている。これらの解析は、検体収集から始まり、TCR レパトワ解析以外著者が一人で全て行なったものである。また本研究の成果は、SS における抗原特異的 Th17 細胞の病的意義を理解する上で重要な知見として高く評価される。

令和 2 年 12 月 24 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。