

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)は制御性 T 細胞サブセットに、Formyl peptide receptor 2 (FPR2)は Th1 細胞サブセットに特異的に発現し、ヒト CD4 陽性 T 細胞でも RA 患者で発現上昇していることが明らかにされた。これらによる T 細胞サブセット tuning 機構が自己免疫病態に関連していることが考えられる。

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。GIA 及び RA 患者サンプルを用いて HC gp-39, FPR2(ヒト FPRL-1)と CD4⁺T 細胞サブセットとの関連を検討した。

B. 研究方法

- 1) GIA 脾臓 CD4⁺T 細胞における HC gp-39, FPR2 mRNA 発現を経時的に検討した。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4) GPI 免疫後 day7 リンパ節から FPR2⁺または FPR2⁻CD4⁺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。

- 5) 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。

- 6) RA 患者 FPRL-1 の発現を FACS 解析にて CD4⁺及び CD14⁺細胞で検討し、CD4⁺細胞、CD11b⁺細胞の FPRL-1 発現と ESR, CRP との相関を検討した。

C. 研究結果

- 1) GIA 早期 day7 の CD4⁺細胞で HC gp-39, FPR2 両者とも発現が亢進していた。
- 2) 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。
- 3) 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)。
- 4) FPR2⁺ T 細胞は FPR2⁻T 細胞と比較し IFN γ , T-bet を高発現し、Th1 特異的と考えられた。
- 5) 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)。
- 6) 一部の RA 患者で FPRL-1 の CD4⁺細胞での発現を認めた。CD4⁺細胞 FPRL-1 発現は、ESR と強い正の相関を示した (R=0.964, p<0.001)

(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。

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 細胞に高発現し、蛋白レベルで発現上昇している RA 患者も存在した。

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

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. Grunewald TG, Bach H, Cossarizza A, Matsumoto I. The STEAP Protein Family: Versatile Oxidoreductases and Targets for Cancer Immunotherapy with Overlapping and Distinct Cellular Functions. Biol Cell. 104:641-657, 2012
4. Inoue A, Matsumoto I, Tanaka Y, Umeda N, Tanaka Y, Mihara M, Takahashi S, Sumida T. Murine tumor necrosis factor α -induced adipose-related protein (tumor necrosis factor α -induced protein 9) deficiency leads to arthritis via interleukin-6 overproduction with enhanced NF- κ B, STAT-3 signaling, and dysregulated apoptosis of macrophages. Arthritis Rheum 64:3877-3885, 2012
5. Kondo Y, Iizuka M, Wakamatsu E, Yao Z, Tahara M, Tsuboi H, Sugihara M, Hayashi T, Yoh K, Takahashi S, Matsumoto I, and Sumida T. Overexpression of T-bet gene regulates murine autoimmune arthritis. Arthritis Rheum. 64:162-172, 2012
6. 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

7. 松本功 関節リウマチの分子標的 細胞 46:475-478, 2014
8. 松本功 特集:関節リウマチ 関節リウマチの動物モデルとその臨床的意義 Medical Practice 36: 564-567, 2013
9. 松本功 関節リウマチにおける Th17 細胞と抗 IL-17, 23 抗体療法 最新医学 67: 275-280, 2012
10. 松本功 関節リウマチ診療 update IL-17 阻害は有効か? 内科 南江堂 109:659-663, 2012

2. 学会発表

1. Tanaka Y, Matsumoto I, Inoue A, Umeda N, Takai C, Kurashima Y, Kawaguchi H, Sumida T. Specific overexpression of FPR2 (FPRL-1) on Th1 cells in GPI-induced arthritis and patients with rheumatoid arthritis. American college of rheumatology annual meeting, Boston, 2014
2. Matsumoto I. Autoimmune arthritis mediated by glycolytic enzyme- focusing on regulatory TNF α -induced protein- International Congress on Autoimmunology, Granada , 2012
3. 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
4. 松本功:関節リウマチの病因論 update 第 16 回リウマチフォーラム(品川) 2012

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

なし