

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	富永 顕太郎
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第723号
学位授与の日付	平成29年3月23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	Possible involvement of mucosal-associated invariant T cells in the progression of inflammatory bowel diseases. (炎症性腸疾患の進行における MAIT 細胞の関与の可能性)
論文審査委員	主査 教授 味岡 洋一 副査 講師 川合 弘一 副査 教授 寺井 崇二

博士論文の要旨

【背景と目的】Mucosal-associated invariant T (MAIT) 細胞は、MHC-related 1 (MR1) 拘束性の invariant な T 細胞受容体 (TCR)  $\alpha$  鎖を発現する T 細胞であり、ヒトの末梢血中で大きな細胞集団として存在する。粘膜組織にも豊富に存在し、感染防御とともに自己免疫病態への関与が示唆されているものの、炎症性腸疾患 (IBD) との関連に関する報告は少ない。本研究は、IBD の病態における MAIT 細胞の関与を明らかにすることを目的とした。

【方法】2013年4月から2014年9月に当科を受診された潰瘍性大腸炎 (UC) 患者25例、クローン病 (CD) 患者15例、および、非 IBD 患者 (healthy individuals, HI) 19例を対象とした。IBD 患者は男性30例、女性10例、年齢の中央値は46 (22-72) 歳であり、末梢血と下部消化管内視鏡施行時の大腸粘膜の生検組織からリンパ球を分離し、FACSにより解析を行った。その際、IBD 群は炎症の程度に応じて moderate 群、mild 群、remission 群に分けて比較検討を行った。また、大腸の切除組織を用いて免疫組織染色を行い、CD161 と TCR-V $\alpha$ 7.2 の陽性細胞を検討した。さらに、末梢血より分離したリンパ球を抗 CD3/CD28 抗体コーティングビーズと IL-7 添加により *in vitro* で刺激培養を行い、MAIT 細胞における細胞内サイトカイン産生を FACS により解析した。

【結果】末梢血中の T 細胞に占める MAIT 細胞の比率は、IBD 群では炎症の程度が強くなるほど HI 群と比較して有意に低下しており、比率だけでなく実際の細胞数も有意に減少していた。また、末梢血中の MAIT 細胞における CD8 $\alpha$  陽性率は、IBD moderate 群では HI 群と比較して有意に低下しており、一方、末梢血中の MAIT 細胞における CD69 陽性率は、IBD 群で炎症の程度が強くなるほど増加し、IBD moderate 群では HI 群や IBD remission 群と比較して有意に上昇していた。免疫組織学的な検討では、IBD mild 群の大腸粘膜には CD161<sup>+</sup>、TCR-V $\alpha$ 7.2<sup>+</sup>細胞の集簇が認められ、FACS による検討でも、大腸粘膜では T 細胞に占める MAIT 細胞の比率は IBD 群で HI 群より高く、さらに IBD mild 群の方が IBD remission 群よりも有意に高値であった。大腸粘膜の MAIT 細胞は HI 群でも CD69 を高発現しており、IBD 群と HI 群とで有意差は認めなかったが、主に IL-17 産生細胞に発現し、自己免疫性疾患との関与が指摘されているケモカイン CCL20 の

受容体で小腸への遊走に作用する CCR6 発現は、大腸粘膜の MAIT 細胞において HI 群と比較して IBD 群で高く、IBD mild 群で有意に増加していた。MAIT 細胞における *in vitro* でのサイトカインの産生に関しては、IBD 群の末梢血 MAIT 細胞では、無刺激の状態でも TNF- $\alpha$  と IL-17 の高産生が認められ、更に抗 CD3/CD28 抗体と IL-7 の刺激により、HI 群と比較して有意に TNF- $\alpha$  と IL-17 の高産生が認められた。MAIT 細胞からの IL-17 産生には、HI 群では抗 CD3/CD28 抗体と IL-7 の両方の刺激が必要であったのに対し、IBD 群ではビーズ単独、IL-7 単独刺激でも有意に IL-17 の高産生が認められた。刺激後の IFN- $\gamma$ 、IL-22 の産生、CCR6 の発現に関しては、IBD 群と HI 群とで有意差は認めなかった。

**【考察】**MAIT 細胞は自己免疫病態への関与が知られており、炎症局所への浸潤に関する報告が散見される。しかし、IBD との関連に関する報告は少なく、IBD の疾患活動度と末梢血および大腸粘膜の MAIT 細胞に関する報告は認めない。今回の研究では、末梢血中の T 細胞に占める MAIT 細胞の割合は IBD の炎症の程度が強くなるほど低値であり、大腸粘膜中の T 細胞に占める MAIT 細胞の割合は IBD の炎症の程度が強くなるほど高値であった。また、IBD 患者の MAIT 細胞は無刺激の状態や刺激後に TNF- $\alpha$  と IL-17 の高産生が認められることから、IBD 患者の MAIT 細胞は炎症局所の腸管に集積し、IL-17 産生などにより自己免疫病態に関与している可能性が示唆された。MAIT 細胞は細菌感染の制御に重要であり、腸管内 microbiota との関連も含め、IBD 病態の解明に向けて注目すべき細胞集団と考えられた。

**【結論】**MAIT 細胞は IBD の炎症が強いほど大腸粘膜局所に集簇しており、IBD 患者の MAIT 細胞は刺激に対して IL-17 を高産生するなど、IBD 炎症の進行に関与している可能性が示唆された。

#### 審査結果の要旨

MAIT (mucosal-associated invariant T) 細胞は、粘膜組織に豊富に存在し、感染防御とともに自己免疫病態への関与が示唆されている。本研究は、IBD の病態における MAIT 細胞の関与を明らかにすることを目的とした。潰瘍性大腸炎 (UC) 25 例とクローン病 (CD) 15 例、非 IBD 例 (健常例) 19 例を対象に、末梢血と大腸粘膜生検組織のリンパ球を分離し、FACS による解析、大腸の切除組織を用いた免疫組織化学的検討を行った。末梢血中の T 細胞に占める MAIT 細胞比率・細胞数は、炎症の程度が強くなると健常群に比べ有意に低下していた。一方大腸粘膜では、MAIT 細胞比率は健常群に比べ有意に高値であり、炎症の程度の強いものほど MAIT 細胞は増加していた。また、IBD 群の MAIT 細胞は、無刺激の状態や抗 CD3/CD28 抗体・IL-7 の刺激により、健常群に比べ有意に TNF- $\alpha$  と IL-17 の高産生がみられた。

以上のことから、IBD では、MAIT 細胞の分布状態に変化がおきており、末梢血から炎症局所の腸管に集積すること、IL-17 産生などにより自己免疫病態に関与している可能性があることを示した点で、学位論文としての価値を認める。