

第 8 号様式

論 文 審 査 の 要 旨

|   |                   |    |       |
|---|-------------------|----|-------|
| 博士の専攻分野の名称  | 博 士 ( 医 学 )       | 氏名 | 佐田 良治 |
| 学位授与の要件   | 学位規則第 4 条第①・2 項該当 |    |       |
| 論 文 題 目   |                   |    |       |
| Non-suppressive regulatory T cell subset expansion in pulmonary arterial hypertension<br>(肺動脈性肺高血圧症では制御性 T 細胞における非抑制性サブセットの異常を起こす)  |                   |    |       |
| 論文審査担当者   |                   |    |       |
| 主 査 教 授 河 野 修 興 印   |                   |    |       |
| 審査委員 教 授 菅 野 雅 元  |                   |    |       |
| 審査委員 准教授 鎌 田 英 明  |                   |    |       |
| 〔論文審査の要旨〕   |                   |    |       |
| <p>免疫・炎症プロセスが肺動脈性肺高血圧 (PAH) の肺血管リモデリングに関与することが明らかとなっている。制御性 T 細胞 (Tregs) は胸腺や末梢で分化誘導され、エフェクター T 細胞の抑制を介して、免疫恒常性維持に重要な役割を果たす。そのため、PAH においても Tregs は防御的に作用すると予想され、実際に PAH モデルラットを用いた研究では Tregs 輸注は肺血管リモデリングの進行を抑制することが報告された。しかし、ヒト PAH では循環血液中の Tregs はむしろ増加することが示されており、PAH における Tregs の役割に関して一致した見解をみない状況であった。最近の研究で Tregs が実際には不均一な細胞集団であり、機能の異なるサブセットに分類される事が報告された。このサブセットの解析により、Tregs 中には本来の免疫抑制的な作用を有さずに、炎症性サイトカイン産生により、むしろ炎症惹起的に作用するサブセットが存在することが明らかとなった。こうした事実は炎症性疾患において Tregs の質的異常が存在する可能性を示唆する。本論文は PAH 患者を対象に、循環血液中の Tregs サブセットに着目して、サブセットの分布と活性化に関して解析を行った研究である。</p> |                   |    |       |

対象は特発性 PAH 患者 8 名 (男性 : 5 例, 女性 : 3 例) と健常成人コントロール 14 名 (男性 : 8 名, 女性 : 6 名) である。感染, 悪性腫瘍, 3 ヶ月以内の免疫抑制使用歴のある患者は対象より除外した。

対象者より末梢血サンプルを採取し, Ficoll 法で末梢血単核球を分離後, フローサイトメトリー法を用いて解析を行った。Tregs と Tregs サブセットの CD4 陽性ヘルパー T 細胞中における割合を測定し, 細胞表面分子の発現量を平均蛍光強度によって評価した。

まず Tregs の割合を両群間で比較したところ, PAH 群ではコントロール群に比較して有意に上昇 ( $6.54 \pm 1.10\%$  vs.  $3.81 \pm 0.28\%$ ,  $p < 0.05$ ) しており, 過去の報告と一致していた。次に, Tregs サブセットの解析を行ったところ, Tregs 本来の免疫抑制能を有する  $CD45RA^+ FoxP3^{low}$  Tregs サブセットと  $CD45RA^- FoxP3^{high}$  Tregs サブセットの割合は両群間で有意差を認めなかったが, 非抑制性 Tregs サブセットである  $CD45RA^- FoxP3^{low}$  Tregs (non-suppressive Tregs) の割合は PAH 群で有意に上昇 ( $4.06 \pm 0.40\%$  vs.  $2.79 \pm 0.14\%$ ,  $p < 0.01$ ) しており, PAH における Tregs の増加は, この non-suppressive Tregs の増加を反映したものと考えられた。次に個々の non-suppressive Treg の機能について検討を行った。Tregs は, 機能活性化に伴い表面抗原 CTLA-4 の発現が上昇することが知られている。PAH の non-suppressive Tregs では, CTLA-4 の発現量が有意に上昇 ( $36.6 \pm 2.0$  vs.  $31.5 \pm 1.3$ ,  $p < 0.05$ ) しており, 個々の non-suppressive Treg の活性もコントロール群と比較して上昇していることが考えられた。これらの結果から, PAH では非抑制性 Tregs サブセットの細胞数が増加し, 細胞個々の機能活性も上昇していることが示唆された。

次に PAH の病態と Tregs 分化, 両方にとって重要なサイトカインである形質転換成長因子ベータ 1 (TGF- $\beta$  1) と Tregs サブセットの関連を検討した。まず血清 TGF- $\beta$  1 値を両群間で比較したところ, PAH 群ではコントロール群に比較して有意に低下 ( $4.41 \pm 0.96$  ng/ml vs.  $10.26 \pm 1.11$  ng/ml,  $p < 0.01$ ) しており, 免疫系に対しても影響を与えることが示唆された。しかし, 本研究では血清 TGF- $\beta$  1 値と non-suppressive Tregs の間には有意な相関関係は認めず, PAH 患者で non-suppressive Tregs が増加するメカニズムの解明は, 今後の重要な検討課題であると考えられた。

以上の結果から, 本論文によって PAH では非抑制的 Tregs サブセットが増加, 活性化することが免疫恒常性維持の破綻に関与し, 炎症性血管リモデリングにつながる可能性が示唆された。現在, PAH における自己免疫寛容の破綻を起こす詳細なメカニズムは明らかではない。Tregs を介した自己免疫応答抑制異常が PAH の病態に関与する可能性を示したことの臨床的意義は大きい。よって審査委員会委員全員は, 本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。