

審査の結果の要旨

氏名 瀬戸口京吾

本研究は全身性の関節炎を効率よく、かつ副作用を最小限にとどめながら治療するために、病変局所に遊走する性質を持った抗原特異的 T 細胞に抗炎症作用を有する物質の遺伝子を導入した後に全身投与をして治療効果を有するかという点と、全身性の免疫反応に影響を与えないかという点に関しての検討を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 関節炎のモデルとして、Ovalbumin(OVA)による抗原誘発性関節炎(antigen induced arthritis: AIA)を用いた。レトロウイルスを用いて mIL-10 遺伝子を OVA 反応性抗原特異的 T 細胞トランスジェニックマウス DO11.10 マウスの CD4⁺T 細胞に導入した。導入細胞が mIL-10 を産生することを確認し、AIA を誘発するマウスに全身投与したところ、関節炎の改善効果が認められた。
2. 関節炎の改善効果は遺伝子導入細胞の移入数に依存していた。感染効率が約 5%弱であったため、GFP marker を用いて感染成立細胞のみを選択したところ、移入細胞数を 1×10^4 個でも関節炎の抑制効果を示した。
3. 移入細胞の抗原特異性の必要性を検討するために、野生型の非トランスジェニックマウスの CD4⁺T 細胞に mIL-10 遺伝子を導入して移入したが抑制効果は得られなかった。この系においては関節炎の抑制に抗原特異性が必要であることが示された。
4. 移入細胞による全身性免疫反応への影響を検討するため、OVA に対する T 細胞反応性と抗体産生を移入群と非移入群で比較したが有意差は認められなかったため、移入細胞は全身性免疫反応へ影響しない事が示された。
5. 移入細胞が関節局所に集積したか検討するために RT-PCR/SSCP 法を用いた。DO11.10T 細胞の β 鎖である V β 8.2 の CDR 領域において比較した。mIL-10 導入 DO11.10CD4⁺T 細胞を移入し関節炎を惹起させたマウスからの各肢より RT-PCR/SSCP を行ったところ、関節炎を惹起させた肢にのみ DO11.10 CD4⁺T 細胞に一致するバンドが認められた。関節局所から細胞を抽出してフローサイトメトリーで解析したところ、DO11.10T 細胞のクロノタイプ抗体である KJ1-26 陽性細胞が検出された。以上から、移入細胞は関節局所に集積したことが示された。
6. 異なる抗原で誘発した関節炎を改善させることができるか検討した。methylated BSA(mBSA)による AIA の治療を試みた。mBSA 免疫マウスに mIL-10 導入

DO11.10CD4⁺T 細胞を移入後、AIA の誘発の際に mBSA と同時に OVA を関節内注射したところ、関節炎の抑制効果が認められた。関節炎の原因抗原でなくても、関節内に存在する抗原に反応する T 細胞に抑制性の薬剤等を導入し移入することで関節局所に移行して bystander な抑制効果を発揮させる可能性が示された。

以上、本論文は抗原特異的 T 細胞に抑制性のサイトカインである IL-10 を遺伝子導入してから細胞数を限定して全身投与することにより、ほぼ病変局所のみでの免疫反応抑制効果で関節炎を治療することが可能であることを明らかにした。また関節炎の原因抗原でなくとも関節内に存在する抗原に反応する抗原特異的 T 細胞を利用することも関節炎を抑制できることを示した点で、今後の関節炎治療研究に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。