

発症早期関節炎の末梢血における T 細胞の解析

分担研究者 小竹 茂 東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター内科 准教授
 研究協力者 南家由紀 同 講師、川本 学 同 研究室

研究要旨 Th17 はある条件のもと Th1 へ変化するという可塑性(plasticity)が最近注目されている。しかし、関節リウマチの発症早期の病態において不明である。今回、発症早期かつ未治療の関節リウマチ(rheumatoid arthritis, RA)の患者の末梢血におけるヘルパーT 細胞を Th17 細胞分画およびこの分画細胞のサイトカインの発現を解析した。はじめにサイトカインによる分類、次に CD161 発現とサイトカインによる分類、最後に当研究班採用の CD 発現による分類とサイトカインを組み合わせて解析した。最終的には、早期 RA においては IFN γ 産生 Th17 細胞比が抗 CCP 抗体値と関連している可能性が示唆された。

A. 研究目的

Th17 の可塑性が最近注目されている。しかし、関節リウマチの発症早期の病態において不明である。今回、発症早期かつ未治療の関節リウマチの患者の末梢血におけるヘルパーT 細胞を Th17 細胞分画およびこの分画細胞のサイトカインの発現を解析した。

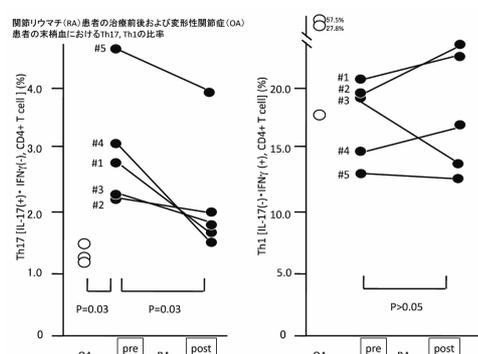
B. 研究方法

外来を受診した発症 1 年以内未治療の RA 患者を対象とし、対照疾患として変形性関節症患者(OA)を検討した。3 回の解析での患者群は異なる。末梢血をフローサイトメトリー法により解析した。はじめに細胞内サイトカイン産生パターン(IL-17, IFN γ)による分類、次に CD161 発現とサイトカイン産生パターンによる分類、最後に当研究班採用の CD 発現による分類とサイトカイン産生パターンを組み合わせて解析した。(倫理面への配慮)

東京女子医科大学倫理委員会にて臨床研究として承認されている(承認番号 2849 および 3178)。

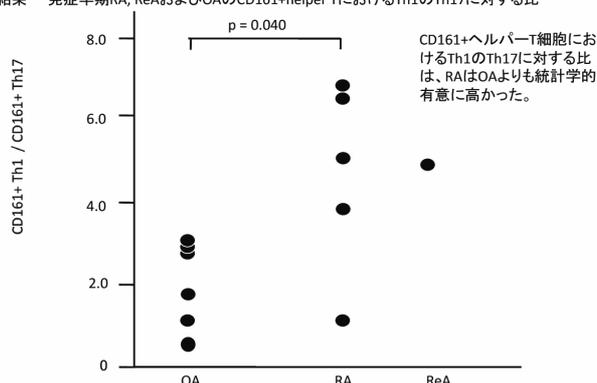
C. 研究結果

はじめの検討では、早期 RA では 1) OA に比べ Th17 の関与が示唆され、2) MTX 治療により Th17 の比率が減少した。



次ぎの解析では CD161+ヘルパーT 細胞における Th1 の Th17 に対する比は RA において OA よりも高かった。

結果 発症早期RA, ReAおよびOAのCD161+helper T細胞におけるTh1のTh17に対する比



最後の解析では、1)CCR6 および CXCR3 の発現で 4 分割した場合、CCR6+CXCR3-分画に IL-17 産生細胞の約 80% が認められた [Kruskal-Wallis, p=0.0014(RA), p=0.00017(OA)] (図)。さらにこの

分画の IL-17 産生細胞の約 80%は CD161+細胞であった。

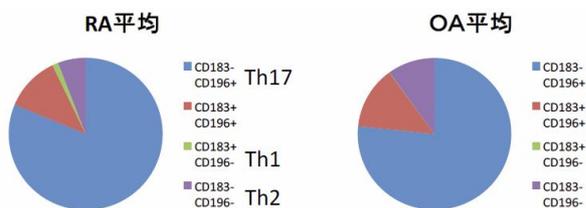
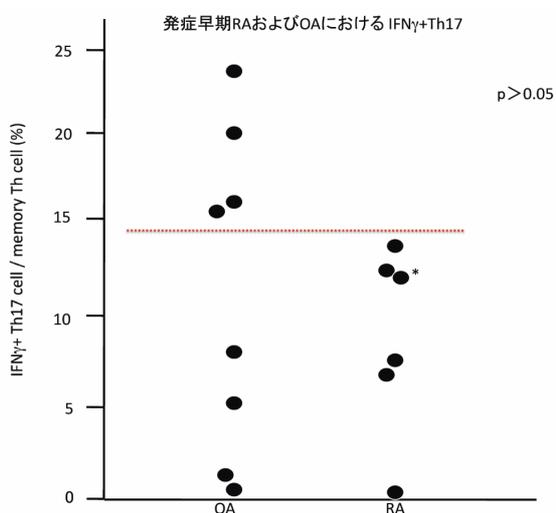
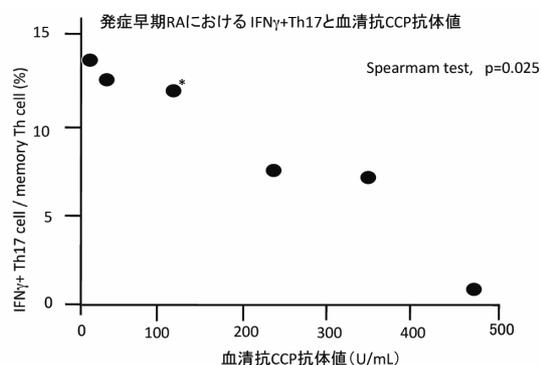


図 CCR6, CXCR3 で分割した場合、IL 17 産生細胞の含まれる比率。

IFN γ +Th17 細胞の memory Th 細胞に対する比率は RA と OA の間に統計学的有意差は認められなかった。しかし、RA において OA よりも少ない傾向が認められた。



RA の IFN γ +Th17 細胞の memory Th 細胞に対する比率は血清抗 CCP 抗体値と負の相関を示した (Spearman test, $p=0.025$)



D. 考察

最後の解析より、Th17 細胞に関して当研究班の

分類法の妥当性が示された。我々の検討での、未治療早期 RA における、IFN γ +Th17 細胞の CD4+ 細胞に対する比率の低値傾向および、抗 CCP 抗体値と有意な負の相関から、IFN γ +Th17 細胞が滑膜に集積して滑膜炎に関与している可能性が示唆されるかもしれない。今後さらに症例数を増やし検討する。

E. 結論

Th17 細胞に関して当研究班の分類法の妥当性が示された。早期 RA においては IFN γ 産生 Th17 細胞比が抗 CCP 抗体値と関連している可能性が示唆された。今後さらに症例数を増やし検討する。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 南家由紀、小竹 茂 最新医学 M-CSF/GM-CSF 66-72, 2014.
- 2)小竹 茂 関節リウマチ治療における滑膜切除術の適応 Ortho Interfac, Salvus 31 2014, in press.
- 3)南家由紀 小竹 茂 ステロイドの上手な減らし方 臨床と研究 91(4), 11-13, 2014.
- 4)小竹 茂、山中寿 関節リウマチ medichina 50 (3),420-423, 2013.
- 5)小竹 茂、南家由紀 腸炎性関節炎. 臨床消化器内科 28 (5), 585-591, 2013.
- 6)小竹 茂 関節リウマチ 病態 Evidence Based Medicine を活かす膠原病・リウマチ診療 改訂第 3 版 山中寿監修 Medical View 社 18-22, 2013.
- 7)小竹 茂 脊椎関節炎 Evidence Based Medicine を活かす膠原病・リウマチ診療 改訂第 3 版 山中寿監修 Medical View 社 438-462, 2013.
- 8)八子 徹、南家由紀、川本 学、小竹 茂 転写因子 RBP-J による骨びらんの抑制. リウマチ科 48 (5)581-6, 2012.
- 9)小竹 茂、南家由紀 腸炎性関節炎 enteropathic arthritis 日本脊椎関節炎学会誌 Vol. 4(1) 19-25, 2012.2.

海外

- 1) Nanke Y, Kobashigawa T, Yago T, Kawamoto M, Yamanaka H, Kotake S. A novel peptide from TCTA protein inhibits proliferation of fibroblast-like synoviocyte (FLS) from rheumatoid arthritis patients. *Centr Eur J Immunol*, 2015. in press.
- 2) Kobashigawa T, Nanke Y, Takazoe M, Iihara K, Yamanaka H, Kotake S. A Case of Human Leukocyte Antigen (HLA) B27-Positive Intestinal Behçet's Disease with Crohn's Disease-Like Anal Fistulas. *Clin Med Insights Case Rep* 7:13-9. 2014.
- 3) Kotake S, Nanke Y. Effect of TNF on osteoblastogenesis from mesenchymal stem cells. *Biochim Biophys Acta*. 1840(3):1209-13, 2014.
- 4) Kotake S, Yago T, Kawamoto M, Nanke Y. Human receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) induces osteoclastogenesis of primates in vitro. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 48(9):593-8, 2012.
- 5) Yago T, Nanke Y, Kawamoto M, Yamanaka H, Kotake S. Tacrolimus potently inhibits human osteoclastogenesis induced by IL-17 from human monocytes alone and suppresses human Th17 differentiation. *Cytokine*. 59(2):252-7, 2012.
- 6) Nanke N, Ishiguro N, Yago T, Kobashigawa T, Hashida T, Kotake S. The role of regulatory T cells in mice with experimental autoimmune uveitis – a preliminary study. *Centr Eur J Immunol*, 37 (2): 102-105, 2012.
- 7) Nanke Y, Kobashigawa T, Yago T, Kawamoto M, Yamanaka H, Kotake S. Tumor necrosis factor- α and matrix metalloproteinase-3 production in rheumatoid arthritis synovial tissue is inhibited by blocking gap junction communication. *Centr Eur J Immunol*, 37 (3): 237-242, 2012.

学会発表

- 1) 小竹 茂、南家由紀、八子 徹、川本 学、山中 寿 ヒト破骨細胞の細胞膜には voltage-dependent anion channel (VDAC)が発現しており分化を制御している 第2報: Time lapse 装置による観察 第58回日本リウマチ学会総会・学術集会 P2-016 2014.4.25
- 2) 小竹 茂, 八子 徹, 川本 学, 南家由紀 T cell leukemia translocation-associated gene(TCTA) 遺伝子導入マウスにおける骨解析 0-050 第32回日本骨代謝学会 2014.7.25.大阪
- 3) 小竹 茂 シンポジウム S11 リウマチ性疾患とヒト免疫 S11-4 関節リウマチとヘルパーT細胞の役割 第57回日本リウマチ学会学術集会(京都) 2013年
- 4) 小竹 茂 日本リウマチ学会学術集会(東京) シンポジウム関節破壊を制御する治療法の新展開 - from bench to bed - 4. 関節リウマチにおける免疫異常と骨破壊 ~ヒト破骨細胞分化の制御機構の解明~ 第56回日本リウマチ学会学術集会(東京) 2012年
- 5) 小竹 茂 教育研修講演『Osteoclastogenesis ヒト破骨細胞分化の機序の解明 1990-2012』第56回日本リウマチ学会総会・学術集会(東京) 2012年
- 6) 小竹 茂 リウマチ性疾患に関連した骨粗鬆症の薬物治療 第1回世田谷区骨形成セミナー 2012年
- 7) 小竹 茂、南家由紀 教育講演『反応性関節炎』脊椎関節炎学会(岡山) 2012年
- 8) 小竹 茂 特別講演『関節リウマチをはじめとする膠原病におけるT細胞の役割』第1回福島臨床プライマリー連携セミナー 2012年 海外
- 1) Nanke Y, Kobashigawa T, Yago T, Kawamoto M, Yamanaka H, Kotake S. Detection of IFN-gamma+IL-17+ cells in salivary glands from patients with Sjögren's syndrome and Miklicz's disease, P1-23, 12th International Symposium of Sjogren's syndrome (2013.10 Kyoto), 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
なし