

表 2 7 臓器梗塞の内訳

死因	全体		PAPS		SAPS	
虚血性心疾患	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
脳虚血疾患	3	42.9%	1	100.0%	2	33.3%
肺梗塞	2	28.6%	0	0.0%	2	33.3%
腎梗塞	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
その他	2	28.6%	0	0.0%	2	33.3%
臓器梗塞全体	7	100.0%	1	100.0%	6	100.0%

表 2 8 罹病期間の予後別比較

	治癒、軽快、不変	悪化、死亡	p value
平均±標準偏差	7.27±6.41	13.07±8.67	p<0.0001
範囲 (症例数)	0 ~ 38 (n= 353)	0 ~ 33 (n= 30)	

表 2 9 年齢の予後別比較

	治癒、軽快、不変	悪化、死亡	p value
平均±標準偏差	40.5±13.4	49.7±16.2	p<0.0001
範囲 (症例数)	7 ~ 87 (n= 353)	14 ~ 97 (n= 30)	

表 3 0 動脈血拴の有無で有意差のあった項目

検査異常値	全体			動脈血拴あり			動脈血拴なし			あり vs なし p value
	陽性数	回答総数	陽性率	陽性数	回答総数	陽性率	陽性数	回答総数	陽性率	
血小板減少	251	548	45.8%	131	246	53.3%	120	302	39.7%	p<0.005
LDH高値	171	505	33.9%	98	243	40.3%	73	262	27.9%	p<0.005
血清IgM高値	82	420	19.5%	29	202	14.4%	53	218	24.3%	p<0.05
尿蛋白陽性	185	516	35.9%	108	236	45.8%	77	280	27.5%	p<0.0001
尿潜血陽性	125	499	25.1%	70	233	30.0%	55	266	20.7%	p<0.05
直接クームス試験陽性	59	228	25.9%	20	107	18.7%	39	121	32.2%	p<0.05

表 3 1 動脈血拴の有無で有意差のあった項目の静脈血拴の有無での比較

検査異常値	全体			静脈血拴あり			静脈血拴なし			あり vs なし p value
	陽性数	回答総数	陽性率	陽性数	回答総数	陽性率	陽性数	回答総数	陽性率	
血小板減少	251	547	45.9%	92	175	52.6%	159	372	42.7%	p<0.05
LDH高値	169	507	33.3%	81	168	48.2%	88	339	26.0%	p<0.0001
血清IgM高値	87	423	20.6%	27	141	19.1%	60	282	21.3%	ND
尿蛋白陽性	183	514	35.6%	68	163	41.7%	115	351	32.8%	p<0.05
尿潜血陽性	127	498	25.5%	50	157	31.8%	77	341	22.6%	p<0.05
直接クームス試験陽性	60	230	26.1%	27	77	35.1%	33	153	21.6%	p<0.05

表 3 2 動脈血拴の有無で有意差のあった項目の習慣流産・子宮内胎児死亡での比較

検査異常値	全体			習慣流産・子宮内胎児死亡あり			習慣流産・子宮内胎児死亡なし			あり vs なし p value
	陽性数	回答総数	陽性率	陽性数	回答総数	陽性率	陽性数	回答総数	陽性率	
血小板減少	210	466	45.1%	59	182	32.4%	151	284	53.2%	p<0.0001
LDH高値	136	425	32.0%	33	151	21.9%	103	274	37.6%	p<0.001
血清IgM高値	75	357	21.0%	34	122	27.9%	41	235	17.4%	p<0.05
尿蛋白陽性	149	429	34.7%	34	158	21.5%	115	271	42.4%	p<0.0001
尿潜血陽性	109	413	26.4%	25	147	17.0%	84	266	31.6%	p<0.005
直接クームス試験陽性	54	201	26.9%	16	73	21.9%	38	128	29.7%	ND

表33 動脈血栓・静脈血栓と血小板減少の有無の比率の関係

	血小板減少なし		血小板減少あり		合計	
動脈血栓なし、静脈血栓なし	132	62.3%	80	37.7%	212	100.0%
動脈血栓なし、静脈血栓あり	48	55.2%	39	44.8%	87	100.0%
動脈血栓あり、静脈血栓なし	87	50.6%	85	49.4%	172	100.0%
動脈血栓あり、静脈血栓あり	28	37.8%	46	62.2%	74	100.0%
全体	295	54.1%	250	45.9%	545	100.0%

表34 PAPSの症例における尿蛋白陽性、尿潜血陽性、血小板減少の有無と動・静脈血栓症及び習慣流産・子宮内胎児死亡発症頻度の比較

		動脈血栓症			静脈血栓症			習慣流産・子宮内胎児死亡		
		発症数/総数	発症率*1	p value*2	発症数/総数	発症率*1	p value*2	発症数/総数	発症率*1	p value*2
尿蛋白陽性	あり	30/42	71.4%	p<0.0001	13/41	31.7%	ND	10/30	33.3%	p<0.05
	なし	67/181	37.0%		50/181	27.6%		84/151	55.6%	
尿潜血陽性	あり	24/33	72.7%	p<0.0005	15/34	44.1%	p<0.05	11/26	42.3%	ND
	なし	73/184	39.7%		47/183	25.7%		78/149	52.3%	
血小板減少	あり	39/74	52.7%	p<0.05	28/73	38.4%	p<0.05	26/61	42.6%	p<0.05
	なし	63/166	38.0%		42/167	25.2%		85/142	59.9%	
血清LDH高値	あり	30/51	58.8%	ND	24/49	49.0%	p<0.005	13/36	36.1%	ND
	なし	69/159	43.4%		43/164	26.2%		72/139	51.8%	
血清IgM高値	あり	11/35	31.4%	ND	12/36	33.3%	ND	21/30	70.0%	p<0.05
	なし	65/130	50.0%		39/133	29.3%		48/107	44.9%	
直接クームス陽性	あり	3/10	30.0%	ND	8/10	80.0%	p<0.0005	5/7	71.4%	ND
	なし	37/76	48.7%		15/78	19.2%		38/67	56.7%	

*1：発症率は尿蛋白あるいは尿潜血の陽性あるいは陰性者のうちの発症比率

*2：p value は尿蛋白あるいは尿潜血の陽・陰性と各症状の有無を χ^2 検定で検定した結果

抗リン脂質抗体症候群全国疫学調査の基本的疫学像

松本 美富士（豊川市民病院・内科）
稲葉 裕（順天堂大学医学部・衛生学）
中山 登志子、玉腰 暁子、大野 良之（名古屋大学医学部・予防医学）
宮坂 信之（東京医科歯科大学医学部・第一内科）
小池 隆夫（北海道大学医学部・第二内科）
小林 茂人、橋本 博史（順天堂大学医学部・膠原病内科）

【研究要旨】本邦を含めて疫学資料の乏しい抗リン脂質抗体症候群(APS)の疫学像を明らかにすることを目的に全国疫学調査を行った。全病院を対象に厚生省難病の疫学調査研究班によって作成された手法にしたがって実施した。1997年1年間のAPSの受療推計数は3,700人、人口10万人あたり受療者数は3.04人、男女比=1:6.4、平均年齢は40.8歳、好発年齢は女性では20歳代前半であった。病型では原発性と続発性(ほとんどがSLE)がほぼ同数、家族歴に膠原病、血栓症が8.3%、5.8%にみられ、既往歴に習慣流産が36.4%に認められ、経口避妊薬の服用歴が0.5%のみであった。最近1年間の状況は通院が66.2%、入院/通院が26.4%、入院がわずか3.4%、死亡は3.4%であった。死因は臓器梗塞、DIC、脳出血であった。また、入院回数は0回、1回、2回がそれぞれ16.6%、35.0%、23.8%であった。

KEY WORD = 抗リン脂質抗体症候群、疫学像、習慣流産、全身性エリテマトーデス

Nationwide epidemiological survey of primary and secondary anti-phospholipid syndrome in Japan

Matsumoto Yoshifuji (Internal Medicine, Toyokawa City Hospital), Nakayama Toshiko, Tamakoshi Akiko, Ohno Yoshiyuki (Department of Preventive Medicine, Nagoya University, School of Medicine), Inaba Yutaka (Department of Epidemiology and Environmental Health, Juntendo University School of Medicine), Kobayashi Shigeto, Hashimoto Hiroshi (Department of Rheumatology and Internal Medicine, Juntendo University School of Medicine), Koike Takao (The second Department of Internal Medicine, Hokkaido University School of Medicine), Miyasaka Nobuyuki (The first Department of Internal Medicine, Tokyo Medical and Dental University Medical School)

A nationwide epidemiological survey was conducted in 1998 to estimate annual numbers of patients treated for anti-phospholipid syndrome (APS) in Japan, and to describe the clinico-epidemiological features of the patients. The survey consisted of two questionnaires distributed to the relevant departments of hospitals throughout Japan. The first questionnaire inquired the number of the patients treated in 1997. The second one detailed the clinico-epidemiological information of the patients reported in 1997. Major findings of this survey were as follows; (1) The total numbers

of patients treated in 1997 in Japan were estimated as 3,700 (3,300-4,000) for APS. (2) The sex ratio (male:female) of patients were 1:6.4 for APS, and ratio of disease type was 1:1.1 for primary or secondary APS. (3) The peaks of age distribution of patients at the onset of the disease were their twenties for female APS patients. (4) Small number of patients with APS had a family history of collagen vascular diseases or thrombotic events. (5) Many patients with APS had a history of habitual abortion. (6) Almost of patients with APS were financially subsidized by Ministry of Health and Welfare for systemic lupus erythematosus. (7) Many patients were treated as out-patients for this disease.

【目的】抗リン脂質抗体症候群(APS)は新しい疾患概念であり、国際的にも疫学像はまったく不明であり、これまでに全国レベルでの大規模疫学調査はまったく行われていない。そこで、APSの基本的疫学像を明らかにすることを目的で原発性および続発性APSの全国疫学調査を実施した。

【研究方法】調査は郵送法で一次調査と二次調査からなる。一次調査は1998年2月に発送し、1997年1年間（1997年1月1日～1997年12月31日）にAPSの診断で受療した全患者数（新患および再来患者数）の報告を依頼した。これら疾患は厚生省特定疾患・免疫疾患調査研究班難治性血管炎分科会、自己免疫疾患分科会の作成した診断基準による症例である。調査対象科は内科、呼吸器科、循環器科、小児科、神経科、神経内科、整形外科、脳神経外科、心臓血管外科、産婦人科、眼科、耳鼻咽喉科、皮膚科、リウマチ科、腎臓科とし、層化無作為抽出法により、発送科（10,717科）を抽出した。一次調査では依頼状、調査対象疾患の診断基準、一次調査票（葉書）を送付した。一次調査票の返送期限は1998年3月31日とした。一次調査で「患者なし」と報告された診療科に対して礼状を逐次送付し、「患者あり」と報告された診療科には報告患者数に若干数を加えた枚数の二次調査票を、二次調査依頼状、診断基準、返信用切手付封筒とを同封して送付した。二次調査の返送期限は1998年6月30日とし、二次調査票が返送された診療科には礼状を送付した。二次調査票返送期限までに返送のなかった診療科には再度報告の依頼を行った。

これら基礎資料をもとに患者数の推計には「厚生省難病の疫学調査研究班」サベラス分科会の提唱する方法を用いた。

【結果】

1) 一次調査回収状況と受療患者数推計

一次調査の回収状況は6,835科より返送（回収率63.8%）があり、報告患者数は1,519例であった。この成績および二次調査による重複、不的確例を考慮して1997年1年間の全国病院受療患者数（95%信頼区間）は3,700（3,300～4,000）例と推計された。この推計受療患者数を分子、1997年推計人口を分母として受療率を計算すると、人口10万人対APS 3.04人となる（表1）。

2) 二次調査結果

二次調査票の回収状況は44.5%であり、APS 571例が回収され、このうち重複例、不的確例が7.8%にみられた(表1)。これら症例を除外して以下の疫学像を検討した。

APS患者の調査時年齢は40.8±13.4歳、男女比1:6.4、調査時、推定発症時の性別年齢階級分布は男は年齢分布は明らかでないが、女は20歳代後半にピークがあり、推定発症年齢は20歳代前半にピークがあった(図1)。病型は原発性:続発性=1:1.1とほぼ同数であった。受療科は内科が46.3%、産婦人科18.2%が主であり、皮膚科、リウマチ科と続く。基礎疾患は全身性エリテマトーデス(SLE)が81.3%とほとんどであり、シェーグレン症候群(SS)、混合性結合組織病(MCTD)などの膠原病が少数続いて居た(表2)。家族歴に膠原病が8.3%にみれ、血栓症が5.8%に認められた(表3)。医療費公費負担は特定疾患を96.7%が受給しており、その内訳はSLE 86%、MCTD 10%であった。その他の公費負担が0.7%であった。最近1年間の受療状況は主として通院が66.2%、入院/通院は26.4%、主として入院が3.4%、死亡が2.5%に認められていた(表4)。既往歴に習慣流産が36.4%にみられ、高血圧症、高脂血症、腎炎などであった(表5)。生活習慣に飲酒歴は15.3%、喫煙歴16.8、経口避妊薬の服用がわずかに0.5%であった。現在の状況(調査時)は治癒がわずかに3.3%、軽快が57.2%、不変29.2%、悪化が3.9%で、死亡は2.0%に見られていた(表6)。また、死因は臓器梗塞、DIC、脳出血などであった(表7)。

入院回数は0回が16.6%、1回が35.0%、2回は23.8%、3回以上が24.5%であり、1回入院の在院期間は28日以内が51.1%、28日~3ヶ月以内が37.3%、3ヶ月以上は11.6%であった。

【考察と結論】APSは比較的新しい疾患概念であり、本邦のみならず諸外国においても大規模調査による疫学像はまったく不明である。APSはもともとSLE患者から検出され、SLEの一つの病型と考えられていた。しかし、その後の検討でSLE以外の各種膠原病にも出現し、さらには基礎疾患を伴わずAPS単独で発症し、APSとしての各種病態がみられる症例の存在も確認され、APSには原発性と続発性の2病型に分類されることとなった。その結果、SLEに合併したAPSの疫学所見はこれまでいくつかの報告はあるが、これらはAPSの一部の疫学所見を示しているに過ぎない。2病型を含めたAPSの疫学所見はこれまでにまったくない。

このような背景にあるAPSについて全国疫学調査を実施したが、今回の1年間の受療患者推計値が本邦の疫学所見を表しているかについてはいくつかの問題がある。すなわち、患者が受診すると考えられる診療科をもつ全病院を調査対象としたが、これら疾患の報告医療機関は比較的規模の大きい医療機関が全体の約8割を占めていた。しかし、3疾患の重篤度、臨床症状から広く多くの医療機関に受診している可能性がある。非専門医以外では疾患概念の認識不十分なため、確定診断がなされないか、他の疾患と診断されている可能性は十分にある。すなわち、APSではSLEを中心とした各種膠原病、臨床症状である易血栓性から解剖的部位を付した血栓症の診断、あるいは原因不明の習慣流産として片づけられている可能性などである。また、APSの診断に必須の臨床検査である各種抗リン脂質抗体の検査法が本邦ではごく最近になって健康保険で実施可能となった事情もある。したがって、今回の推計値は低く見積もられている可能性は否定でき

ない。今後、定期的な疫学調査によって疾患概念の認知とともに、その疫学所見が本邦の数値を表すことが期待される。今回の結果について上記のような問題があるが、疫学所見の国際比較を行う必要があるが、APSは比較すべき成績がないのが実状である。

このように患者推計値は今後検討しなければならないいくつかの点が残されているが、性別、年齢分布、基礎疾患、病型、既往歴、家族歴、発症の先行事項、臨床経過、死亡率、死因、入院回数、1回入院の在院日数などについては本邦患者の所見を表していると理解し得る。さらに、二次資料を解析することによって臨床的に有意義な所見が数多く得られることが期待される。

以上、今回の全国疫学調査によって国際的にはじめてAPSの疫学像が明らかとなり、本邦患者のさまざまな疫学所見が明らかにされた。今後、疫学調査で把握された症例を用いて発症リスクとなる疫学的要因について症例・対照研究を行うことによって、発症予防、疾患管理にあたって有用な情報が得られることが期待される。

【謝辞】 日常診療、教育、研究で多忙中にもかかわらず、本調査にご協力頂きました全国の病院の先生方に深謝いたします。

【参考文献】

1. Khamashta MA, Hughes GRV: The antiphospholipid antibody syndrome. ed. Maddison PJ, Isenberg DA, Woo P et al. Oxford Textbook of Rheumatology, Oxford Medical Publications, Oxford, 1998, pp1202-1216.
2. Felson DT: Epidemiology of rheumatic diseases. ed. Koopman WJ, Arthritis and Allied Conditions, A Textbook of Rheumatology, Williams & Wilkins, Baltimore, 1996, pp3-34.
3. Lockshin MD: Antiphospholipid antibody syndrome. Rheum Dis Clin N Am, 1994, 20: 45-59.
4. Cervera R et al: Systemic lupus erythematosus; clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. Medicine, 1993, 72: 113-124.
5. Hamstern A et al: Antibodies to cardiolipin in young survivors of myocardial infarction: an association with recurrent cardiovascular events. Lancet, 1986, i: 113-116.
6. Khamashta MA et al: The management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. New Engl J Med, 1995, 332: 993-997.
7. Lynch A et al: Antiphospholipid antibodies in predicting adverse pregnancy outcome. Ann Intern Med, 1994, 120: 470-475.
8. Montalban J et al: Antiphospholipid antibodies in cerebral ischemia. Stroke, 1991, 22: 750-753.
9. Nencini P et al: Lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in young adults with cerebral ischemia. Stroke, 1992, 23: 189-193.

表1 抗リン脂質抗体症候群受療患者数の推計

一次調査報告数	1,519人
二次調査報告数	571人
重複・不的確率	7.8%
受療患者推計数	3,700人
95%信頼区間	3,300～4,000人
人口10万人対人数	3.04人

表2 続発性抗リン脂質抗体症候群の基礎疾患

全身性エリテマトーデス	81.5%
シェーグレン症候群	5.9
慢性関節リウマチ	2.0
混合性結合組織病	4.6
その他	11.5

表3 抗リン脂質抗体症候群の家族歴

疾患・病態	頻度 (%)
膠原病	8.2
全身性エリテマトーデス	22
慢性関節リウマチ	43
その他	35
抗リン脂質抗体症候群	0.9
血栓症	5.8

表4 抗リン脂質抗体症候群の最近1年間の受療状況

主に入院	3.4%
主に通院	66.2
入院と通院	26.4
転院	2.5
死亡	0.9
その他	0.5

表5 抗リン脂質抗体症候群患者の既往歴

高脂血症	15.2%
高血圧症	22.1
習慣流産	36.4
糖尿病	3.5
腎炎	13.5
その他	12.4

表6 抗リン脂質抗体症候群の調査時状況

治癒	3.3%
軽快	57.2
不変	29.2
徐々に悪化	3.9
急速に悪化	2.0
死亡	2.4
不明	2.0

表7 抗リン脂質抗体症候群の死因

疾患・病態	頻度 (%)
臓器梗塞	50.0
脳内出血	20.0
感染症	10.0
DIC	10.0
その他	10.0

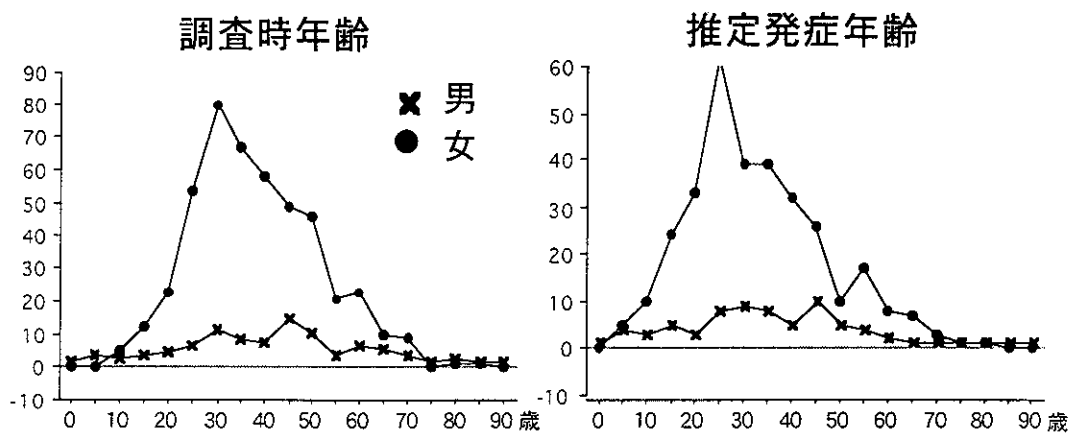


図2 抗リン脂質抗体症候群患者の性別年齢分布

研究業績

1. Matsumoto Y, Naniwa D, Banno S et al: The efficacy of therapeutic plasmapheresis for the treatment of fatal hemophagocytic syndrome. *Theapeutic Apheresis* 1998; 2: 300-304.
2. 松本美富士：RAテストの結果をどう読むか. *medicina* 1998; 35: 1694-1696.
3. 松本美富士：抗好中球細胞質抗体 (ANCA). *日本内科学会雑誌* 1998; 87: 2421-2426.
4. 松本美富士：成人発症スチル病の発症機構、診断、治療. *現代医療* 1999; 31: 823-828.
5. 松本美富士：線維筋痛症候群. *日本臨床* 1999; 57: 364-369.

抗リン脂質抗体症候群におけるT細胞エピトープの解析

松下 祥 (熊本大学, 大学院医学研究科, 免疫識別学)
伊藤裕志 (熊本大学, 大学院医学研究科, 免疫識別学)
田中芳彦 (熊本大学, 大学院医学研究科, 免疫識別学)
西村泰治 (熊本大学, 大学院医学研究科, 免疫識別学)

【研究要旨】抗リン脂質抗体症候群を伴うSLEはHLA-DR9と相関し、本症候群の責任自己抗原と考えられている β 2-glycoprotein I (β 2-GPI)に対する抗体はIgGクラスであることから、病態形成におけるヘルパーT細胞の関与が考えられる。本研究では、本症患者の抗体によって認識される β 2-GPI蛋白上に存在するT細胞エピトープを同定した。

【研究目的】昨年度までの本研究では、(1) HLA-DR9とペプチドの相互作用の特徴を解明し、(2) 自己反応性T細胞を効率良く株化する方法を開発した^{1,2)}。本年度は、昨年度報告した「自己反応性T細胞を効率よく株化する方法」を利用することにより、 β 2-GPI蛋白上にあって、抗リン脂質抗体症候群患者T細胞から認識されるエピトープを明らかにすることを目的とした。

【研究方法】(1) β 2-GPIの全長をカバーするペプチドライブラーを合成し(島津製PSSM-8)、C18カラムを用いたRP-HPLCで精製した。

(2) 抗CD29抗体(MAR4, 2.5 μ g/ml)の存在下に患者PBMCをペプチドの混合物と共培養し、9日後に芽球化反応を認めるウエルにペプチドをバルスした自己PBMC+IL-2を添加した。さらに7日間培養した後、ウエル毎にペプチド特異的増殖反応を³H-thymidine取り込み反応により定量した。その後は常法に従ってterasakiプレートを用いた限界希釈法によりT細胞クローンを樹立した。

(3) 拘束分子は、各種抗HLA抗体による増殖応答阻止実験、アロPBMCを用いた抗原提示、ならびにL cell HLA transfectantsを用いた抗原提示により決定した。

(4) 外来性サイトカインを加えずにT細胞+放射線照射自己PBMC+飽和濃度のペプチドで培養した48-hr supernatantを用い、ELISAによりサイトカイン濃度を定量した。

【結果と考察】T細胞株/クローンの多くは β 2-GPI第五ドメインのSCKLPVKKATVVYQGERVKIQを認識したが(図1)、拘束分子はDRB1*0403, DRB4*0103, DPと一定せず(図2)、感受性HLA-DR分子(DR9)が拘束分子であるという作業仮説は否定された。これは、我々のIDDMに関する最近の研究結果とにかよっている。すなわちIDDM感受性のDRB1*0405を持つ患者のPBMCを用いて樹立された責任自己抗原に特異的なT細胞クローンはDRB1*0405に拘束されていなかった³⁾。これはcrypticな責任自己抗原断片が疾患と相関するHLA分子と高親和性であるために、その

HLA分子を拘束分子として抗原提示されやすくなる、という単純な免疫応答遺伝子モデル⁴⁾が、すべての自己免疫疾患において成り立つわけではないことを意味している。

また、いずれのT細胞株/クローンもIL-4とIFN- γ の両方を産生しており、厳密な意味でのTh1/Th2の極型は存在しなかった。この観察はこのようなT細胞がIgGへのクラススイッチ圧を有していることを示唆している。

ここに報告したT細胞はいずれもペプチドにより刺激して得られたT細胞株/クローンである。そこで、ヒトプール血清から精製した β 2-GPI蛋白に対する反応性を観察してみた。しかし、 β 2-GPI蛋白を過剰に加えて培養しても反応の増強はみられなかった(not shown)。

【結論】患者T細胞は特定の β 2-GPIペプチドを認識する傾向があった。抗リン脂質抗体症候群を伴うSLEはHLA-DR9と相関するが拘束分子は一定せず、HLA-DR9拘束性のT細胞株は全く樹立されなかった。すなわち、抗リン脂質抗体症候群とHLA-DR9の相関は単純な免疫応答遺伝子モデルでは説明不可能である。 β 2-GPI蛋白は血清中にも高濃度に存在するため、このエピトープはcrypticであると考えられる。今後、エピトープが切り出される条件（陰性荷電との相互作用下での蛋白分解など）を検討する必要がある。

【参考文献】

1. Tanaka, Y., Nishimura, Y. and Matsushita, S. Effect of mAbs to T-cell and adhesion structures on a proliferative response of a CD4⁺ T cell clone with a paracrine growth property. In **Leukocyte Typing VI**. Kishimoto, T., Kikutani, H., von dem Borne, A.E.G.Kr., Goyert, S. M., Mason, D. Y., Miyasaka, M., Moretta, L., Okumura, K., Shaw, S., Springer, T. A., Sugamura K., Zola, H. eds. Garland Publishing, Inc., p111, 1997
2. Tanaka, Y., Ogawa, M., Nishimura, Y. and Matsushita, S. Efficient induction of human CD4⁺ T cell lines reactive with a self-K-ras-derived peptide in vitro, using a mAb to CD29. **Hum. Immunol.** 59: 343-351, 1998
3. Tabata, H., Kanai, T., Yoshizumi, H., Nishiyama, S., Fujimoto, S., Matsuda, I., Yasukawa, M., Matsushita, S. and Nishimura, Y. Characterization of self-glutamic acid decarboxylase 65-reactive CD4⁺ T cell clones established from Japanese patients with insulin dependent diabetes mellitus. **Hum. Immunol.** 59: 549-560, 1998
4. Matsushita, S., Takahashi, K., Motoki, M., Komoriya, K., Ikagawa, S. and Nishimura, Y. Allele specificity of structural requirement for peptides bound to HLA-DRB1*0405 and -DRB1*0406 complexes: Implication for the HLA-associated susceptibility to methimazole-induced insulin autoimmune syndrome. **J. Exp. Med.** 180: 873-883, 1994

図1 抗リン脂質抗体症候群患者T細胞が認識するβ2-GPIエピトープ

患者末梢血単核球 + β2-GPIペプチドライブラリー + 抗CD29抗体

↓
T細胞株 (クローン) を樹立してエピトープ、拘束分子、サイトカイン産生を解析

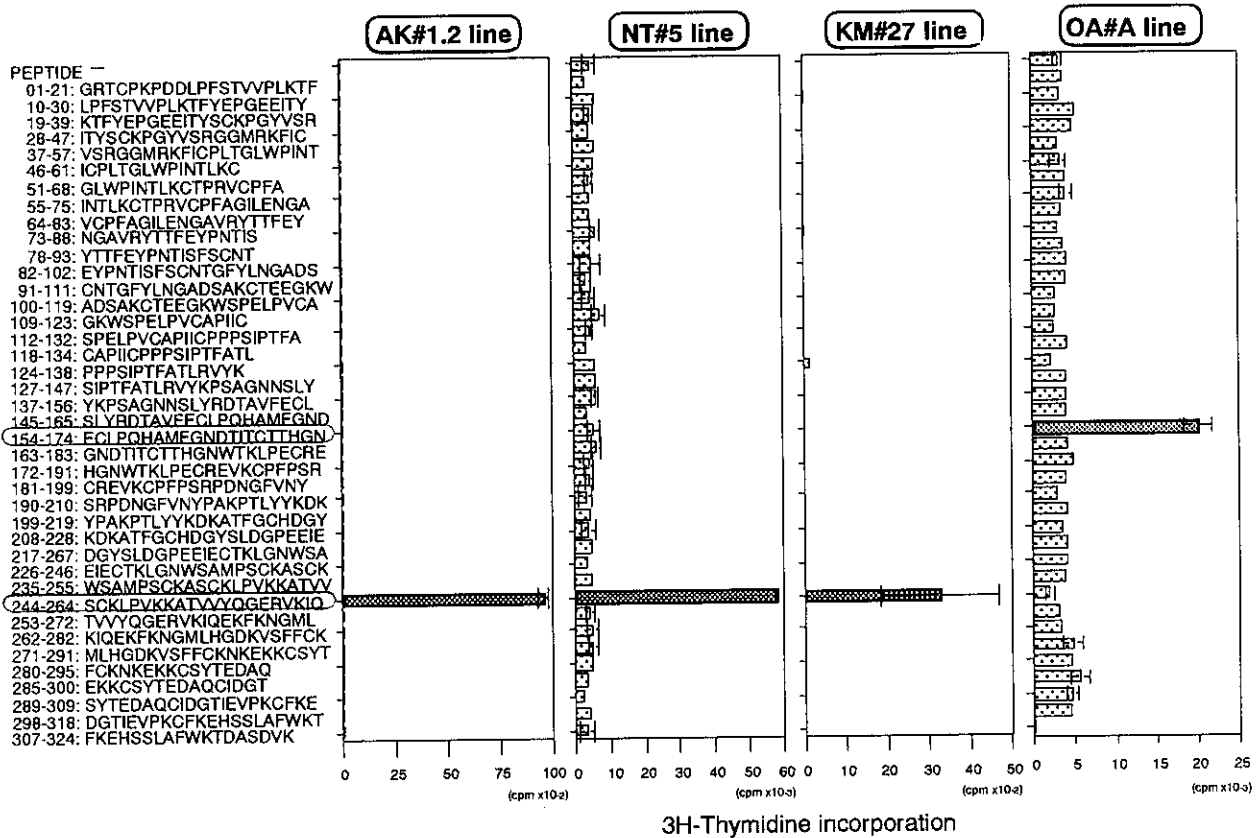


図2 T細胞株/クローンのまとめ

	エピトープ (コアエピトープ)	HLAクラスII 拘束分子	Th分類 (IL-4/IFN-γ)	患者の疾患	血清抗β2-GPI抗体 (U/ml:正常値<3.5)	患者の HLA-DRB1
AK#2.2.9 clone	p244-264 第5ドメイン (p248-261)	DRB1*0403 (DR4)	Th0 (0.65)	APS, SLE	>125	DRB1*0403/0901
NT#5.3.1 clone	p244-264 第5ドメイン (p247-262)	DRB4*0103 (DR53)	Th0 (0.72)	(SLEのcriteria 3つ満たす)	11.9	DRB1*0405/0405
KM#27 line	p244-264 第5ドメイン (p246-260)	DP	Th0 (0.08)	SLE	28.8	DRB1*0901/1502 (DPA1*0201/0202) (DPB1*0501/1401)
OA#A line	p154-174 第3ドメイン (ND)	ND	Th0 (0.34)	APS (SLEのcriteria 2つ満たす)	67.7	DRB1*0901/1401

新しい免疫抑制剤 FTY720 とセラミド経口投与による 自己免疫モデル (MRL-lpr/lpr) マウスの治療の試み

簗田清次 (自治医科大学, アレルギー膠原病科)
岡崎仁昭 (自治医科大学, アレルギー膠原病科)
平田大介 (自治医科大学, アレルギー膠原病科)
上村 健 (自治医科大学, アレルギー膠原病科)
佐藤英智 (自治医科大学, アレルギー膠原病科)

【研究要旨】 Fas を介するアポトーシスが正常に起きないことが SLE の原因であると考えられる MRL-lpr/lpr マウスにセラミド様物質 (FTY720 と C2-セラミド) を経口投与し治療を試みた。すでに SLE を発症している 4 ヶ月齢の lpr マウスに FTY720, C2-セラミドを投与したところ、8 ヶ月齢以降において FTY720 と C2-セラミドはコントロールに比し有意に生存率を延長させ、自己抗体産生の抑制や腎障害を改善したが、その程度はメチルプレドニゾロンに匹敵するものであった。肝障害や高血糖のような副作用も認められず新たな治療薬になる可能性があると思われる。

【研究目的】 リンパ球の増殖とアポトーシスのバランスが崩れると種々の病的状態が起こり、特にアポトーシスの抑制は中枢性または末梢性の自己反応性 T 細胞の deletion に障害を来し、自己免疫疾患の発症につながることを推定されている。代表例として、Fas-L または Fas 遺伝子の異常の結果、慢性関節リウマチや全身性エリテマトーデス様症状を呈する MRL-gld/gld または lpr/lpr マウスやアポトーシス抑制分子の一つである Bcl-2 のトランスジェニックマウスなどが挙げられる。最近、Fas の細胞内シグナル伝達物質の一つとしてアポトーシス誘導作用を持つセラミドの関与が報告されている。lpr マウスでは、Fas の異常の結果、セラミドの産生低下をきたし、アポトーシス抑制状態を呈していると考えられる。

さて自己免疫疾患の代表的な治療薬である副腎皮質ステロイド剤にはその免疫抑制機序の一つとしてアポトーシス誘導作用を有する事実からも、ステロイド剤と作用機序の異なるアポトーシス誘導物質は新しい治療薬として期待できる。今回我々は構造がセラミドに類似し、アポトーシス誘導作用をもつ新しい免疫抑制剤 FTY720 と細胞膜透過性 C2-セラミドを lpr マウスに経口投与し、各々の効果を比較検討した。

【研究方法】

A. in vitro での解析

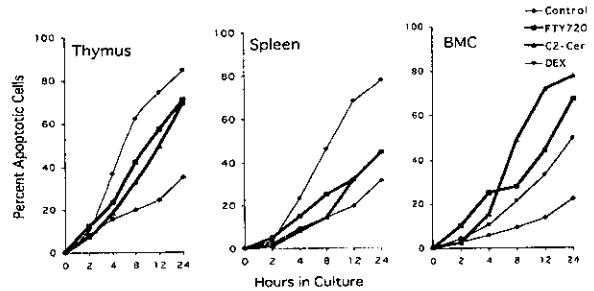
- 1) マウス： 5-6 週齢の正常 BALB/c マウスおよび 4 カ月齢の自己免疫発症モデル MRL-lpr/lpr (lpr) マウスを用いた。
- 2) in vitro での FTY720 とセラミドのアポトーシス誘導能の解析：10% FCS 添加 RPMI1640 培養液に懸濁した浮遊細胞 (胸腺、脾臓、リンパ節、骨髄) に FTY720 または脂肪酸部分がアセチル酸である合成された細胞膜透過性セラミド (C2-セラミド) を各々 1 mM 加え培養した。陽性コントロールとしてデキサメタゾン (DEX) を用いた。

アポトーシスの検出は、propidium iodide または Merocyanine540 で染色後、FACScanにて解析した。

B. in vivo での解析

既に自己免疫病を発症している各群 15 匹の *lpr* マウスに生後 4ヶ月齢からセラミド(2 mg/kg, 20 mg/kg)、FTY720 (2 mg/kg)、メチルプレドニゾロン (mPSL) (2 mg/kg)を週 3 回継続経口投与した。効果判定は、生存率と、脾臓、リンパ節の CD3⁺ CD4⁻ CD8⁻ (double negative:DN) T細胞の比率、抗 CD3 抗体または Con A 刺激増殖能 (³H-thymidine の取り込み) と IL-2 産生能 (CTLL-2 を用いた bioassay)、血清抗 ds-DNA 抗体価、腎臓の免疫組織学的検査を行った。

図 1. Effects of FTY720 and C2-Cer on *in vitro* apoptosis



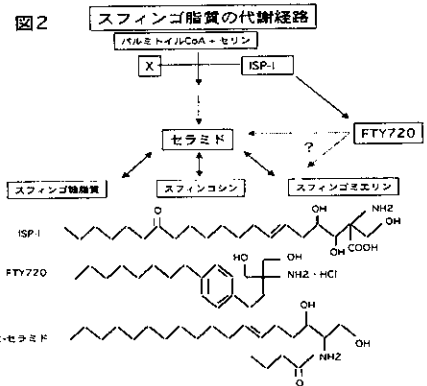
【結果と考察】

A. in vitro での FTY720 とセラミドの正常

BALB/c マウスリンパ造血系臓器に対するアポトーシス誘導能 (図 1)

胸腺細胞に対しては、DEXには劣るものの、FTY720 と C2-セラミドは明らかにアポトーシス誘導作用を示した。一方、脾臓細胞では DEX が強いアポトーシス誘導能を示すのに対して、FTY720 と C2-セラミドでは有意なアポトーシス誘導能は観察されなかった。骨髓細胞に対しては、逆に FTY720 と C2-セラミドでは DEX よりも強いアポトーシス誘導作用が認められた。

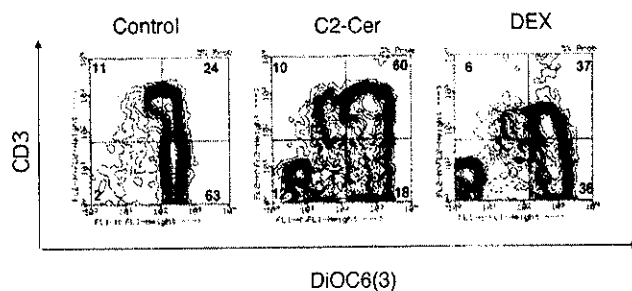
以上から FTY720 は胸腺と骨髓細胞に対してアポトーシス誘導能を有し、その様式は C2-セラミドに類似しており、ステロイド剤とは異なることが明らかとなった。図 2 にスフィンゴ脂質の代謝経路を示したが、セラミドの産生経路の最初のステップであるセリンパルミトイルトランスフェラーゼの特異的代謝阻害剤である ISP-I から合成された FTY720 は化学構造的に C2-セラミドに類似している。従ってそのアポトーシス誘導作用の機序として、スフィンゴミエリン回路を介することが予想される。



B. in vivo でのセラミドの正常BALB/cマウス胸腺細胞に対するアポトーシス誘導能

次に C2-セラミド (2 mg) を 5 週齢正常 BALB/c マウスに経口投与 (*in vivo*) し、24 時間後に胸腺を摘出し、胸腺細胞を DiOC6(3) と PE-CD3 抗体とで染色し、2 カラー解析を行った (図 3)。C2-セラミドとステロイド剤投与マウスでは、胸腺の退縮と、図 3 より明らかなアポトーシス (DiOC6(3)^{low} 細胞群) が観察され

図 3. Effects of C2-Cer on apoptosis in the thymus of BALB/c mice *in vivo*



た。また DiOC6(3)^{low} 細胞群は大部分が CD3⁻ ~ ^{low} 分画に属していることから、CD4⁺CD8⁺ (Double Positive:DP) 胸腺細胞がアポトーシスに陥っていると推定される。尚、実際に DP 胸腺細胞が減少していることも確認している。一方、脾細胞に対しては陰性コントロール群と比較し、有意なアポトーシス誘導能は認めず、これらは *in vitro* の実験結果と一致していた。以上から C2-セラミドは *in vivo* においてもアポトーシス誘導能を示すことが確認された。

C. FTY720 とセラミドの *lpr* 自己免疫マウス脾臓細胞に対するアポトーシス誘導作用

次に、*in vitro* で *lpr* マウス脾臓細胞に対する効果を検討した。MRL/n マウスでは正常 BALB/c マウスでの結果と一致しており、DEX が強いアポトーシス誘導能を呈したが FTY720 と C2-セラミドとではコントロールと比べて有意な変化が認められなかった。しかしながら MRL/*lpr* マウスでは FTY720 と C2-セラミドが DEX と同程度のアポトーシス誘導能を呈した (図4)。この結果から、ステロイド剤が CD4 または CD8 陽性の single positive (SP) T 細胞と Double Negative (DN) T 細胞とに対して非選択的にアポトーシスを誘導するのに対して、FTY720 とセラミドは DN T 細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導することが予想された。この点を明らかにするため Merocyanine540 と FITC-抗 CD4 + CD8 抗体との 2 カラー解析を行った (図5)。DEX が DN T 細胞のみでなく SP T 細胞にもアポトーシスを誘導するのに対して、FTY720 と C2-セラミドは比較的選択的に DN T 細胞に対してアポトーシスを誘導することが確認された。また、*lpr* B 細胞に対する C2-セラミドの作用を同様に解析したところ、明らかなアポトーシス誘導能が観察された (図6)。以上の結果に基づき、FTY720 と C2-セラミドとの *lpr* マウスに対する投与実験を遂行した。

D. FTY720 と C2-セラミドの *lpr* マウスに対する投与実験

1. 生存率

図4. Effects of FTY720 and C2-Cer on apoptosis of splenocytes *in vitro*



図5. Effects of FTY720 and C2-Cer on Apoptosis of MRL/*lpr* Splenic T Cells

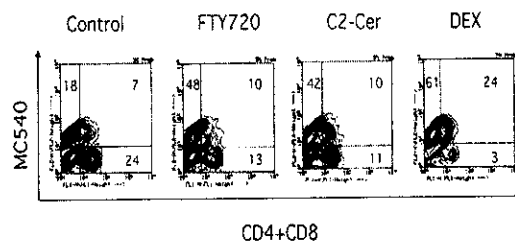


図6. Effects of C2-Cer on *in vitro* apoptosis of splenic B cells from MRL/*lpr* mice

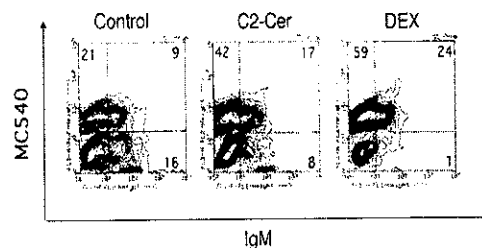


図7. Effects of FTY720 and C2-Cer on survival of MRL/*lpr* mice

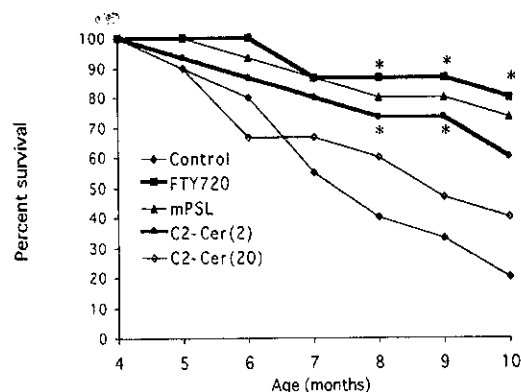
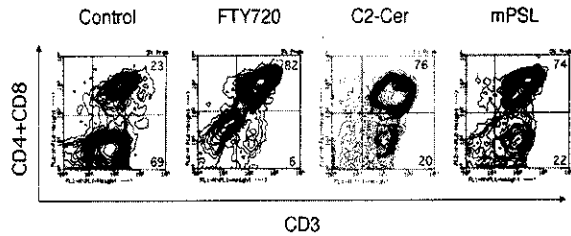


図7に示すように、FTY720とC2セラミド(2mg/kg)投与群とでは非投与群と較べて有意に生存率の上昇を認めた。しかしながらC2-セラミド(20mg/kg)投与群での生存率は非投与群とで有意差は観察されなかった。尚、FTY720とC2-セラミド(2mg/kg)投与群とステロイド投与群とは有意差は認められなかった。

2. リンパ節でのDN T細胞の減少

FTY720投与群(DN T細胞分画:6+5%)とC2-セラミド(2mg/kg)投与群(20+15%)では非投与群(69+10%)と比べて明らかにDN T細胞の減少が示された(図8)。尚、データは示さないがDN T細胞の減少に一致して腫大リンパ節の縮小が観察された。

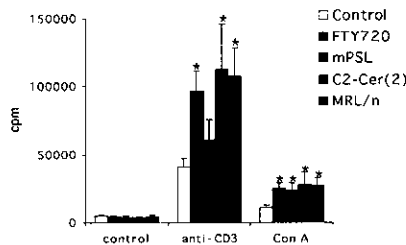
図8. Depletion of CD4⁺CD8⁺ T Cells in MRL/lpr LN by Treatments with FTY720 and C2-Cer *in vivo*



3. 脾臓 T細胞機能の改善

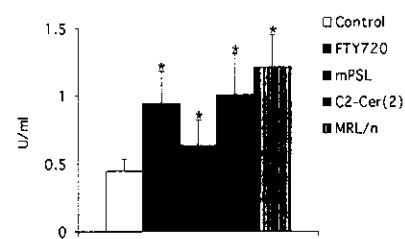
FTY720投与群とC2-セラミド(2mg/kg)投与群では抗CD3抗体、Con A刺激増殖能が、DN T細胞の減少とSP T細胞の増加といったT細胞 sub-

図9. Effect of FTY720 and C2-Cer on MRL/lpr mouse splenocyte proliferation *ex vivo*



populationの是正化に一致して、非投与群と比べて上昇した(図9)。またIL-2産生能も改善した(図10)。以上から、FTY720投与群とC2-セラミド(2mg/kg)投与群とでは末梢のT細胞機能の正常化が認められた。

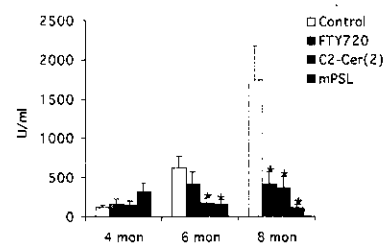
図10. Effects of FTY720 and C2-Cer on IL-2 secretion *ex vivo* from MRL/lpr mouse splenocytes



4. 血清抗 ds-DNA 抗体価の低下 (図 11)

FTY720投与群とC2-セラミド(2mg/kg)投与群とではステロイド投与群には若干劣るものの経時的に血清抗 ds-DNA 抗体価の低下が認められた。

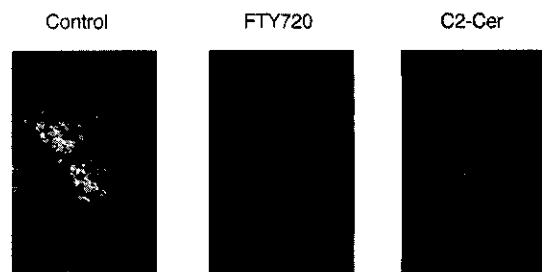
図11. Serum anti-ds DNA antibody levels in MRL/lpr mice treated with FTY720 and C2-Cer



5. 腎臓の免疫組織学的検査 (図 12)

FTY720投与群とC2-セラミド(2mg/kg)投与群とでは、腎糸球体に沈着するIgGの明らかな減少が観察された。

図12. Immunofluorescence analysis of glomerular deposits of IgG in MRL/lpr mice (x400)



今回の実験でC2-セラミドとFTY720とは4ヶ月齢lprマウスのB細胞とDN T細胞にアポトーシスを誘導し、リンパ

節の縮小、T細胞機能の正常化、抗 ds-DNA 抗体価と腎糸球体の IgG 沈着とを低下さ

せ、生存率を増加させることが明らかとなった。

近年、セラミドはアポトーシス伝達分子としての役割を担っていることが明らかにされてきた。特にTNF- α やFasのシグナル伝達系においてセラミドの関与が多数報告されている。セラミドによるアポトーシス誘導の詳細なメカニズムは未だ明らかではないが、現在までの実験系はほとんどがin vitroでのものであり、in vivoでのアポトーシス誘導作用を検討したのは我々独自のものである。

自己免疫疾患とアポトーシスとに関する研究はここ数年来、急速に進展している。特にlprマウスではFas分子の異常で、シグナル伝達物質であるセラミドが低下していることが予想されるので、生理的活性物質であるセラミドをlprマウスに補充することにより、アポトーシス抵抗性を解除し、治療薬としての可能性を検討した。セラミドは細胞外から受容体を介して作用するのではなく、また細胞膜を透過しにくいことから、我々は細胞膜透過性の合成セラミド(C2-セラミド)を用いた。投与経路として、最初は腹腔内投与を行ったが効果がなく、オリーブ油を溶媒として経口投与したところ効果が認められた。投与実験では2mg/kg群が20mg/kg群よりも非投与群と較べて有意な効果を示した。その理由としては、セラミドにはリンパ造血器系細胞に対して強力なアポトーシス誘導作用を有するため、そのtherapeutical rangeが狭いことが考えられる。また油性製剤であるため、消化管の吸収のばらつきが多いことも考えられ、今後はマイクロエマルジョン法などのdrug delivery systemの改良も必要かと思われる。尚、長期投与による副作用に関しては、肝機能障害、骨髄抑制、さらにステロイド投与群で認められた耐糖能異常はなく、安全性が高い薬剤となりうることが示唆された。

FTY720は1995年Fujitaらが、ツクツクボウシ蟬の幼虫に寄生する子囊菌Isaria sinclairiiの培養濾液から抽出した、抗生物質ISP-Iを化学修飾して合成した薬物であり、臓器移植領域では皮膚移植や心移植で有効性が示され、新しい免疫抑制剤として期待されている。免疫抑制作用の機序としてリンパ球にアポトーシスを誘導することが報告されている。in vitroおよびin vivoでの実験結果はほとんどがセラミドと一致しており、このような点を総合すると、FTY720によるアポトーシスにおいては、スフィンゴミエリン回路を介する可能性が高いものと思われる。

【結論】現在、セラミドとFTY720の投与実験はlprマウスのみでなく、NZB/WF1やHTLV-Iトランスジェニックマウスなどの他の自己免疫疾患モデルマウスでも遂行中であり、新しい免疫抑制剤としての臨床応用が期待される。

【参考文献】

1. Chiba K, Hoshino Y, Suzuki C, Masubuchi Y, Yanagawa Y, Ohtsuki M, et al. FTY720, a novel immunosuppressant possessing unique mechanisms. I. Prolongation of skin allograft survival and synergistic effect in combination with cyclosporine in rats. *Transplant. Proc.* 1996;28:1056-1059.
2. Cifone MG, De Maria R, Roncaioli P, Rippon MR, Azuma M, Lanier LL, et al. Apoptotic signaling through CD95 (Fas/Apo-1) activates an acidic sphingomyelinase. *J. Exp. Med.* 1994;180:1547-1552.

炎症性筋疾患患者における末梢 CD8T細胞のクローン性増多の解析

西尾 純子 (東京医科歯科大学医学部第一内科)
鈴木美穂子 (東京医科歯科大学医学部第一内科)
宮坂 信之 (東京医科歯科大学医学部第一内科)
上阪 等 (東京医科歯科大学医学部第一内科)

【研究要旨】

[目的]炎症性筋疾患(IM)の病変局所にはCD8T細胞が浸潤し、細胞傷害性分子を発現する。一方、末梢CD8 T細胞は正常者でもクローン性増多を認め、加齢やウイルス感染でさらに頻度を増す。即ち末梢CD8T細胞は免疫応答に伴いクローン性に増多し易い。そこで、IMの病因T細胞を探る手がかりとしてIM患者末梢CD8T細胞のクローン性増多を検討する。[方法]正常及びIM患者末梢CD8T細胞のcDNAを用いて、各BVプライマーと蛍光標識BCプライマーによるPCR産物のCDR3長スペクトラタイピング法でクローン性を解析し、各BV遺伝子の頻度をPCR-ELISA法にて求める。[結果]正常、患者両者のCDR3塩基長の分布は通常の正規分布より逸脱を認め、患者ではより高頻度に逸脱を認めた。[結論]IM患者では疾患による末梢CD8T細胞のクローン性増多の存在が推測された。主要クローンのクローナルサイズとクロノタイプの決定は病因の解明に役立つと思われる。

【研究目的】

多発性筋炎や皮膚筋炎などの炎症性筋疾患についての今までの研究では、主に筋炎活動期の生検筋組織を解析することにより、いくつかの知見が得られている。特に多発筋炎では、筋組織の筋線維周囲にCD8陽性細胞を主とする細胞浸潤が認められ、浸潤局所にはパーフォリンやグランザイムなどの細胞障害性分子の存在も証明されている^{1,3)}。また、局所浸潤CD8T細胞は一部のV α , V β が優位に浸潤していることも示唆されている⁴⁾ことから、筋炎局所ではあるクロノタイプのCD8T細胞が筋線維に対し細胞障害性に作用し、壊死に至らしめていることが推測される。しかし、病因となる個々のT細胞を解析することは難しく、そのクロノタイプやその他の機能については未だ解明されていない。

一方、末梢CD8T細胞はCD4T細胞と異なり、正常人においても末梢でクローン性の増多を認めることが多く、加齢やウイルス感染でその頻度が増すことが示されている^{5,7)}。このCD8T細胞のクローン性増多は臍帯血では認められず、正常人の末梢血にはCD45RO+CD8+T細胞(メモリーT細胞)にクローン性増多が多く、加齢により増えるCD28-CD8+T細胞サブセットは、CD28+CD8+T細胞サブセットに比し、クローン性が高いと報告され、末梢CD8+T細胞は体内で起こる免疫応答反応によりクローン性に増多しやすいものとされている^{8,9)}。

このような点から、自己免疫疾患である炎症性筋疾患において、上記のような性質を持つ末梢CD8T陽性細胞が、筋炎と関連してクローン性に増多していることが推測され、

末梢血から単離できるこれらの細胞が病因T細胞解析の手がかりを与えてくれると考えられる。

そこで、本年度は炎症性筋疾患における末梢CD8陽性T細胞でクローン性増多の頻度を定量的に解析し、筋炎によるクローン性増多の有無を検討した。

【研究方法】

1. 対象

健常者5名、炎症性筋疾患患者6名で、性別、年齢はほぼ合致させた。炎症性筋疾患は多発筋炎4例、皮膚筋炎2例で、皮膚筋炎の1例が再燃例である(表1)。

2. CD8T陽性細胞の分離とTCRBV領域のPCR増幅

炎症性筋疾患患者及び正常者の末梢血単核球を分離し、蛍光標識抗CD8抗体にて染色し、EPICS-ELITEセルソーターを用いてCD8T陽性細胞を分取した。回収した細胞からRNAを抽出し、オリゴdTプライマーと逆転写酵素を用いてcDNAに変換した。さらに、3'末端にポリGを付加し、ポリCプライマーとTCRBC特異的プライマーとでTCRBV領域のPCR増幅を行った。

3. TCR CDR3 length spectratyping

2で増幅したCD8T陽性細胞BC領域を、さらに各BVプライマーと蛍光標識TCRBCプライマーでnested PCRを行い各BV遺伝子を増幅し、TCR CDR3 length spectratyping法で解析した。

TCR CDR3 length spectratyping法は、TCR CDR3領域の塩基長の分布を解析する方法である。抗原認識にかかわるCDR3領域は塩基配列も塩基長も多様なため、蛍光標識された各BV遺伝子を5%前後のポリアクリルアミド変性ゲルに泳動させ蛍光を検出すると、アミノ酸8-10個分の塩基長に3塩基毎のピークで分布する(図1)。ある特定のCDR3領域を持ったT細胞がクローン性に増多していない場合は塩基配列長は通常正規分布を示す。もしクローン性に増多を認めれば、ある塩基配列長の頻度が正規分布から大きく逸脱する。定型的なCDR3塩基長の正規分布を、平均を中央値、 σ を5.3bp程度の分布と仮定すると、サンプルのグラフと定型的正規分布のグラフを重ね合わせたとき、ピーク値を取り、この差がサンプル全体の50%以上あれば有意にクローン性に増多したT細胞に由来するTCRと判断した(図2)¹⁰⁾。

4. TCRBVレパトワの解析

2で増幅したCD8T陽性細胞TCRBC領域を、TCRBV遺伝子ファミリー特異的な標識オリゴヌクレオチドによるPCR-ELISA法にて、各BV遺伝子の使用頻度を決定した。

【結果と考察】

1. CDR3長スペクトラタイピング

健常者5人と炎症性筋疾患6人の末梢CD8 T細胞TCRBVトランスクリプトについてCDR3 length spectratyping法で解析を行った。図3に健常者、図4に多発筋炎各1人ずつの結果を示す。上述した基準でクローン性増多ありとされるもの(矢印)は、健常者ではBV1とBV7で、多発筋炎患者ではBV6S2、9、22、24でそれぞれクローン性増多を認めた。

他の検体についてもCDR3 length spectratypin法の解析結果より同様の基準でクローン性増多を解析した。クローン性に増多しているBVの数を健常者と患者群に分けてを示したグラフ(図5)を示す。患者群には健常者と比し有意にクローン性増多が多いことがわかる。

また、患者群の中で皮膚筋炎例と多発筋炎例とでは増多クローンの数に差は認められない。さらに増多クローンを持つBVには特別な偏りは認められなかった。

2. 増多クローンのサイズの検討

クローン性増多の頻度を比較するのみであれば従来の方法でも可能だが、我々が今まで行ってきたPCR-ELISA法で各BV遺伝子の使用頻度を求めることによりそのクローンがCD8T細胞全体の中に占める割合を推定した。すなわち CDR3 領域の塩基配列長の頻度が50%以上であるものの中で、(PCR-ELISA法によるBVの頻度(%))×(CDR3 length spectratyping法でのピーク値の定型分布との差(%))の値がクローンのサイズ(clonal size)となる。具体例をあげると、前述の図4の多発筋炎例の場合、CDR3 spectratyping法でクローン性増多ありと判定したBV6S2は、PCR-ELISA法より頻度が15.0%、CDR3 length spectratyping法でのピーク値の定型分布との差は95.6%であり、両値を掛け合わせ14.3%となる(図6)。従って、BV6S2を使用し特定のCDR3塩基長を持つクローンが末梢のCD8T細胞に占める割合は14.3%であることが推定される。同様の方法で、CDR3 spectratypin法で増多ありと判定したクローンのサイズを、表2に示した。Clonal sizeについては健常者と多発筋炎患者とで有意な差を認めなかった。

本研究で、炎症性筋疾患患者では健常者に比し、より高頻度に末梢CD8T細胞のクローン性増多を認めることが判明した。これらの末梢CD8T細胞クローンのいくつかは疾患に関連して増多し、さらにその中のあるものは筋炎局所で筋細胞に対する細胞傷害活性を持つCD8T細胞と同クローンである可能性は高い。既存の報告では、特に多発筋炎ではCD8T細胞による筋細胞傷害が病態の主体であると推測されているが、これらはいずれも筋組織の解析から得られた知見である。さらに炎症性筋疾患の病態が未だに解明されていない点が多いのは、解析の対象が微量の筋生検組織のみであったことにもある。これらの点から炎症性筋疾患においてクローン性に増える末梢血CD8T細胞の解析をさらに進めていくことは炎症性筋疾患の病態の解明には意義のあることと考えられる。

今後は、クローン性増多を認めた末梢CD8T細胞のCDR3領域のシーケンスを決定し、筋炎局所の同クローンの存在を確認していくことが必要である。さらに、末梢で病因CD8T細胞が存在すれば、それを単離し(single-cell sorting)、TCR α , β 鎖遺伝子をクローニングしたり、エフェクター分子や他の分泌タンパク、表面タンパクなどの遺伝子を解析することによって、病因CD8T細胞の機能を解析することが可能となる。

【結論】

IM患者では疾患による末梢CD8T細胞のクローン性増多の存在が推測された。主要クローンのクローナルサイズとクロナタイプの決定は病因の解明に役立つと思われる。