

学位論文の内容の要旨

主論文

Expression of Th1/Th2 cell-related chemokine receptors on CD4⁺ lymphocytes under physiological conditions

(生理学的条件下における CD4 陽性リンパ球上の Th1/Th2 細胞関連ケモカイン受容体の発現)

主論文の要旨

背景：T 細胞は、CD4 陽性のヘルパー T (Th) 細胞と、CD8 陽性の細胞傷害性 T 細胞の 2 つに分類され、さらに、CD4⁺T 細胞では Th1、Th2 細胞の他、2000 年前後から制御性 T 細胞 (Treg) や Th17 細胞などが報告された。古典的には Th1 細胞は細胞性免疫を、Th2 細胞は体液性免疫を担っており、生体内でのこのバランスの崩れは様々な免疫異常を起こす。また、Th1 細胞及び Th2 細胞は産生するサイトカインにより分類される。Th1/Th2 細胞はケモカイン受容体や CRTH2 を発現しており、これらの分子は細胞内サイトカインの代用マーカーとして使用される。しかし CD4⁺T 細胞分画には Th1/Th2 マーカーの初期の検討では想定していなかった Treg 及び Th17 細胞が存在し、Th1 及び Th2 細胞と受容体を共有するため、Th1/Th2 マーカーの解析に影響を与える可能性が考えられた。本研究では、炎症性疾患のない「生理学的条件下」での Th1 及び Th2 細胞の代用マーカーを検討し、臨床応用への最適なマーカーを決定することを目的とした。

方法：健康ボランティア 22 名(男性 10 名、女性 12 名、35.3±12.1 歳)から採血し比重遠心分離を行い CD4⁺末梢リンパ球の表面抗原及び細胞内サイトカインを標識抗体で染色し、フローサイトメーター(FACS Canto II : BD)を用い解析した。Th1、Th2、Th17、及び Treg 細胞は、それぞれ IFN- γ ⁺、IL-4⁺ IL-13⁺、IL-17⁺、及び CD25⁺ FoxP3⁺ CD4⁺リンパ球とした。統計解析には相関ではピアソンの積率またはスピアマンの順位相関を、群間比較は t 検定と一元配置分散分析とそれに続く多重比較検定を用いた。

結果及び考察：

- ① Th1 : CXCR3⁺及び CCR5⁺ CD4⁺リンパ球の割合は、細胞内サイトカインにより同定した Th1 細胞の割合と明確に正の相関を示した(P=0.093、r=0.54 ; P=0.00026、r=0.70)。また、その他の CD4⁺T 細胞分画である Treg 及び Th17 細胞での CXCR3 及び CCR5 の発現は相対的に低値であったことから、CXCR3 及び CCR5 を Th1 代用マーカーとして測定する際には Treg 及び Th17 細胞でのこれらの発現はあまり影響しない可能性が示唆された。
- ② Th2 : CRTH2⁺ CD4⁺リンパ球の割合は、細胞内サイトカインで同定した Th2 細胞の割合と最も強い正の相関を示した (P=0.0010、rs=0.65)。同様に CCR3⁺及び CCR8⁺ CD4⁺リンパ球の割合は Th2 細胞と比較して低値を示したが正の相関が認められた(P=0.011、r=0.53 ; P=0.019、rs=0.49)。CCR4⁺及び CCR7⁺ CD4⁺リンパ球の割合との相関は認められなかった。また CCR4、CCR7 は Treg、Th17 に高率に発現が認められた。今回の検討における Th1、Th2、Treg 及び Th17 細胞の比率は 30.8±6.3%、4.0±1.6%、5.7±0.6%、4.4±0.4%であり Th2 細胞よりも比率の高い Treg、Th17 に高発現が認められた CCR4、CCR7 を Th2 細胞の代用マーカーとして測定する際には CCR4 及び

CCR7 の Treg 及び Th17 での発現の影響が大きく Th2 との相関関係に影響したと考えられた。また CCR3 及び CCR8 では Th2 との相関は認められたが細胞内サイトカインと CCR3 あるいは CCR8 を共発現している細胞は低値を示した。このことから CCR3⁺及び CCR8⁺ CD4⁺リンパ球の多くは Th2 細胞そのものではないことが示唆された。上記の結果から Th2 関連受容体を、3つのグループに分類した。すなわち 1) 高率に Th2 細胞に発現し Th2 細胞と相関関係を認めたマーカー、2) Th2 細胞での発現は低値だが Th2 細胞と相関関係を認めたマーカー、3) Th2 細胞での発現が低値で Th2 細胞とも相関しないが Th2 細胞との関連の報告があるマーカーに分類した。今回は生理学的条件での検討であり、疾患群で活性化している病態では調節されている可能性はあるが CRTH2、CCR3 及び CCR8 は比較的安定して Th2 を反映していると思われた。

結論：CXCR3 と CCR5 は Th1 以外の細胞群での発現の影響が少なく Th1 細胞の有用な代用マーカーであること、CRTH2、CCR3 及び CCR8 は Th2 細胞の代用マーカーとして有用であることが示唆されたが、CCR4 及び CCR7 を Th2 細胞の代用マーカーとして用いる場合は Treg、Th17 細胞でのこれらの高発現の影響を受けることが示唆された。今回の研究で提案された代用マーカーは、臨床の現場で医師が病態を解釈するのに役立つと考えている。