



Title	SCIDマウスを用いた慢性関節リウマチにおける PathogenicT細胞の特定へのアプローチ
Author(s)	美馬, 亨
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39025
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていない ため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利 用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文につい てをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	美 馬 亨 ^{とおる}
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 7 8 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 7 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	SCID マウスを用いた慢性関節リウマチにおける Pathogenic T 細胞の 特定へのアプローチ
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岸 本 忠 三 (副査) 教 授 宮 坂 昌 之 教 授 越 智 隆 弘

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

慢性関節リウマチ (RA) は、滑膜増殖を伴った骨破壊性の多関節炎を特徴とする代表的な全身性の慢性炎症性疾患の一つである。RA の病因はまだ明らかにされていないが、これまでの研究結果からその発症に T 細胞の関与 (Pathogenic T 細胞の存在) が示唆されている。実際、Pathogenic T 細胞を特定するために、これまでに RA 患者の罹患関節に浸潤している T 細胞の T 細胞レセプター (TCR) のレパトアが精力的に検討されてきたが、まだ一定の結論はでていない。その大きな原因の一つは、RA の Pathogenesis が単一でないことによるものと考えられる。したがって、Pathogenic T 細胞を特定するためには、T 細胞が関与していると考えられる RA で TCR レパトアについて解析を行なう必要がある。そこで、我々は、病変部に浸潤している T 細胞の Pathogenicity を検討するために、RA 患者の罹患関節より得た単核球 (主に T 細胞) を SCID マウスの膝関節腔内に局所移入し、移入した関節に滑膜増殖が誘導されるか否かを検討した。さらに、誘導した患者について病変局所の T 細胞の TCR/V β レパトアを解析した。

【方法ならびに成績】

RA 患者の罹患関節から、関節液または滑膜組織を採取し、単核球を分離した。分離した単核球 $1.0 \times 10^5 - 10^6$ を、SCID マウスの後肢の膝関節腔内に直接移入した。移入したマウスにおいては、肉眼的な関節炎の徴候 (関節腫脹、関節の可動性の低下や歩行障害) はみられなかった。そこで、移入後 4 - 8 週後にマウスを屠殺し、病理組織学的検討を行なった。単核球を移入したマウスの一部で、移入した関節に滑膜増殖がみられた。一方、他の非 RA 関節炎患者の関節液中の単核球や健康人の末梢血単核球を移入した場合には、マウスに滑膜増殖はみられなかった。したがって、RA 患者の関節より得た単核球を移入した場合に、マウスにみられた滑膜増殖は GvH (Graft vs Host) 反応など非特異的なものによるのではないものと考えられた。また、興味深いことに、すべての RA 患者において滑膜増殖が誘導されたわけではなかった。つまり、RA 患者には、滑膜増殖を誘導する群 (陽性群) とそうでない群 (陰性群) の少なくとも 2 群が存在することが示唆された。

次に、滑膜増殖における T 細胞の関与を証明するために抗ヒト T 細胞抗体を陽性群患者の単核球と同時に移入した。その結果、滑膜増殖が抑止された。したがって、この実験系でみられた滑膜増殖には、T 細胞が関与していることが示唆された。

陽性群の患者について、罹患関節に浸潤しているT細胞のTCR/V β レパトアをRT-PCR法を用いて解析した。陽性群では、病変部に浸潤しているT細胞において、特定のTCR/V β に強い偏り(C β に対して20%以上)がみられたが、同じ患者の末梢血のT細胞ではそのような傾向はみられなかった。その偏りの強いTCR/V β は患者間で一定ではなかった。一方、陰性群では、陽性群においてみられた強い偏りは認められなかった。さらに、陽性群においてSSCP (Single Strand Conformational Polymorphism) により、病変局所で増加している特定のTCR/V β をもったT細胞のクローナリティを検討した。その結果、スミアの中に明らかなバンドが認められた。このことから、陽性群の患者の関節液中の偏りの強いT細胞は、オリゴクローナルであることが示唆された。

次に、病変局所でオリゴクローナルに増加しているT細胞が、実際に、滑膜の増殖を誘導するか否か、スーパー抗原を用いて陽性群患者の末梢血単核球をin vitroで刺激後、SCIDマウスに移入し、検討した。スーパー抗原で刺激すると、患者の末梢血単核球のT細胞に病変局所でみられた偏りと同様のTCR/V β の偏りが誘導され、その細胞を移入したマウスに滑膜組織の増殖がみられた。一方、非特異的にT細胞を刺激するPHAの刺激においては、TCR/V β に偏りが起こらず、移入したマウスにも滑膜増殖はみられなかった。したがって、陽性群にみられた病変局所の偏りの強いTCR/V β をレセプターに持ったT細胞の亜集団の中にPathogenic T細胞が存在することが示唆された。

【総括】

一部のRA患者(陽性群)においては、病変局所(罹患関節)にある特定のTCR/V β をもつT細胞の亜集団がオリゴクローナルに増えている。そして、これらのT細胞は、滑膜増殖能を有することが示唆された。今後、このT細胞亜集団より、RAにおいて滑膜増殖を誘導するT細胞、つまりPathogenic T細胞をクローン化、特定することが可能と考えられる。

論文審査の結果の要旨

これまでの研究結果から、慢性関節リウマチ(RA)の発症にT細胞の関与(Pathogenic T細胞の存在)が示唆されている。したがって、Pathogenic T細胞を特定することは、RAの発症機構の解明にとって重要である。実際、Pathogenic T細胞を特定するために、これまでにRA患者の罹患関節に浸潤しているT細胞のT細胞レセプター(TCR)のレパトアが精力的に検討されてきたが、まだ一定の結論はでていない。その大きな原因の一つはRAのPathogenesisが単一でないことによるものと考えられる。したがって、Pathogenic T細胞を特定するためには、T細胞が関与しているRA患者でTCRレパトアについて解析を行なう必要がある。しかしながら、これまでT細胞のPathogenicityを調べる有効な方法は報告されていない。本研究は、RA患者の罹患関節より得た単核球をSCIDマウスの膝関節腔内に局所移入し、病理組織学的解析を行なうことによって、T細胞のPathogenicityを検討する方法を確立したものである。このシステムを用いることにより、RA患者をT細胞を介した群(陽性群)とそうでない群(陰性群)に分けることが可能となった。さらに、陽性群の病変局所に浸潤しているT細胞についてTCRレパトアを解析すると、特定のTCR/V β をレセプターに持ったT細胞亜集団がオリゴクローナルに増加していることが明らかとなった。また、病変局所でオリゴクローナルに増加しているT細胞亜集団が、実際に滑膜増殖を誘導することを証明した。以上の結果は、Pathogenic T細胞を特定する上で、有意義な知見であり、学位に値するものとする。