

審査の結果の要旨

氏名 道下 和也

本研究は膠原病の発症過程において重要な役割を演じていると考えられる病原性B細胞の選択的除去法の樹立を目的として、コラーゲンIIにより関節炎が誘導される関節リウマチモデルマウスの系にて、自己抗原epitopeを用いたテトラマーを投与することによる関節炎の治療効果の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. コラーゲン誘発性関節炎マウス(Collagen-induced arthritis : CIA)に、2型コラーゲンのC1epitopeをシトルリン化したペプチドをテトラマー化し、サポリンを結合したもの(以下CIA1tetと表記)を投与してその効果を検討した。免疫後の抗CII-IgG抗体および総IgGはペプチド投与群とコントロール群(PBS投与群)で有意差はなく、両者ともに経時的な増加を認めた。抗CIA1ペプチド-IgG抗体(以後抗CIA1抗体と表記)では、CIIの初回免疫後、CIA1tetの比較として、シトルリン化していないC1epitopeから成るCIACtetや全く関係のないペプチドから成るLKPtetを投与し、その後の抗CIA1抗体を検討した。CIA1tetを投与したもののみ抗体が低下しており、選択的にB細胞を除去したことが示された。
2. 2型コラーゲンによる追加免疫後の、関節炎の発症率は、コントロール群(PBS投与群)とCIA1tet投与群では、追加免疫14日後の段階で、発症率に有意差が認められた。また、CIACtet, LKPtet投与群も高い発症率を示した。関節炎の重症度を示すarthritis scoreではCIA1tet投与群のスコアが低い結果となった。
3. CIA1tetの投与により関節炎の発症率の低下を生じたが、CIA1tet投与にも関わらず一部のマウスは発症した。関節炎の原因が、B細胞除去が不十分なためか、CIA1以外の自己抗原が関節炎を惹起したものなのかを検討するため、CIA1tet投与群内での発症したマウスと発症していないマウスでの抗CIA1抗体を評価した。その結果、関節炎の有り無しにより抗体価に有意差を認めなかった。したがって、発症したマウスでもCIA1特異的なB細胞の除去がなされていたと考えられることから、他の自己抗原が関節炎の発症に関与していた可能性が考えられた。
4. 追加免疫14日後における関節のH.E染色の組織標本では、コントロール群(PBS投与群)やCIACtet投与群では好中球を主体とした周辺組織への炎症細胞の浸潤が認められ、滑膜の増殖や軟骨の破壊が見られたが、CIA1tet投与群では少ない傾向にあった。病理学的スコアはInflammation, Pannus, Cartilage Score, Bone damageの4点についての総スコアで評価したところ、CIA1tet投与群は他の2群に比べ、いずれも統計学的有意差($P<0.05$)

を示し、CIA1tetの投与は関節炎における骨軟骨破壊も抑えることが示された。

5. CIA1tetのB細胞除去に対する影響が、限局的なものか広範囲かを検討するために、脾臓B細胞サブセットへの影響を評価した。DBA/1Jマウスに対し、2型コラーゲンによりday0に初回免疫、day21に追加免疫を行い、day10、day21にPBS、CIA1tetおよびCIACtet投与を行った3群のマウスの脾細胞を、Flow cytometryを用いて測定した。PBS、CIA1tet、CIACtet投与の各群において、B220陽性細胞のヒストグラムでは著明なB細胞の差は認められなかった。GL7⁺Fas⁺B220⁺B細胞であるgerminal center B細胞、CD21^{low}CD24^{high}B細胞のT1-B細胞、CD21⁺CD24^{high}B細胞のT2-B細胞、CD21⁺CD24^{low/-}B細胞のMature B細胞、CD21^{high}CD23^{low}B220⁺B細胞であるMZ-B細胞、CD138、CD38の発現を確認したが、PBS、CIA1tet、CIACtet投与の各群ともに差は認められなかった。したがってテトラマー投与により全般的なB細胞サブセットの変化はなく、抗体価より、一部のB細胞に限定されたことが確かめられ、RAの治療薬としてはより感染のリスクが下げられること、免疫抑制に伴う他の合併症やワクチン接種の際のリスク回避が期待できると考えた。

以上、本論文はコラーゲン誘導関節炎マウスにおいて、自己抗原 peptide テトラマー投与後の解析から、B細胞全般ではなく、ごく一部の病原性B細胞の除去が可能であることを明らかにした。本研究は、抗体が原因と考えられるほぼ全てのヒトの病気への応用・展開が見込まれ、疾患治療の新しい戦略になりうると考えられる。膠原病疾患の原因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。