

審査の結果の要旨

氏名 古木名和枝

本研究は関節リウマチ等の自己免疫疾患や移植患者に対する免疫抑制剤として効果の知られているタクロリムス (FK506) の CD4 陽性 T 細胞、特に制御性 T 細胞に与える影響を明らかにするため、タクロリムス存在下でのマウスやヒト CD4 陽性 T 細胞分裂の変化や、制御性 T 細胞のシグナル遺伝子に対するタクロリムスの作用の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. *in vitro* でタクロリムスを経口投与時の至適血中濃度と同濃度でマウス CD4 陽性細胞に添加し細胞培養を行った結果、タクロリムス存在下では CD4+Foxp3⁺細胞の分裂は著しく抑制されるのに対し、CD4+Foxp3⁺細胞に対するタクロリムスの分裂抑制効果は CD4+Foxp3⁺細胞と比較して弱く、CD4+Foxp3⁺細胞の増殖能はタクロリムス存在下でも保たれていることが分かった。すなわち、*in vitro* においてマウス CD4+Foxp3⁺細胞はタクロリムスによる分裂抑制の効果を受けにくいことが示された。
2. タクロリムスが Foxp3⁺細胞の Foxp3⁺細胞への cell conversion に影響するか検討したところ、タクロリムスによる Foxp3⁺細胞から Foxp3⁺細胞への cell conversion は殆ど見られなかった。この結果から、タクロリムス存在下で分裂した Foxp3⁺細胞に、Foxp3⁺細胞から cell conversion した Foxp3⁺細胞が含まれている可能性は低く、Foxp3⁺細胞と Foxp3⁺細胞それぞれの細胞群におけるタクロリムス添加による分裂細胞の割合の変化の違いは、Foxp3⁺細胞への cell conversion に起因するものではないことが示された。
3. ヒト末梢血中の CD4 陽性 T 細胞の分裂に対するタクロリムスの影響について *in vitro* で検討した結果、タクロリムス存在下では CD4+Foxp3⁺細胞中の分裂細胞の割合は明らかに減少傾向を示したが、CD4+Foxp3⁺細胞中の分裂細胞の割合はタクロリムス存在下でも保たれ、さらに増強する傾向が明らかになった。
4. Foxp3 がプロモーター領域につくことで発現を直接コントロールすることが報告されているシグナル遺伝子に対するタクロリムスの影響を mRNA レベルの発現で解析した結果、タクロリムス存在下で制御性 T 細胞における PTPN22 の発現は減少し、Itk の発現は上昇することが示された。すなわち、タクロリムスの免疫抑制効果は、制御性 T 細胞における PTPN22 発現を抑制し、Itk 発現を亢進することに起因し、これらの遺伝子プロファイルの変化はエフェクター T 細胞と比較し制御性 T 細胞の増殖阻害が減弱す

ることに繋がっていると考えられた。また、関節リウマチなどの自己免疫疾患の発症に関係する PTPN22 遺伝子の変異に対して、タクロリムスによる PTPN22 発現の抑制が、この遺伝子変異による PTPN22 の機能亢進を正常な方向に修正する働きを担っている可能性も示唆された。

5. タクロリムスを7日間内服させたマウスの末梢リンパ臓器中のエフェクターT細胞、制御性 T 細胞の数は、いずれも著明に減少することが示された。この結果からタクロリムスが生体内の制御性 T 細胞数の維持に関連しないことが示唆され、炎症局所における制御性 T 細胞の抗原特異的な増殖を促進する効果がタクロリムスの免疫抑制作用機序として重要であるが推測された。さらに、コラーゲン誘導性関節炎 (CIA) マウス生体内における CD4 陽性 T 細胞の分布に対するタクロリムスの影響を検討した結果、タクロリムスに曝露された CD4 陽性 T 細胞の分布は、CIA マウス内で末梢臓器から脾臓へシフトすることが示された。

以上、本論文はタクロリムスの制御性 T 細胞に与える影響に着目し、タクロリムスがエフェクターT細胞と制御性 T 細胞の 2 つの CD4 陽性 T 細胞サブセットに対して、*in vitro* での TCR シグナル誘導性の細胞分裂に異なる作用を示すことを明らかにした。このことは、タクロリムスの作用機序として今まで知られていなかった点であり、本研究の重要な新規発見であると考えられる。また、この研究を通して T 細胞の増殖についての新たな側面が明らかとなった点も重要である。本論文の成果はこれまで未知であったタクロリムスの免疫抑制のメカニズムの解明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。