

第8号様式

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	早 川 誠 一
学位授与の要件	学位規則第4条第1) 2項該当		
論 文 題 目			
Significant augmentation of regulatory T cell numbers occurs during the early neonatal period (制御性T細胞は早期新生児期に著明に増加する)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	菅 野 雅 元	印
審査委員	教 授	浅 野 知 一 郎	
審査委員	教 授	一 戸 辰 夫	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>制御性T細胞 (Treg) は、広範な免疫細胞を抑制することで免疫の恒常性を維持している。新生児は、子宮内から子宮外への環境変化において、様々な外来抗原へ暴露され、外来抗原に対する過剰な免疫反応はアレルギー疾患や炎症性疾患の原因となる可能性がある。新生児期におけるTregは、環境の劇的変化による過剰な免疫反応を抑制することで重要な役割を果たしている可能性が考えられるが、新生児期におけるTregの変化を詳細に検討した報告は少ない。本研究では、新生児期におけるTregの数と表現型の変化、および臍帯血リンパ球のTreg誘導を<i>in vitro</i>で検討した。</p> <p>2013年11月から2014年12月に広島大学病院NICUに入院した新生児49例(男児24例, 女児25例, 平均在胎週数34.0±1.6週)を対象とした。保護者へ説明し、同意を得た上で、臍帯血、新生児期早期(日齢7~8)と新生児期後期(生後2~4週)の末梢血を採取し、フローサイトメトリーにて解析した。</p> <p>CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺細胞をtotal Tregと定義した。さらにCD4⁺Foxp3⁺細胞をnaive T細胞に発現するCD45RAとTregのマスター転写因子であるFoxp3の発現によりresting Tregs (CD45RA⁺Foxp3^{low}), activated Tregs (CD45RA⁻Foxp3^{high}), newly activated T cells (CD45RA⁻Foxp3^{low})のそれぞれ3つのTreg subpopulationに分類した。resting Tregとactivated Tregは共に抑制活性をもつが、resting Tregが活性化、増殖することでactivated Tregとなり最も強い抑制活性を示すことが報告されている。一方でnewly activated T cellsは、抑制機能をもたず、炎症性サイトカインを産生する。新生児期早期末梢血では、臍帯血と新生児期後期末梢血に</p>			

比し、total Tregの有意な増加が認められた。新生児期早期のtotal Tregの増加に一致して、activated Tregが他のTreg subpopulationと比し、著明に増加していた。Tregの抑制機能に関連する分子であるCTLA-4、活性化に関連するケモカインレセプターCCR4、CCR7 の発現を解析したところ、新生児期早期のtotal Tregの増加に一致して、TregにおけるCTLA-4 発現の増強、CD4⁺CD25^{high}細胞におけるCCR4 発現の増加とCCR7 発現の低下が認められた。CD4⁺CD25^{high}細胞はTregを豊富に含む細胞集団として報告されていること、CCR4 とCCR7 ケモカインレセプターの変化から、新生児期早期には、抑制活性をもつ機能的なTregの増加と活性化が起こっていることが示唆された。

臍帯血単核球と成人末梢血単核球を用いて、*in vitro*において抗CD3 抗体刺激によるTregの誘導を行った。臍帯血単核球では、成人末梢血単核球と比し、培養 2 日目、5 日目にCD4⁺CD45RA⁻Foxp3^{high}細胞が有意に誘導されることが認められた。臍帯血リンパ球は適切な刺激に応じて、Tregが誘導される特性を有していることが示唆された。

新生児期の Treg の変化に関連する種々の因子を検討した。従来報告と一致して、臍帯血Treg の数と在胎週数、ならびに出生体重とに負の相関を認めた。さらに、母体へのステロイド投与と臍帯血ならび新生児期後期末梢血における Treg の増加、母体への抗菌剤投与と新生児期早期末梢血における Treg、activated Treg の減少、組織学的絨毛膜羊膜炎と新生児期早期における Treg、activated Treg の減少との関連が認められた。Treg の発生、誘導に様々な因子が影響することが報告されており、胎児期、新生児期における Treg へ影響する因子を明らかにするためには、更なる検討が必要である。これらの結果から、新生児期早期における機能的な Treg の増加は、出生後の環境の変化に適応するための免疫学的な制御に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

以上の結果から、本論文は新生児期の制御性T細胞の変化を経時的に検討することで、免疫学的発達の特性の一部を明らかとした。新生児における制御性T細胞の役割と意義ならびに今後の免疫性疾患研究・治療の発展に貢献すること大である。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。

第9号様式

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	早川 誠一
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Significant augmentation of regulatory T cell numbers occurs during the early neonatal period (制御性T細胞は早期新生児期に著明に増加する)			
論文審査担当者			
主査	教授	菅野 雅元	印
審査委員	教授	浅野 知一郎	
審査委員	教授	一戸 辰夫	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判定合格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成29年8月3日の第70回広島大学研究科発表会（医学）及び平成29年8月16日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 制御性T細胞の機能的抑制効果の検証 2 早期新生児期の制御性T細胞の増加の意義 3 後期新生児期の制御性T細胞の減少の意義 4 早期新生児期の制御性T細胞と腸内細菌叢との関係 5 新生児制御性T細胞の変化と母体投与薬剤との関係 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			