

関節リウマチ患者における包括的臨床免疫解析の試み

研究分担者 山本 一彦 東京大学大学院医学系研究科内科学専攻アレルギー・リウマチ学 教授

研究協力者 住友 秀次^{*}、永淵 泰雄^{*}、庄田 宏文^{*}、藤尾 圭志^{*}

^{*}東京大学大学院医学系研究科内科学専攻アレルギー・リウマチ学 所属

研究要旨 関節リウマチにおける、免疫学的異常と臨床所見・免疫細胞動態・HLA-DRB1 遺伝子型との関連について、ヒト PBMC のフローサイトメトリー解析を用いて包括的な解析を行った。Plasmablast, Tfh-Th17 細胞が自己抗体産生に関係していること、CD45RA⁻CXCR5⁺CCR6⁻CXCR3⁻細胞が疾患活動性と相関があること、早期未治療関節リウマチ患者では免疫学的異常が顕著であることが示された。

A. 研究目的

ヒトにおける、関節リウマチ(RA)の免疫学的異常と臨床像との関連を明らかにするために、またリスク遺伝子である HLA-DRB1 と免疫細胞との関連を明らかにするために、臨床所見・免疫細胞動態・HLA-DRB1 遺伝子型との関連について、包括的な検討を試みた。

B. 研究方法

早期未治療 RA 患者 8 名を含む RA 患者 50 名、健常人 25 名を対象とした。ヒト末梢血単核球 (PBMC) をマルチカラー染色によるフローサイトメトリー解析を行うことで、CD4⁺T 細胞、B 細胞、NK 細胞、単球、樹状細胞それぞれのサブセット分類と、細胞表面の HLA-DR 発現量の定量を行った。そして、RA 患者の臨床情報と HLA-DRB1 タイピングによる shared epitope(SE)の有無との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

ヒト末梢血を解析するにあたり、匿名化操作など倫理面に配慮した実験計画を作成し、東京大学医学部附属病院の院内倫理審査委員会にて承認されている[審査番号 1999-(3)]。

C. 研究結果

DAS28 と CD45RA⁻CXCR5⁺CCR6⁻CXCR3⁻細胞比率に正の相関を認め、DAS28 と CD19⁺B 細胞比率に負の相関を認めた。また RF と CD27^{high}CD38^{high}

plasmablast 比率、plasmablast 比率と

CD45RA⁻CXCR5⁺CCR6⁺CXCR3⁻(Tfh-Th17)細胞比率に正の相関を認めた。早期未治療 RA 患者では、健常人、治療後慢性 RA 患者と比較して、plasmablast 比率および Tfh-Th17 細胞比率が増加していた。また早期未治療 RA 患者では、CD4⁺T 細胞、NK 細胞上の HLA-DR 発現量が増加しており活性化を示した。SE の有無による各サブセット比率の有意な変化を認めなかった。SE 陽性者では B 細胞、単球上の HLA-DR 発現量増加を認めた。

D. 考察

Plasmablast, Tfh-Th17 細胞が自己抗体産生に関係していること、また CD45RA⁻CXCR5⁺CCR6⁻CXCR3⁻細胞が疾患活動性と相関があることが示唆された。早期未治療 RA 患者では多様な免疫学的異常が生じており、抗リウマチ治療によりそれらが是正されることが示唆された。

E. 結論

ヒト PBMC について、マルチカラー染色のフローサイトメトリーを用いた解析を行うことで、関節リウマチにおける多様な免疫学的異常の検討を行うことが可能となった。得られた相関関係を基礎に作業仮説を立て、各細胞集団の具体的な機能解析を行うには更なる検討が必要であるが、今後解析を重ね、関節リウマチの病因解明につなげていく方針である。

F. 健康危機情報 総括にて報告

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Shoji T, Sakamaki Y, van der Heijde D, Miyasaka N, Koike T. Efficacy and safety of certolizumab pegol plus methotrexate in Japanese rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate : the J-RAPID randomized, placebo-controlled trial. Mod Rheumatol. 2013 Dec 9. [Epub ahead of print]
2. Okada Y, et al(+94人), Yamamoto K. and Plenge RM. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. Nature. 2014;506(7488):376-381.
3. Nagafuchi Y, Sumitomo S, Soroida Y, Kanzaki T, Iwasaki Y, Michishita K, Iwai T, Ikeda H, Fujio K, Yamamoto K. The power Doppler twinkling artefact associated with periarticular calcification induced by intra-articular corticosteroid injection in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2013;72(7):1267-9.
4. Shimane K, Kochi Y, Suzuki A, Okada Y, Ishii T, Horita T, Saito K, Okamoto A, Nishimoto N, Myouzen K, Kubo M, Hirakata M, Sumida T, Takasaki Y, Yamada R, Nakamura Y, Kamatani N, Yamamoto K. An association analysis of HLA-DRB1 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in a Japanese population: effects of *09:01 allele on disease phenotypes. Rheumatology(Oxford). 2013;52(7):1172-82
5. Iwasaki Y, Fujio K, Okamura T, Yanai A, Sumitomo S, Shoda H, Tamura T, Yoshida H, Charnay P, Yamamoto K. Egr-2 transcription factor is required for Blimp-1-mediated IL-10 production in IL-27-stimulated CD4+ T cells. Eur J Immunol. 2013;43(4):1063-73.
6. 住友秀次「最新医学」68巻3号615頁2013年

2. 学会発表
特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し