

氏 名	谷 卓
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第176号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	傍腫瘍性神経症候群の宿主要因としての制御性 T 細胞機能 遺伝子発現の解析
論文審査委員	主査 教授 西 澤 正 豊 副査 教授 安 保 徹 副査 教授 高 橋 均

博士論文の要旨

【背景と目的】傍腫瘍性神経症候群 (PNS) は、担癌患者に自己免疫学的機序により生じる特徴的な神経症候群であり、その病態は、腫瘍抗原により活性化された免疫系が腫瘍との交差抗原を持つ神経組織を傷害する機序が考えられている。また、PNS の病初期には、腫瘍の発育が遅かったり転移が抑制されていることが知られており、PNS では腫瘍に対する免疫反応も亢進し、腫瘍の発育、転移を抑制している可能性を示唆している。すなわち、PNS は、腫瘍免疫が亢進して神経組織と腫瘍組織の両方を傷害する病態と推測される。しかしながら、同一組織型を持つ担癌患者のなかでも PNS を発症する頻度は1%前後とされ、PNS には何らかの特殊な宿主要因が存在する可能性が推測される。一方、自己免疫疾患では免疫自己寛容の破綻により自己組織に対する免疫反応が生じていると考えられている。PNS においても免疫制御系の異常が背景にあり、腫瘍免疫および自己免疫亢進の原因となっている可能性が推測される。また近年、さまざまな自己免疫疾患、腫瘍性疾患で、末梢性免疫寛容に重要な働きを担う CD4 陽性 CD25 陽性制御性 T 細胞 (Treg) の分布頻度、機能異常の報告がなされている。しかし、PNS においては、Treg に関する報告はこれまでなされていないことから、本研究では、PNS における免疫制御系の動態を、末梢血リンパ球亜分画パターン解析ならびに Treg 分画の機能遺伝子の発現を定量的に評価することで、免疫制御系の機能異常が PNS の宿主要因である可能性を検討することを目的とした。

【方法】肺小細胞癌 (SCLC) を伴う Lambert-Eaton 筋無力症症候群 (LEMS) (LEMS 群) 5 名、SCLC を背景に持つ抗 Hu 抗体陽性 PNS (Hu 群) 2 名、乳癌を背景に持つ抗 Yo 抗体陽性 PNS (Yo 群) 3 名について、神経症候のない SCLC (SCLC 群) 4 名および健常者 (HC 群) 22 名を対照とした。末梢血リンパ球亜分画の表面抗原として、CD4, CD8 と、Th1, Tc1 の表面マーカーとして CXCR3, Th2 のマーカーとして CCR4, Treg の表面マーカーとして CD25, CD62L, naïve T 細胞のマーカーとして CD45RA それぞれのモノクローナル蛍光抗体を用い、フローサイトメーターにてリンパ球亜分画

分布パターンを比較した。さらにセルソーターで分取した CD4 陽性 CD25 強陽性 CD62L 強陽性 Treg 分画の機能遺伝子 mRNA (forkhead / winged-helix family transcription factor, FOXP3; transforming growth factor- β , TGF- β 1; cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4; glucocorticoid-induced tumor-necrosis factor receptor family related molecule, GITR) の発現を、リアルタイム RT-PCR 法で定量的に解析した。

【結果】リンパ球亜分画分布パターンでは各群間に明らかな差はみられなかった。Treg 機能遺伝子発現の定量的解析では、LEMS 群では神経症状を呈さない SCLC に比べ、FOXP3 の発現低下 (52.5 ± 42.1 対 193.7 ± 102 ; $P = 0.034$), CTLA-4 の発現低下 (1.83 ± 1.70 対 5.55 ± 1.61 ; $P = 0.37$) がみられた。また、Hu 群、Yo 群では神経症状のない SCLC に比べ FOXP3 の発現が低く (44.0 ± 28.5 対 193.7 ± 102.0 ; $P = 0.02$), TGF- β 1 発現も低下していた (0.45 ± 0.09 対 0.99 ± 0.32 ; $P = 0.02$)。

【結論】PNS に免疫制御系の異常があるという我々の作業仮説を検証するために、PNS 患者末梢血におけるリンパ球亜分画パターン解析ならびに CD4 陽性 CD25 強陽性 CD62L 強陽性 Treg 分画における Treg 機能遺伝子発現の定量的解析を行った。末梢血リンパ球亜分画パターン解析では明らかな異常を認めなかったが、Treg 機能遺伝子発現解析では免疫制御に関わる Treg の複数の機能遺伝子に発現低下がみられ、これは PNS における Treg の機能低下を示唆する所見と考えられた。Treg の機能低下は、免疫寛容の破綻を引き起こし、自己免疫機序による組織傷害を生じうるため、PNS の宿主要因になりうると考えられた。

(論文審査の要旨)

傍腫瘍性神経症候群 (PNS) は、腫瘍抗原により活性化された免疫系により、腫瘍組織と交差抗原を有する神経組織が障害される自己免疫性疾患と考えられている。しかし、同じ組織型をもつ担癌者の間でも PNS の頻度は低いことから、PNS の発症には宿主要因が存在すると推定されている。申請者は PNS 患者の免疫動態を解析することにより、この宿主要因について検討した。

抗 Hu、あるいは抗 Yo 抗体が陽性を示す PNS 群、および肺小細胞癌 (SCLC) に伴う Lambert-Eaton 筋無力症候群 (LEMS) における末梢血リンパ球亜分画の分布パターンを、神経症候を示さない SCLC 群および年齢を合わせた健常群を対照として、フローサイトメーターにより比較した。また、セルソーターにより分取した CD4⁺CD25^{high}CD62L^{high}を示す制御性 T 細胞 (Treg) 分画における機能遺伝子の発現を、RT-PCR 法により解析した。

その結果、リンパ球亜分画の分布パターンでは各群間に有意差はみられなかったが、Treg 機能遺伝子の発現解析では、PNS 群と LEMS 群において神経症候を示さない SCLC 群に比べて FOXP3 の、また PNS 群において SCLC 群に比べて TGF- β 1 の発現低下がみられ、Treg の機能低下が示唆された。

以上本研究は、Treg の機能低下が免疫寛容の破綻を介して自己免疫機序を生じることにより、PNS の宿主要因となり得ることを示した点に、博士論文としての価値を認めた。