

## 関節炎における Formyl peptide receptor 2 (FPR2)発現 T細胞サブセットの解析 に関する研究

研究分担者 松本 功 筑波大学医学医療系内科膠原病・リウマチ・アレルギー 准教授  
共同研究者 住田孝之 筑波大学医学医療系内科膠原病・リウマチ・アレルギー 教授  
共同研究者 田中勇希 筑波大学医学医療系内科膠原病・リウマチ・アレルギー 大学院生

研究要旨 免疫疾患において、自己反応性 T 細胞に特異的に高発現している分子は同定されていない。GPI 誘導関節炎発症早期の脾臓及び RA 患者 CD4<sup>+</sup>T 細胞において高発現が認められた Annexin-A1 とそのリガンドである Formyl peptide receptor 2 (FPR2), HC gp39 に着目し、これらによる T細胞サブセット tuning 機構と自己免疫病態への関連を検討する。

### A. 研究目的

Formyl peptide receptor 2 (FPR2)は細胞表面に存在する 7 回膜貫通型 G 蛋白共役受容体であり、炎症を正にも負にも制御する機能を保持する。そのリガンドは annexin-A1(ANX1)、lipoxin A4, serum amyloid A などが挙げられている。FPR2 は単球や T 細胞にも発現することが知られているが、我々は GPI 誘導関節炎発症早期の脾臓 CD4<sup>+</sup>T 細胞において FPR2 が高発現していることを genechip で同定した。しかしながら、関節炎、特に T 細胞における役割は未だ不明点が多い。我々は T 細胞が病態に強く関与する GPI 誘導関節炎モデル及び RA 患者サンプルを用いて FPR2 と CD4<sup>+</sup>T 細胞との関与を検討した。

### B. 研究方法

- 1) GPI 免疫後 CD4<sup>+</sup>T 細胞における FPR2 mRNA 発現を経時的に検討した。
- 2) GPI 免疫後 day7 リンパ節から FPR2<sup>+</sup>または FPR2<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞を sorting し、各 Th サブセットに特徴的なサイトカイン及び転写因子の発現を定量 PCR で検討した。
- 3) FPR2 下流 シグナルを解析するため、ナイーブ T 細胞を抗 CD3/28 抗体 + IL-6 に ANX1 添加/非添加で培養し、STAT1, STAT3 のリン酸化を計時的に FACS で確認した。
- 4) ナーブ CD4<sup>+</sup>T 細胞を Th1 および Th17 分化条件で培養し、FPR2 発現を FACS で検討した。
- 5) 健常人 (HS, n=18)、シェーグレン症候群患者 (SS, n=17) 及び関節リウマチ患者 (RA, n=26)

から単離した末梢血単核球(PBMC) 及び CD4<sup>+</sup>T 細胞, CD11b<sup>+</sup>細胞における FPR2 発現を比較検討した。

6) CD4<sup>+</sup>細胞、CD11b<sup>+</sup>細胞の FPR2 発現と ESR, CRP との相関を検討した。

(倫理面への配慮)

筑波大学の医の倫理特別委員会はすでに承認済みである。

### C. 研究結果

- 1) GPI 免疫後関節炎発症早期 day7 で FPR2 発現が亢進していた。
- 2) FPR2<sup>+</sup>T 細胞は FPR2<sup>-</sup>T 細胞と比較し IFN $\gamma$ , T-bet を高発現していた。
- 3) STAT1 のリン酸化は、ANX1 刺激後 30 分で遷延傾向を認めた。STAT3 のリン酸化には差は認めなかった。
- 4) Th1 分化条件で FPR2<sup>+</sup>T 細胞は IFN $\gamma$ 陽性細胞に高発現していた。
- 5) FPR2 は HS, SS と比較し RA 患者末梢血、特に CD4<sup>+</sup>T 細胞のみで高発現を認めた (p<0.05)。
- 6) CD4<sup>+</sup>細胞 FPR2 発現は、ESR と強い正の相関を示した (R=0.964, p<0.001)

### D. 考察

マウスにおいて FPR2 は脾臓 CD4<sup>+</sup>T 細胞に GPI 誘導関節炎発症早期に発現上昇が認められ、FPR2<sup>+</sup>T 細胞は Th1 phenotype を有していた。また RA 患者においても CD4<sup>+</sup>T 細胞に高発現を認め、炎症反応とのリンクが認められた。

## E. 結論

FPR2<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞はRAにおいて重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

## F. 健康危機情報 総括にて報告

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Umeda N, Matsumoto I, Ito I, Kawasaki A, Tanaka Y, Inoue A, Tanaka Y, Tsuboi H, Suzuki T, Hayashi T, Ito S, Tsuchiya N, Sumida T. Anti-citrullinated glucose-6-phosphate isomerase peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis are associated with HLA-DRB1 shared epitope alleles and disease activity. *Clin. Exp. Immunol.* 172: 44-53, 2013
2. Tsuboi H, Hagiwara S, Asashima H, Umehara H, Kawakami A, Nakamura H, Sano H, Tsubota K, Ogawa Y, Takamura E, Saito I, Inoue H, Nakamura S, Moriyama M, Takeuchi T, Tanaka Y, Hirata S, Mimori T, Matsumoto I, Sumida T. Validation of different sets of criteria for the diagnosis of Sjogren's syndrome in Japanese patients. *Mod. Rheumatol* 23: 219-225, 2013
3. Furukawa H, Kawasaki A, Oka S, Shimada K, Masui T, Ikenaka T, Hashimoto A, Okazaki Y, Takaoka H, Futami H, Komiyama A, Kondo Y, Ito S, Hayashi T, Matsumoto I, Kusaoi M, Takasaki Y, Nagai T, Hirohata S, Setoguchi K, Suda A, Nagaoka S, Kono H, Okamoto A, Chiba N, Suematsu E, Fukui N, Hashimoto H, Sumida T, Ono M, Tsuchiya N, Tohma S: Association of a Single Nucleotide Polymorphism in the SH2D1A Intronic Region with Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus* 22:497-503, 2013
4. Iizuka M, Tsuboi H, Matsuo N, Kondo Y, Asashima H, Matsui M, Matsumoto I, Sumida T. The crucial roles of IFN-g in the development of M3 muscarinic acetylcholine receptor induced Sjogren's syndrome-like sialadenitis. *Mod. Rheumatol* 23:614-616, 2013
5. Suzuki T, Horikoshi M, Sugihara M, Hirota T, Ogishima H, Umeda N, Kondo Y, Tsuboi H, Hayashi T, Chino Y, Matsumoto I, Sumida T. Therapeutic efficacy of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor inhibitors: One year follow-up by low-field extremity MRI. *Mod. Rheumatol.* 23:782-7,2013
6. Ogishima H, Tsuboi H, Naoto Umeda, Horikoshi M, Kondo Y, Sugihara M, Suzuki T, Matsumoto I, Sumida T. Analysis of subclinical synovitis detected by ultrasonography and low-field magnetic resonance imaging in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 24:60-68,2014
7. Ito S, Ogishima H, Kondo Y, Sugihara M, Hayashi T, Chino Y, Goto D, Matsumoto I, Sumida T: Early diagnosis and treatment of steroid-induced diabetes mellitus in patients with rheumatoid arthritis and other connective tissue diseases. *Mod Rheumatol* 21:52-59,2014
8. Hagiya C, Tsuboi H, Yokosawa M, Hagiwara S, Takai C, Hirota T, Asashima H, Miki H, Umeda N, Horikoshi M, Kondo Y, Sugihara M, Ogishima H, Suzuki T, Hiraoka T, Kaji Y, Matsumoto I, Ohshika T, Sumida T. Clinicopathological features of IgG4-related disease complicated with orbital involvement. *Mod Rheumatol* (in press)
9. Yokosawa M, Tsuboi H, Nasu K, Hagiya C, Hagiwara S, Ogishima H, Hirota T, Horikoshi M, Kondo Y, Sugihara M, Suzuki T, Minami M, Bukawa H, Matsumoto I, Sumida T. Usefulness of MR imaging of the parotid glands in patients with Sjogren's syndrome. *Rheumatology*(in press)
10. Tsuboi H, Asashima H, Takai C, Hagiwara S, Hagiya C, Yokosawa M, Hirota T, Umehara H, Kawakami A, Nakamura H, Sano H, Tsubota K, Ogawa Y, Takamura E, Saito I, Inoue H, Nakamura S, Moriyama M, Takeuchi T, Tanaka Y, Hirata S, Mimori T, Yoshifuji H, Ohta A, Matsumoto I, Sumida T. Primary and secondary surveys on epidemiology of Sjogren's syndrome in Japan. *Mod Rheumatol* (in press)

11. Iizuka M, Tsuboi H, Asashima H, Hirota T, Kondo Y, Matsui M, Matsumoto I, Sumida T. M3 muscarinic acetylcholine receptor reactive IL-17- producing T cells promotes development of Sjogren's syndrome like sialadenitis. Mod Rheumatol (in press)
12. Furukawa H, Kawasaki A, Oka S, Ito I, Shimada K, Sugii S, Hashimoto A, Komiya A, Fukui N, Kondo Y, Ito S, Hayashi T, Matsumoto I, Kusaoi M, Amano H, Nagai T, Hirohara S, Setoguchi K, Kono H, Okamoto A, Chiba N, Suematsu E, Katayama M, Migita K, Suda A, Ohno S, Hashimoto H, Takasaki Y, Sumida T, Nagaoka S, Tsuchiya N, Tohma S. Human Leukocyte Antigens and Systemic Lupus Erythematosus: A Protective Role for the HLA-DR6 alleles DRB1\*13:02 and \*14:03. PLoS One(in press)

## 2. 学会発表

1. Matsumoto I. Role of IL-6 and TNF $\alpha$ -induced proteins in autoimmune arthritis JSICR and MIMCB (Tokyo), 5月20日,2013
2. Matsumoto I: The regulatory role of TNF-induced protein9(TNFAIP9) in arthritis with mice and humans. Autoimmunity Congress Asia 2013 Satellite Symposium (Hong Kong) 11月21日、2013

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他