

## 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	郷田 聡
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Possible involvement of regulatory T cell abnormalities and variational usage of TCR repertoire in children with autoimmune neutropenia （自己免疫性好中球減少症の小児において制御性 T 細胞の異常と TCR レパトアの変異した使用が関与している可能性）			
論文審査担当者			
主 査	教授	田 代 聡	印
審査委員	教授	保 田 朋波流	
審査委員	准教授	田 中 友加	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>自己免疫性好中球減少症（AIN）は好中球表面抗原に対する自己抗体が産生され、好中球の過剰な破壊により慢性好中球減少症を呈する疾患である。乳幼児期にみられる AIN は通常数年間で抗体が消失し、自然回復する。制御性 T 細胞（Tregs）は末梢において自己反応性細胞を抑制することで免疫寛容をもたらす。さらに、Tregs の中でも活性化 Tregs は最も強い免疫抑制能を有している。一方、自己非自己の識別に重要な T 細胞受容体（TCR）は、遺伝子再構成により多様性（レパトア）が形成される。TCR 8 鎖の Variable 領域（TCR-V<math>\beta</math>）は特に変化の多い部位であり、レパトア形成に寄与する。様々な自己免疫疾患において、Tregs の質的・量的な異常や TCR レパトアの減少や偏りが存在していることが報告されている。AIN については、これまでに Tregs の減少の報告があるものの、活性化 Tregs についての検討はなく、さらに TCR レパトアについて検討した報告も存在しない。本研究は AIN 患者における制御性 T 細胞と活性化 Tregs の割合、T 細胞全体と T 細胞サブセットごとのレパトアを検討した。</p> <p>AIN 患者 25 人と好中球減少のない同年代の小児 40 人を対象とした。保護者への説明と同意を得たうえで、末梢血を採取しフローサイトメトリーにて解析した。Tregs の解析として、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>細胞を Total Tregs、さらに CD4<sup>+</sup>T 細胞のうち CD45RA-FoxP3<sup>high</sup>を示す細胞を活性化 Tregs と定義し、これらの CD4 陽性細胞内での割合を測定した。レパトア解析は、TCR-V<math>\beta</math> family に対する抗体によるフローサイトメトリー法を用いた。CD4 陽性細胞において各 TCR-V<math>\beta</math> family の発現割合を測定し、さらに CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>群（レパトア解析での Conventional T 細胞群：rTcons）と CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup>群（レパトア解析での制御性 T 細胞群：rTregs）に分け同様の測定を行い、対照群との違いについて統計学的手法を用いて解析した。</p> <p>AIN 患者の末梢血では Total Tregs の割合は対照群と比較して有意に減少していた。Tregs 中で最も強い抑制能をもつ活性化 Tregs の割合も、AIN 患者群は対照群と比較して有意に減少していた。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup>の gating で分析した rTregs も AIN 患者群は対照群と比較して有意に減少していた。この結果は AIN 患者において自己反応性 T 細胞に対する抑制が有効に作用していない事を示唆した。</p> <p>レパトア解析で、2 種類の TCR-V<math>\beta</math> family（V<math>\beta</math> 9 と V<math>\beta</math> 17）が AIN 患者において有意に増加していた。さらに rTcons 群と rTregs 群の分画に分けてみると、rTcons 群 1 種類（V<math>\beta</math> 17）、rTregs 群 4 種類（V<math>\beta</math> 9, V<math>\beta</math> 17, V<math>\beta</math> 20, V<math>\beta</math> 21.3）が AIN 患者で有意に増加していた。次に、各患者個人でのレパトアを詳細に検討した。基準値の<math>\pm 2SD</math>を超える TCR-V<math>\beta</math> family を有する患者数は、rTcons でも rTregs でも有意に AIN 患者群で多く、一部の患者で<math>\pm 3SD</math>を超える family もあった。基準値の<math>+2SD</math>を超える TCR-V<math>\beta</math> family の一個人当たりの数は、rTcons でも rTregs でも有意に AIN 患者群で多かった。一方、基準値の<math>-2SD</math>を下回る TCR-V<math>\beta</math> family の一個人当たりの数は、rTcons・rTregs いずれも患者群と対照群で違いは見られなかった。一般的にレパトアは T 細胞サブセット間で共通しているものもあることから、rTcons に対する rTregs の各 TCR-V<math>\beta</math> family の発現パターンを比較検討した。24 種類の TCR-V<math>\beta</math> family のうち、TCR-V<math>\beta</math> 3, 7.1, 8, 13.1, 16, 17, 20, 22 は、</p>			

対照群でも患者群でも rTcons 優位に発現していた。一方、TCR-V $\beta$  5.1, 5.2, 5.3, 12, 13.2, 13.6 は対照群でも患者群でも rTregs 優位に発現していた。ほとんどの TCR-V $\beta$  family の発現パターンは 2 群間で類似の傾向を示していたが、V $\beta$  9 のみは全ての対照群で rTcons 優位であるにもかかわらず、患者群では一定の傾向を示さなかった。これらの結果より、AIN 患者では T 細胞のレパトアが対照群とは明らかに異なるパターンを呈していることが判明した。

本研究は AIN 患者における TCR レパトアの特徴を初めて明らかにした。AIN 患者で認めた特徴的なレパトアの使い方と制御性 T 細胞の減少は、本症の病態に関与している可能性がある。本研究結果は、免疫システム構築が発達途中である乳幼児自己免疫疾患におけるレパトア解析の重要性を示唆していると考えられる。

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。