

関節リウマチ患者における包括的臨床免疫解析の試み

分担研究者 山本 一彦 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 教授
研究協力者 住友 秀次 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 助教
永淵 泰雄 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 大学院生
藤尾 圭志 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 講師

研究要旨 ヒトにおける、関節リウマチ(RA)の免疫学的異常と臨床像、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、RA 患者末梢血の免疫学的解析を行った。その結果、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、Memory T 細胞の CXCR4 陽性率が、疾患活動性、B 細胞の HLA-DR 発現量と正の相関を示すことが明らかとなった。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。

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、健康人 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)

ヒト検体を用いた実験であることから、検体採取方法・個人情報保護方法・同意取得方法などに関して東京大学医学部研究倫理審査申請を行い、平成 25 年 6 月 12 日に承認され(審査番号 10154)それに従って研究を進めた。

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、健康人、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が、SE 陽性者では B 細胞、単球上の HLA-DR 発現量増加を認めた。

興味深いことに、RA 患者ではすべての CD4 分画において遊走に関わるケモカインレセプター CXCR4 発現が亢進していた。CD4⁺CD45RA⁺Memory T 細胞の CXCR4 陽性率は、DAS28、抗 CCP 抗体値と正の相関を示し、また B 細胞の HLA-DR 発現量とも正の相関を示した。

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。

また、RA 患者 CD4 陽性 T 細胞における CXCR4 発現亢進は、遊走能と関係があると考えられるが、B 細胞上 HLA-DR 発現によって CXCR4 発現が誘導される可能性が示唆され、更なる検討を行っている。

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

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

住友秀次「医学のあゆみ」250 巻 1 号 41-46 頁
2015 年 1 月

2. 学会発表

第 58 回日本リウマチ学会（平成 26 年 4 月 25 日）「関節リウマチ患者における包括的臨床免疫解析の試み」永淵泰雄、住友秀次、藤尾圭志、山本一彦ほか

第 35 回日本炎症・再生医学会（平成 27 年 7 月 2 日）「関節リウマチ患者における包括的臨床免疫解析の試み」永淵泰雄、住友秀次、藤尾圭志、山本一彦ほか

第 42 回日本臨床免疫学会（平成 26 年 9 月 25 日）「関節リウマチ患者における包括的臨床免疫解析の試み」永淵泰雄、住友秀次、藤尾圭志、山本一彦ほか

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし