

関節炎における HC gp-39 及び 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⁺T 細胞において高発現が認められた Human cartilage glycoprotein-39 (HC gp39), Formyl peptide receptor 2 (FPR2), 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

我々は GPI 誘導関節炎(GIA)発症早期の脾臓 CD4⁺T 細胞において HC gp-39 及び FPR2 が高発現していることを genechip で同定した。HC gp-39 は、主に好中球、マクロファージなどに発現する分子であり、関節リウマチ(RA)において自己抗原として同定されている。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、単球及び T 細胞にも発現することが知られている。昨年までの報告で、GIA において、HC gp-39 分子が抗原特異的 T 細胞に高発現していること、FPR2⁺ T 細胞は FPR2-T 細胞と比較し IFN γ , T-bet を高発現し、Th1 phenotype を呈しており、RA 患者 CD4⁺T 細胞でも健康人(HS)と比較し FPRL-1(ヒト FPR2 homolog) 発現が増加していることを報告した。GIA 及び RA 患者サンプルを用いて HC gp-39, FPR2 と CD4⁺T 細胞サブセットとの関連をさらに検討した。

B. 研究方法

- 1) GIA 脾臓より T 細胞を採取し、GPI 及びコントロール(GST)で刺激し、Th1, Th17 および Treg における HC gp-39 発現を比較解析した。
- 2) recombinant HC gp-39 (rHC gp-39) を用いて GIA 脾臓 T 細胞の増殖および IFN γ (Th1)および IL-17 (Th17)産生を検討した。
- 3) GIA よりリンパ節を採取し、GPI 及びコントロールで刺激し、FPR2 陰性及び陽性細胞における抗原特異的 IFN γ の発現を比較検討した。
- 4) RA 患者(n=20)及び HS(n=18)より CD4⁺T 細胞を

単離し、HC gp-39, FPRL-1 の mRNA 発現を比較解析した。

5) RA 患者 FPRL-1 の発現を FACS 解析にて CD4⁺及び CD14⁺細胞で検討し、また CD4 陽性細胞を CXCR3+CCR6⁻(Th1) 、 CXCR3-CCR6⁺(Th17), CXCR3-CCR6⁻(Th2)細胞に選り分け、分離し、FPR2 の mRNA 発現を検討した。

(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) HC gp-39 は CD25⁺Foxp3⁺Treg にのみ高発現を認め、特に抗原特異的 Treg で発現が上昇していた。
- 2) rHC gp-39 は抗原特異的 T 細胞増殖および Th1 および Th17 からのサイトカイン産生を顕著に抑制した ($p < 0.05$)。
- 3) GPI 刺激により FPR2 陽性細胞が上昇し (12.2%) 26%の FPR2 陽性細胞が IFN γ を発現していた。一方 FPR2 陰性細胞では IFN γ 発現が認められなかった。
- 4) HC gp-39, FPRL-1 mRNA とともに RA 患者 CD4⁺T 細胞に有意に高発現していた ($p < 0.05$)。
- 5) 一部の RA 患者で FPRL-1 の CD4⁺細胞での発現を認めた。CD14⁺細胞には RA, HS とも強い発現が認められた。

D. 考察

関節炎マウスにおいて HC gp-39 は CD25⁺Foxp3⁺

Treg に、FPR2 は Th1(特に抗原特異的)に局在していた。また RA 患者においても HC gp-39, FPRL-1 ともに mRNA レベルで CD4⁺T 細胞に高発現を認めた。

2. 実用新案登録
なし
3. その他

E. 結論

関節炎において、HC gp-39 は CD4⁺Treg 細胞に発現し制御的に、FPR2 は CD4⁺Th1 細胞に発現し、両分子ともに RA 患者 CD4⁺T 細胞に高発現していることから、病態への関与が考えられた。

F. 健康危機情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表
 1. Tanaka Y, *Matsumoto I, Inoue A, Umeda N, Takai C, Sumida T. Antigen-specific overexpression of human cartilage glycoprotein 39 on CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg cells in the generation of glucose-6-phosphate isomerase induced arthritis. Clin Exp Immunol 177:419-27, 2014
 2. *Matsumoto I, Inoue A, Takai C, Umeda N, Tanaka Y, Kurashima Y, Sumida T. Regulatory roles of tumor necrosis factor alpha-induced proteins (TNFAIP) 3 and 9 in arthritis. Clin Immunol 153:73-78, 2014
 3. 松本功 T 細胞分化制御による関節炎治療 リウマチ科 51:559-563, 2014
 4. 松本功 関節リウマチの分子標的 細胞 46:475-478, 2014
2. 学会発表
 1. 田中 勇希, 松本 功, 井上 明日香, 梅田 直人, 高井 千夏, 倉島 悠子, 川口 星美, 住田 孝之 HC gp-39 は関節炎において Foxp3⁺Treg に発現し抗原特異的 Th1 および Th17 を抑制する。第 42 回日本臨床免疫学会、2014

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