

論 文 内 容 要 旨

Peripheral T cell profiling reveals downregulated exhaustion marker and increased diversity in lymphedema post-lymphatic venous anastomosis
(リンパ管静脈吻合術によりリンパ浮腫患者の末梢血 T 細胞の疲弊マーカーが低下し多様性が上昇した)
iScience, 26(6): 106822, 2023.

指導教員：一戸 辰夫 教授
(原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科)

今井 洋文

【背景】我が国における二次性リンパ浮腫の発症率は、乳癌や子宮癌など癌術後(リンパ節郭清を含む)で約 30%であり、年間 1 万人前後が罹患する。リンパ浮腫ではリンパ液の還流が障害され、四肢へのリンパ液貯留が起こり患肢で周径が増大し、慢性炎症状態となる。更にリンパ浮腫の合併症として、蜂窩織炎を頻発し敗血症に至る例や、血管肉腫を続発する予後不良例が報告されており、その背景となる免疫不全の存在が示唆される。興味深いことに、リンパ管静脈吻合術(LVA)は、何らかの機序により、リンパ浮腫患者の免疫系を賦活化している可能性があり、蜂窩織炎の発生頻度を減少させ、血管肉腫の自然退縮をもたらすことが報告されている。過去のリンパ浮腫と T 細胞に関する研究では、リンパ浮腫患肢皮膚に蓄積した CD4⁺T 細胞(Th1 と Th17)が IFN- γ と IL-17A の炎症性サイトカインを産生し、リンパ浮腫の進展に関与していることが示唆されているが、これまでリンパ浮腫における末梢血 T 細胞集団の特徴を明らかにした研究はない。そこで、本研究ではリンパ浮腫患者と LVA 術後および健常者の末梢血中の T 細胞を用いてリンパ浮腫における T 細胞機能的亜群の状態を比較し、LVA がそれらに与える影響について検討した。

【方法】本研究への参加について文書による同意が得られたリンパ浮腫群 21 例と健常者群 20 例を対象として末梢血を採取した。またリンパ浮腫群に対しては、全例に LVA を行い、術後 1 年で採血を行い、LVA 術後群とした。浮腫の評価法としては、extremity lymphedema (EL) index を用いた。採取した末梢血より単核球層を抽出し、T 細胞上の PD-1 の疲弊因子の発現量と Treg の頻度および炎症性サイトカイン産生能(IFN- γ と IL-17A)を測定した。更に末梢血 T 細胞集団全体を対象として、T 細胞受容体(TCR)遺伝子の V 領域、complementarity determining region (CDR3)、J 領域の配列を次世代シーケンサーで網羅的かつ半定量的に決定し、TCR のレパトア解析も併せて行った。得られたデータより TCR の多様性指数(Simpson' s index)を算出し、各群間で比較を行った。

【結果】リンパ浮腫患者は全例女性で二次性リンパ浮腫であり、内訳は下肢リンパ浮腫が 17 例と上肢リンパ浮腫が 4 例であった。年齢の中央値はリンパ浮腫群で 54 歳、健常者群で 51 歳であった($p = 0.55$)。EL index はリンパ浮腫群と LVA 術後群で 263 と 244 であり有意に浮腫の改善が得られた($p = 0.01$)。リンパ浮腫群と LVA 術後群および健常者群の CD4⁺T 細胞上の PD-1 発現量(%)はそれぞれ 30.7 と 27.1 および 19.9 であり、リンパ浮腫群は健常者群と比較して有意に上昇しており($p < 0.01$)、リンパ浮腫群と比較して LVA 術後群で有意に低下していた($p = 0.03$)。CD8⁺T 細胞上の PD-1 発現量(%)はそれぞれ 17.1 と 15.9 および 17.5 であり、リンパ浮腫群と比較して LVA 術後群で有意に低下していた($p = 0.01$)。CD4⁺T 細胞上の Treg の頻度(%)はそれぞれ 5.3 と 5.1 および 2.5 であり、リンパ浮腫群と LVA 術後群は健常者群と比較して増加していたが($p < 0.01$, $p = 0.03$)、リンパ浮腫群と LVA 術後群に有意な差はなかった($p = 0.17$)。CD4⁺PD-1⁺T 細胞上の IFN- γ (%)はそれぞれ 30.1 と 24.7 および 20.6 であり、リンパ浮腫群は健常者群と比較して有意に上昇しており($p = 0.04$)、リンパ浮腫群と比較して LVA 術後群で有意に低下していた($p = 0.03$)。また、CD4⁺T 細胞上の IL-17A(%)はそれぞれ 2.7 と 1.6 および 1.7 であり、リンパ浮腫群と比較して LVA 術後群で有意に低下していた($p = 0.01$)。Simpson' s index はそれぞれ 44.1 と 200.5 および 151.0 であり、リンパ浮腫群は健常者群と比較して有意に低下してお

り ($p = 0.03$)、リンパ浮腫群と比較して LVA 術後群で有意に上昇していた ($p = 0.02$)。

【考察】リンパ浮腫群では、健常者群と比較して、末梢血 T 細胞の疲弊マーカー発現量が多く、炎症性サイトカイン産生能が亢進し、T 細胞受容体の多様性が低下していた。しかし、LVA により T 細胞上の疲弊因子の発現が減少し、TCR の多様性が回復したことからリンパ浮腫において免疫能が改善されることが示唆された。また、炎症性サイトカインを産生する T 細胞亜群が LVA 後に減少していたことより、リンパ浮腫における炎症を LVA によって抑制できる可能性が示唆された。本研究を通して LVA は、物理的なリンパ浮腫の改善をもたらすのみならず、末梢血 T 細胞集団の機能的亜群の比率にも影響を及ぼし、免疫系を賦活化していることが示唆された。今後、さらに症例を蓄積し、LVA の有する免疫調節機能の臨床的意義を明らかにしていく必要がある。