

氏 名	井上 嘉乃
<p><b>論文題目</b> (欧文の場合、和訳を付すこと)</p> <p>T helper cells expressing fractalkine receptor and bearing T follicular helper 1-like cell functions in patients with IgG4-related disease (IgG4 関連疾患患者におけるフラクタルカイン受容体を発現し T follicular helper 1 様の機能を有するヘルパーT 細胞)</p>	
<p><b>論文要旨</b></p> <p><b>【目的】</b> フラクタルカイン (CX<sub>3</sub>CL1) は末梢組織の血管内皮細胞などに発現し、フラクタルカイン受容体 (CX<sub>3</sub>CR1) 陽性細胞の接着と移動を媒介する特徴的なケモカインである。IgG4 関連疾患の病理学的特徴は、リンパ球の組織内への浸潤と病変部の線維化変化であり、IgG4 関連疾患患者におけるフラクタルカインとリンパ球サブセットの意義を検討した。</p> <p><b>【方法】</b> IgG4 関連疾患患者 (n=16)、関節リウマチ (n=10)、健常人 (n=10) から末梢血中のフラクタルカイン受容体 (CX<sub>3</sub>CR1) 陽性細胞の割合をフローサイトメトリーで解析した。IgG4 関連疾患患者または Sicca 症候群患者の唾液腺を用いて免疫二重染色を行い、CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞の局在を検討した。さらに in vitro で健常人のナイーブ CD4 陽性細胞を分離した後に、T 細胞受容体 (TCR) と様々なサイトカインによる刺激を行い、CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞を誘導し、その特徴を調べた。健常人末梢血から CX<sub>3</sub>CR1 陽性または CX<sub>3</sub>CR1 陰性 CD4 陽性 T 細胞を分離し、ナイーブ B 細胞と 7 日間共培養し、B 細胞の表現型をフローサイトメトリーで解析し、培養上清中の免疫グロブリンを ELISA およびサイトメトリックビーズアレイを用いて測定した。</p> <p><b>【結果・考察】</b> 末梢血中 CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞では IgG4-RD 患者および関節リウマチ患者の方が健常人よりも有意に CX<sub>3</sub>CR1 陽性細胞の割合が高かった。さらに、IgG4-RD 患者での CD4 陽性 T 細胞における CX<sub>3</sub>CR1 陽性細胞の比率は血清 IgG4 値および IgG 値と正に相関したが、CD8 陽性 T 細胞ではそれらの相関はみられなかった。CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞はケモカイン受容体である CCR7、CCR4、CCR6 を発現せず、ヘルパーT 細胞 1 (Th1) に特徴的な CXCR3、濾胞性ヘルパーT 細胞 (Tfh) に特徴的な CXCR5 を発現していた。また、Tfh 細胞の共刺激分子である PD-1 を強く発現しており活性化した細胞であると考えられた。IgG4-RD の小唾液腺組織においては CD4、CX<sub>3</sub>CR1 両者陽性の細胞が多数浸潤し、その近傍に IgG、IgG4 陽性形質細胞が浸潤していた。一方、Sicca 症候群では CX<sub>3</sub>CR1 陽性細胞の浸潤はみられなかった。in vitro での分化誘導実験を行うと、TCR 刺激下で IL-12 の添加により CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞が高率に誘導された。そして誘導された CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞は陰性細胞よりも CXCR3 と CXCR5、T-bet と Bcl-6 を有意に高発現し、IFN-<math>\gamma</math>、IL-21 を産生した。Staphylococcal enterotoxin B (SEB) と Toll like receptor9 (CpG) の存在下に in vitro で T 細胞と B 細胞を 7 日間共培養すると、B 細胞は CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞の存在下で CD38<sup>+</sup>CD27<sup>hi</sup> 形質芽細胞、IgD<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>IgM memory B 細胞、IgD<sup>-</sup>CD27<sup>+</sup>class switched memory B 細胞の割合が増加した。また CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞の存在下で IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 の産生が亢進したが、CX<sub>3</sub>CR1 陰性 CD4<sup>+</sup> T 細胞には産生はみられなかった。</p> <p><b>【結論】</b> フラクタルカイン受容体陽性 CD4 陽性 T 細胞は、IgG4 関連疾患患者の末梢血および患部組織で特徴的に増加し、血清 IgG4 値の上昇と関連していた。この CD4 陽性 T 細胞サブセットは、Th1/Tfh 様の表現型、即ち、炎症病態を誘導する機能と B 細胞の分化を誘導する機能を有しており、IgG4 関連疾患の病態において重要な役割を担う可能性が考えられた。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	井上 嘉乃		
論文審査委員	主査	所属	第 2 病理学
	副査	所属	第 3 内科学
	副査	所属	耳鼻咽喉科学
			中山 敏幸
			原田 大
			鈴木 秀明

論文題目  
T helper cells expressing fractalkine receptor and bearing T follicular helper 1-like cell functions in patients with IgG4-related disease  
(IgG4 関連疾患患者におけるフラクタルカイン受容体を発現し T follicular helper 1 様の機能を有するヘルパーT 細胞)

学位論文審査結果要旨  
フラクタルカイン(CX<sub>3</sub>CL1)は血管内皮細胞等に発現し、リンパ球など、フラクタルカイン受容体(CX<sub>3</sub>CR1)陽性細胞の接着と移動を媒介するケモカインの一つである。IgG4 関連疾患の病理学的特徴は、リンパ球の組織内への浸潤と病変部の線維化変化である。今回申請者は、IgG4 関連疾患患者におけるフラクタルカインとリンパ球サブセットの関連を検討した。  
IgG4 関連疾患患者(16 例)及び関節リウマチ(10 例)、健常人(10 例)の末梢血を用い、フラクタルカイン受容体(CX<sub>3</sub>CR1)陽性細胞の割合をフローサイトメトリーで解析した。IgG4 関連疾患患者または Sicca 症候群患者の唾液腺組織を用いて免疫二重染色を行い、CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞の局在を検討した。また、in vitro で健常人のナイーブ CD4 陽性細胞を分離した後に、T 細胞受容体(TCR)と様々なサイトカインによる刺激を行い、CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞を誘導し、その特徴を検討した。健常人末梢血から CX<sub>3</sub>CR1 陽性または CX<sub>3</sub>CR1 陰性 CD4 陽性 T 細胞を分離し、ナイーブ B 細胞と 7 日間共培養し、B 細胞の表現型をフローサイトメトリーで解析し、ELISA およびサイトメトリックビーズアレイを用いて培養上清中の免疫グロブリンを測定した。  
末梢血中の CD4 陽性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞では、健常人よりも IgG4-RD 患者および関節リウマチ患者の方が有意に CX<sub>3</sub>CR1 陽性細胞の割合が高かった。IgG4-RD 患者での CD4 陽性 T 細胞における CX<sub>3</sub>CR1 陽性細胞の比率は血清 IgG4 値および IgG 値と相関したが、CD8 陽性 T 細胞ではそれらの関連は認められなかった。CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞はケモカイン受容体である CCR7、CCR4、CCR6 を発現せず、ヘルパー T 細胞 1(Th1)に特徴的な CXCR3、濾胞性ヘルパー T 細胞(Tfh)に特徴的な CXCR5 を発現していた。また、Tfh 細胞の共刺激分子である PD-1 を強く発現しており活性化した細胞であると考えられた。IgG4-RD の小唾液腺組織においては CD4、CX<sub>3</sub>CR1 両者陽性の細胞が多数浸潤し、その近傍に IgG、IgG4 陽性形質細胞が浸潤していた。一方、Sicca 症候群では CX<sub>3</sub>CR1 陽性細胞の浸潤はみられなかった。in vitro での分化誘導実験では、TCR 刺激下で IL-12 の添加により CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞が誘導され、誘導された CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞は陰性細胞よりも CXCR3 と CXCR5、T-bet と Bcl-6 を有意に高発現し、IFN- $\gamma$  や IL-21 を産生した。Staphylococcal enterotoxin B (SEB)と Toll like receptor9 (CpG)の存在下に in vitro で T 細胞と B 細胞を 7 日間共培養すると、B 細胞は CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞の存在下で CD38<sup>+</sup>CD27<sup>hi</sup> 形質芽細胞や IgD<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>IgM memory B 細胞、IgD<sup>-</sup>CD27<sup>+</sup>class switched memory B 細胞の割合が増加した。また CX<sub>3</sub>CR1 陽性 CD4 陽性 T 細胞の存在下で IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 の産生が亢進したが、CX<sub>3</sub>CR1 陰性 CD4<sup>+</sup> T 細胞に産生は認められなかった。  
IgG4 関連疾患患者の末梢血および患部組織では、フラクタルカイン受容体陽性 CD4 陽性 T 細胞は増加し、血清 IgG4 値の上昇と相関していた。CD4 陽性 T 細胞サブセットは、Th1/Tfh 様の表現型(炎症病態を誘導する機能と B 細胞の分化を誘導する機能)を有していると考えられ、IgG4 関連疾患の病態において重要な役割を担う可能性が示唆された。

本研究は、IgG4 関連疾患におけるフラクタルカインを介する新たな機序の一つを示したものであり、今後のより詳細な病態解明や新しい治療方法開発の可能性を有していることから、本学の学位論文として適格と判断した。