

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	今井 洋文
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当			
論文題目 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)				
論文審査担当者				
主査	教授	保田 朋波流	印	
審査委員	教授	東 幸仁		
審査委員	准教授	吉田 周平		
〔論文審査の結果の要旨〕				
<p>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。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。またリンパ浮腫と T 細胞に関する先行研究において、リンパ浮腫患肢皮膚に蓄積した CD4⁺T 細胞亜群のうち IFN-γ を産生する Th1 細胞と IL-17A を産生する Th17 細胞が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。しかしながら、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。そのため本研究では LVA 術前後のリンパ浮腫患者および健常者の末梢血中 T 細胞における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が行われた。</p> <p>対象はリンパ浮腫群 21 例と健常者群 20 例であり、リンパ浮腫群に対しては、全例に LVA が行われ、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。これらの対象者より末梢血を採取した後、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)遺伝子の再構成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することで TCRβ 鎖のレパトア解析を行った。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。</p> <p>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。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。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、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。また、CD8⁺T 細胞上の PD-1 発現量(%)はそれぞれ 17.1 と 15.9 および</p>				

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。CD4⁺T 細胞中の Treg の比率(%)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、リンパ浮腫群と LVA 術後群に有意な差は認められなかった。CD4⁺PD-1⁺T 細胞のうち、IFN- γ 陽性分画(%)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、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。また、CD4⁺T 細胞のうち、IL-17A 陽性分画(%)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。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、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。

以上の結果より、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。

本論文は、LVA の実施が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、免疫系を賦活化させ得ることを示した重要な研究である。よって審査委員会委員全員は、本論文が今井洋文に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。