



# 論文内容要旨

本田元子

## 【研究目的】

SLEは、自己抗体の過剰産生やサイトカインのアンバランスを特徴とする自己免疫疾患の1つである。SLEの病態は様々な因子が関与していると思われるが、今回我々は、これらの免疫学的な異常が、内因性の繰り返される刺激によるものの反映であり、早期の免疫システムの老化をひきおこしているのではないかと考え、この可能性について、検討した。

## 【研究方法】

SLE末梢血単核球のagingを評価するものとして、mean telomere restriction fragment (TRF) lengthをサザンブロット法で、またtelomeric DNA content (TDC)をスロットブロット法で調べた。また、末梢血単核球の細胞分裂能力の違いを調べるため、末梢血単核球をcell tracking dyeである、CFSEでラベルした後にin vitroで培養し、flow cytometryで解析した。さらに単核球をmagnetic beadsを使っていくつかのcell subsetにわけ、mean TRF length, TDC, 分裂能力の違いを、さらにtelomerase活性についてTRAP法で検討した。

## 【研究結果】

細胞の年齢や、分裂能力を反映するtelomereの長さを2つの方法で調べた。まず、mTRF lengthは、SLEではコントロールと比べて有意に短かった。TDCもSLEで少ない傾向があり、この差は45才以下のグループで有意だった。次に、telomereの長さ、細胞分裂能力は相関しているといわれているため、PHAで刺激した末梢血単核球をCFSEでラベルした後にIL-2存在下で培養し、flow cytometryで細胞分裂能力を検討した。SLE末梢血単核球は、コントロールと比べて分裂する能力が少なかったが、6週間の培養の間、CD28<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> T cellは分裂しつづけ、特にSLE患者で相対的に増加していた。このサブセットのtelomereの長さは保たれ、高いtelomerase活性を示した。CD45RA<sup>+</sup> T cellの割合は、CD28<sup>+</sup>、CD28<sup>-</sup> cellとも減少していた。また、CD28<sup>-</sup> cellのうち、CD45RA<sup>+</sup> cell subsetのTDCはCD45RA<sup>-</sup> cell subsetと比較して、有意に高かった。

## 【結論】

SLE末梢血単核球はコントロールと比べてtelomereの長さも短く、また細胞分裂能力も少なかった。このことから、SLE末梢血単核球は、内因性の刺激により、多くの細胞分裂をしてい

て、免疫学的に早期に老化した状態であると考えた。しかし、CD28<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> T cell は他の cell subset と比べて長期間分裂しつづけることができ、telomere 長が保たれ、また telomerase 活性も高かった。CD28<sup>-</sup> T cell のうち、CD45RA<sup>+</sup> T cell の TDC は CD45RA<sup>-</sup> cell と比べて有意に大きかった。これらのことより、CD28<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> cell, 特に CD45RA<sup>+</sup> cell が、SLE において特徴的であることが示唆される。

#### 【研究の意義・独創的な点】

自己免疫疾患は、自己抗体により、つねにリンパ球が活性化されているといわれているが、今回、私は telomere の長さや細胞の分裂能力という新しい局面から、SLE は免疫学的に早期に老化した状態であるということを明らかにした。また、一般的には老化しているといわれている CD28<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> T cell が SLE において特徴的であることを、示唆した。

## 審査結果の要旨

本田元子

自己免疫疾患の代表とも云える SLE の背景には、さまざまな自己抗体の過剰な産生やサイトカインのアンバランスが存在する。本研究では、SLE のこれら免疫学的異常が内因性の繰り返された刺激によるものであり、免疫システムの早期の老化をひきおこしている可能性がないかどうかを検討を加えた。

そのため、末梢血単核球を採取し、老化を評価するべく mean telomere restriction fragment (TRF) length をサザンブロット法で、また telomeric DNA content (TDC) をスロットブロット法で調べる一方、細胞分裂能力の違いを解析した。さらに単核球をいくつかの細胞群にわけ、これらの指標と telomerase 活性について検討した。その結果、SLE 患者単核球では mTRF length がコントロールと比べて有意に短かく、TDC も少ない傾向があり、45才以下のグループでは有意に短いことを認めた。また PHA で刺激した末梢血単核球を IL-2 存在下で培養し、flow cytometry で細胞分裂能力を検討すると、SLE 末梢血単核球は、コントロールと比べて分裂能力は少なかった。しかし、6 週間の培養の間、CD28<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> T 細胞だけは分裂しつづけ、とくに SLE 患者で増加していた。しかも、このサブセットの telomere の長さは保たれ、かつ高い telomerase 活性があることが確かめられた。一方、CD45RA<sup>+</sup> T 細胞の割合は、CD28<sup>+</sup>、CD28<sup>-</sup>細胞群ともに減少していたが、CD28<sup>-</sup>細胞のうち、CD45RA<sup>+</sup>細胞群の TDC は CD45RA<sup>-</sup>細胞群と比較して、有意に高いことを認めた。

これら SLE 末梢血単核球がコントロールと比べて telomere の長さも短く、また細胞分裂能力も少いことは、内因性の刺激により数多くの細胞分裂をし、免疫学的に早期に老化した状態にあることを示すものと考えた。しかし、CD28<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> T 細胞だけは他の細胞群と比べて長期間分裂しつづけることができ、telomere 長も保たれ、telomerase 活性も高く、CD28<sup>-</sup> T cell のうち、CD45RA<sup>+</sup> T cell の TDC は CD45RA<sup>-</sup> cell と比べて有意に大きかったことから、一般的には老化しているといわれている CD28<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup>T 細胞とくに CD45RA<sup>+</sup> cell の存在が SLE に特徴的であることが示唆された。以上の研究成果は SLE の病因を研究する上で、新しい局面を切り開いたものとして学位論文として十分値するものである。