

氏名	佐藤 泉		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 9561 号		
学位授与年月	令和 2 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	OX40 の関節炎自己抗体シアル化の制御における潜在的意義		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	渋谷 彰
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	三島 初
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	臼井 丈一
副査	筑波大学講師	博士（医学）	栗田 尚樹

## 論文の内容の要旨

佐藤 泉氏の博士学位論文は、自己免疫性関節炎における自己抗体シアル酸付加の制御機構を解析したものである。その要旨は以下のとおりである。

**目的：** 関節リウマチ（Rheumatoid arthritis: RA）において、疾患特異的自己抗体である抗 CCP 抗体（anti-cyclic citrullinated peptide antibody : ACPA）は発症に先立って患者末梢血中に出現し、疫学研究から予後不良因子として同定されている。近年 RA 患者において、IgG に付加している糖鎖であるシアル酸が ACPA 特異的に脱離することで受容体との結合親和性が亢進し、関節炎を悪化させている可能性が報告された。著者は、自己免疫性関節炎における自己抗体シアル酸付加の制御機構の解明を本研究の目的とした。

**対象と方法：** はじめに、著者は、自己免疫性関節炎モデルである Glucose-6-phosphate isomerase (GPI) 誘導関節炎 (GPI induced arthritis: GIA) マウス鼠経リンパ節中の濾胞性ヘルパーT細胞 (follicular helper T細胞: Tfh細胞) の経時的変化、Tfh細胞からのサイトカイン産生及び表面分子発現を検討した。次に、GIA マウス鼠経リンパ節中の plasmablast の経時的変化を検討した。Tfh細胞とナイーブB細胞の共培養を行い、Tfh細胞のB細胞分化、抗 GPI 抗体産生における影響を検討した。関節炎発症期と改善期の抗 GPI 抗体のシアル酸含有量を質量分析で検討し、また両抗体で樹状細胞 (dendritic cell: DC) を刺激し、DCからの炎症性サイトカイン、ケモカイン産生を比較した。さらに、Tfh細胞との共培養による plasmablast 中シアル酸付加酵素 (St6gal1) の発現変化、関節炎発症期の Tfh細胞で高発現している共刺激分子を *in vivo*、*in vitro* で阻害し抗体のシアル酸量、関節炎への影響、そして未治療 RA 患者末梢血の Tfh細胞と ACPA 抗体価、plasmablast 中 St6gal1 発現の相関を検討した。

**結果：** 本論文で、著者は以下の結果を得た。

1. Tfh 細胞、特に IL-17 産生 Tfh (Tfh17) 細胞は関節炎発症期に増加し、共刺激分子である OX40 を高発現していた。
2. Plasmablast は Tfh 細胞同様、関節炎発症期に最も増加していた。Tfh 細胞との共培養によりナイーブ B 細胞の plasmablast への分化、抗 GPI 抗体の産生が亢進した。
3. 関節炎発症期の抗 GPI 抗体は改善期抗 GPI 抗体より有意にシアル酸が脱離していた。DC からの TNF  $\alpha$ 、CXCL1 産生は改善期抗体に比較し発症期抗体刺激で亢進した。
4. Tfh 細胞との共培養で plasmablast 中 St6gal1 発現は低下し、OX40 阻害でその発現は回復した。 *In vivo* の OX40 阻害により抗 GPI 抗体のシアル酸含有量は回復し、GIA は減弱した。
5. 未治療 RA 末梢血中で Tfh17 細胞は増加しており ACPA 抗体価と正の相関、plasmablast 中 St6gal1 発現と有意な負の相関を認めた。Tfh17 細胞は OX40 を高発現していた。

**考察:** GIA において、Tfh17 細胞を含む Tfh 細胞は B 細胞分化、自己抗体産生を亢進させるのみならず、抗体のシアル酸付加を負に制御していると考えられる。その制御は OX40-OX40 ligand 経路を介しており、経路阻害により抗体のシアル酸量増加と関節炎の改善が得られた。また RA 患者の末梢血中でも OX40 を高発現している Tfh17 細胞が増加しており、末梢血 plasmablast 中の St6gal1 発現と負の相関があったことから、マウスモデルのみならず RA においても同様の機序があったことが推察される。シアル酸脱離をはじめとする抗体の糖鎖修飾変化は自己抗体特異的であることが報告されている。同経路を標的とした治療は従来の RA 治療と異なり、汎免疫抑制に伴う易感染性を引き起こさない新規治療となる可能性がある。

**結論:** 上記の結果から、著者は自己免疫性関節炎において、Tfh 細胞は OX40 を介して自己抗体のシアル酸付加を負に制御することで関節炎惹起に関与している可能性を示唆した。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

本論文は、自己免疫性関節炎において、Tfh17 細胞が OX40-OX40 ligand 経路を介して自己抗体のシアル酸付加を負に制御していること、また OX40-OX40 ligand 経路を阻害することにより抗体のシアル酸量増加と関節炎の改善が得られたことを明らかにし、同経路を標的とした慢性関節リウマチに対するまったく新しい治療法の可能性を世界で初めて示した論文で、きわめて質の高い研究成果である。

令和 2 年 1 月 10 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。