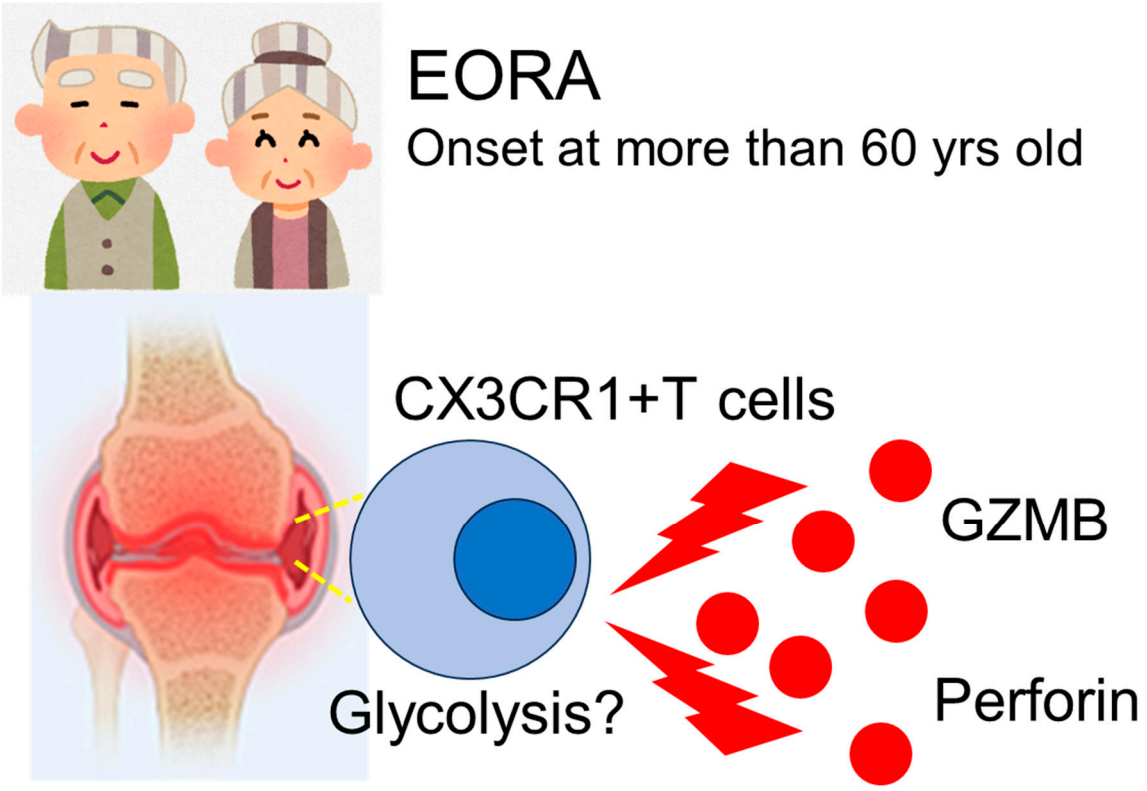
145　ヒトT濾胞ヘルパー細胞の免疫代謝調節機構の解明	秋山　光浩

【目的】関節リウマチ（Rheumatoid Arthritis：RA）は女性に発症頻度が高く、関節の滑膜に炎症を来たす自己免疫疾患である。早期に適切な治療介入がなされなかった場合、関節の破壊による機能障害を来たす。人口の高齢化に伴い、RA も高齢発症例（elderly-onset RA：EORA）が増加している。EORA は急性発症例が多く、疾患活動性が高く、血中炎症マーカーの高い症例が多いなど特徴的な臨床像を呈する。したがって、EORA とそれ以外の関節リウマチでは免疫学的病態が異なっている可能性がある。近年、細胞障害性 CD4T 細胞が免疫老化に伴い増加していることが報告されている。また、T 細胞の代謝プロセスがその分化や機能に重要な役割を果たしていることが分かっており、各 T 細胞サブセットが特有の代謝プロセスを活性化させている。今回、我々は細胞障害性 $CX3CR1^{+}$T 濾胞ヘルパー様細胞が EORA の病態形成に寄与している可能性とその代謝調節機構に関して検討することを目的とした。

【方法】RA 患者と健常人（HC）で末梢血 $CX3CR1^{+}$T 細胞を、フローサイトメトリーを用いて解析した。患者の滑膜炎病変局所の $CX3CR1^{+}$T 細胞の浸潤の有無を、免疫組織化学染色を用いて評価した。T 濾胞ヘルパー細胞の代謝酵素発現を、RNA シークエンシングを用いて網羅的に解析した。

【結果】RA 患者の末梢血で $CX3CR1^{+}CD4T$ 細胞が増加していた。臨床特徴別解析では EORA で non-EORA と比較して $CX3CR1^{+}CD4T$ 細胞が増加していた。$CX3CR1^{+}CD4T$ 細胞の割合は RA の関節炎の活動性と正に相関した。EORA の滑膜炎局所に $CX3CR1^{+}CD4T$ 細胞が浸潤して炎症に寄与していた。T 濾胞ヘルパー細胞では解糖系代謝酵素の発現亢進を認めた。

LORA の滑膜炎に $CX3CR1^{+}$T 細胞が寄与



145. ヒトT濾胞ヘルパー細胞の免疫代謝調節機構の解明

秋山　光浩

慶應義塾大学 医学部 リウマチ・膠原病内科

Key words：T濾胞ヘルパー細胞，T濾胞ヘルパー様細胞，関節リウマチ，免疫老化，免疫代謝

緒　言

関節リウマチは、免疫の異常により関節滑膜に炎症が生じ、関節に疼痛や腫脹をきたす疾患であり、主に40～50代の女性に見られる。近年、人口の高齢化に伴い、60歳以上で発症する関節リウマチが増加している。60歳以下で発症する関節リウマチと比べると、高齢者に発症する場合は急性に関節破壊が進行し、身体機能に支障をきたす傾向がある。このため、高齢者に発症する関節リウマチと他のタイプの関節リウマチでは、免疫学的な病態が異なる可能性がある。早期に有効性の高い抗リウマチ薬を使用して疾患の鎮静化を達成しても、薬剤中止により8割の症例で疾患活動性が再燃するため、病態解明にもとづいた新しい治療標的の同定が切望されている。

これまでの研究で、我々はT細胞のサブセットであるT濾胞ヘルパー細胞やT濾胞ヘルパー様細胞が、B細胞のエフェクター機能や自己抗体の産生に関与していることを報告してきた［1，2］。特に、CX3CR1陽性のT濾胞ヘルパー様細胞が免疫老化において増加し、細胞障害機能を持つことを明らかにした［3，4］。このような背景から、高齢者に発症する関節リウマチの免疫学的な病態には、特に細胞障害性の$CX3CR1^{+}$T濾胞ヘルパー様細胞が関与している可能性がある。また、最近の研究では、T細胞の代謝プロセスがその分化や機能に重要な役割を果たしていることが分かっており、各T細胞サブセットが特有の代謝プロセスを活性化させている。これらのプロセスに障害があると、T細胞の生存率や機能が低下する可能性がある。本研究では、我々が最近発見した新しいT細胞サブセットである細胞障害性T濾胞ヘルパー様細胞が高齢者に発症する関節リウマチの病態に関与しているか、およびその免疫代謝プロファイルを明らかにすることを目的とした。

方　法

1. 検体の収集と解析

未治療で疾患活動性のある関節リウマチ（RA）患者78名と健常人（HC）16名から新鮮な末梢血を採取した。フローサイトメトリーを用いて、末梢血中の$CX3CR1^{+}$T濾胞ヘルパー様細胞（以下$CX3CR1^{+}$T細胞）の割合を測定した。次に、関節リウマチの臨床特徴別（60歳以上の高齢発症かそれ以外か）に$CX3CR1^{+}$T細胞の割合を比較解析した。また、疾患活動度との相関を解析した。さらに、高齢発症の関節リウマチ患者の関節滑膜炎局所の$CX3CR1^{+}$T細胞の浸潤を、生検標本の免疫組織化学染色により評価した。

また、T濾胞ヘルパー細胞を抽出し、健常人検体を比較コントロールにおいて代謝調節機構に関わる分子の発現を比較検討した。具体的には、RNAシークエンシングを用いて代謝調節機構（解糖系経路、アミノ酸代謝経路、酸化的リン酸化経路、脂肪酸代謝経路、核酸代謝経路）に関わる遺伝子発現を網羅的に解析し比較検討することで発現の亢進している経路の同定を試みた。

結　果

1. 関節リウマチにおける CX3CR1^{+}T 細胞の解析

関節リウマチ患者で健常人と比較して末梢血中の CX3CR1^{+}T 細胞が増加していた。関節リウマチ患者を高齢発症（elderly-onset RA : EORA）かそれ以外（non- EORA）に分けて CX3CR1^{+}T 細胞の割合を比較したところ、EORA で有意に増加していた（図 1）。また、年齢と正の相関を示した。

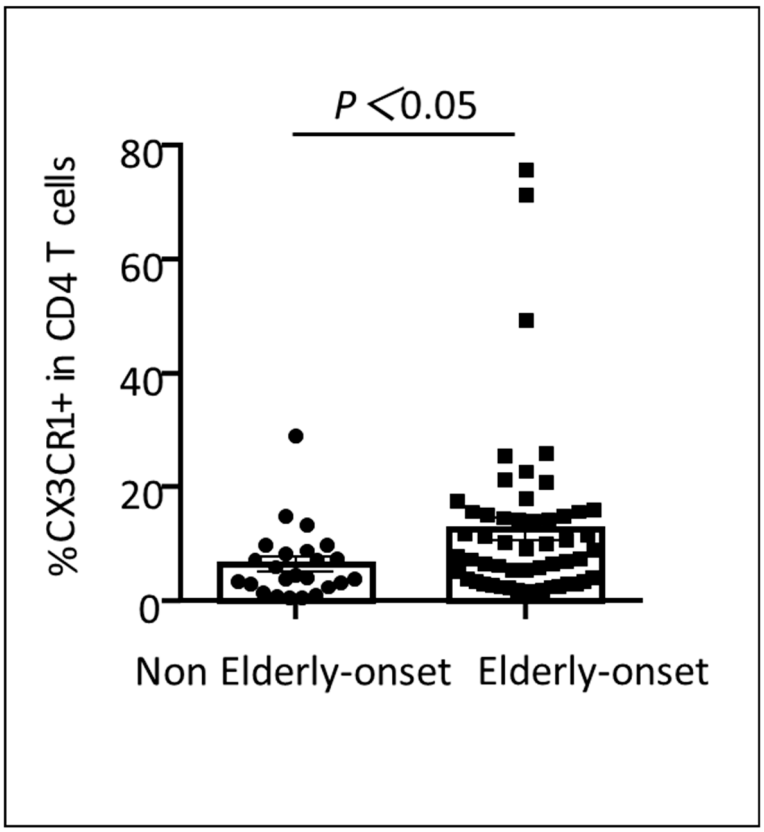


図 1. CX3CR1^{+}T 細胞が EORA の末梢血で増加
Man Whitney test。

関節リウマチの疾患活動度と CX3CR1^{+}T 細胞の割合の関連を解析した結果、CX3CR1^{+}T 細胞の割合は関節炎の活動度と正の相関を示した（図 2）。

EORA の関節滑膜炎局所の病理標本を用いた免疫組織化学染色により CX3CR1^{+}T 細胞の浸潤の有無を評価した。その結果、EORA の関節滑膜炎局所に CX3CR1^{+}T 細胞が浸潤していた。

2. T 濾胞ヘルパー細胞の免疫代謝活性

RNA シークエンシングによる網羅的遺伝子発現解析により、代謝調節機構関連分子（解糖系経路、アミノ酸代謝経路、酸化的リン酸化経路、脂肪酸代謝経路、核酸代謝経路）のうち、解糖系とアミノ酸代謝系経路の遺伝子発現が亢進していることが明らかとなった。特に、GLUT3 と LAT2 の遺伝子発現亢進が顕著であった。

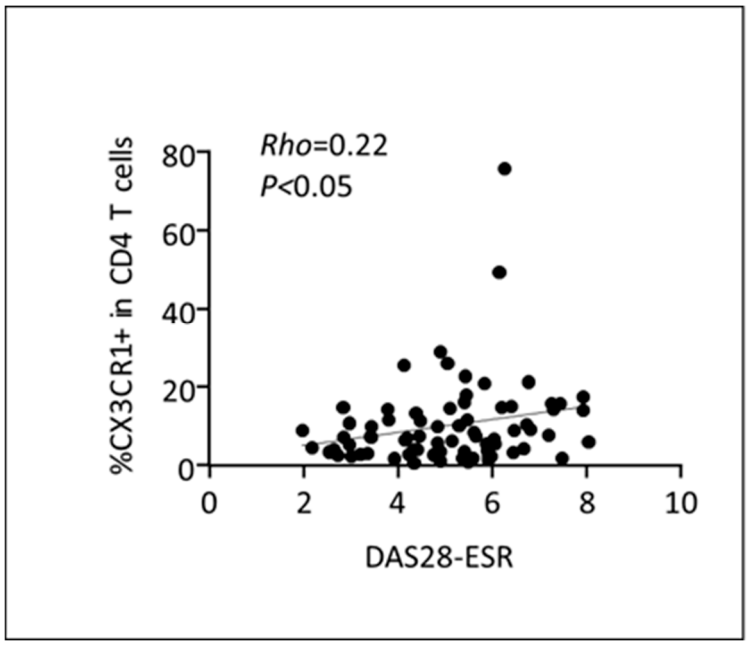


図 2. CX3CR1^{+}T 濾胞ヘルパー様細胞の割合は関節炎の重症度と正に相関
スピアマンの相関解析。

考　察

本研究で我々は、RA 患者では末梢血中に CX3CR1^{+}T 細胞が増加しており、特に EORA で増加していることを発見した。これらの細胞の増加は関節炎の活動度と正に相関しており、関節炎局所へ浸潤して炎症に寄与していた。これらの結果から、CX3CR1^{+}T 細胞は EORA の病態に関与している可能性が考えられた。CX3CR1^{+}T 細胞は特にグランザイム B やパーフォリンといった細胞障害分子を特異的に発現しているため、これらの分子が EORA の滑膜炎に寄与している可能性があると考えられた。EORA の新規治療として CX3CR1-フラクタルカイン軸の阻害が有効である可能性が将来的に期待される。

ヒト T 濾胞ヘルパー細胞の免疫代謝機構やそれをつかさどる分子メカニズムはほとんど不明である。今回我々は、解糖系とアミノ酸代謝系の経路が T 濾胞ヘルパー細胞で亢進している可能性を見出した。今後は解糖系やアミノ酸代謝系の代謝経路を阻害することでこの T 細胞サブセットのエフェクター機能を抑制しえるか検証が必要であると考えた。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、慶應義塾大学大学院医学研究科内科学（リウマチ・膠原病）研究室の吉本桂子、若杉聡真、犬飼理沙、松野由幸、石垣星、齋藤紘一、金子祐子である。

文　献

1） Akiyama M, Alshehri W, Yoshimoto K, Kaneko Y (2023). T follicular helper cells and T peripheral helper cells in rheumatic and musculoskeletal diseases. *Ann Rheum Dis*, 82, 1371-1381. *https://doi: 10.1136/ard-2023-224225*.

2） Akiyama M, Kaneko Y, Takeuchi T (2022). T follicular helper cells mediate local production of allergen-specific IgE and IgG4. *J Allergy Clin Immunol*, 150, 1045-1047. *https://doi: 10.1016/j.jaci.2022.05.003.*

3） Seki N, Tsujimoto H, Tanemura S, et al (2024). Cytotoxic Tph subset with low B-cell helper functions and its involvement in systemic lupus erythematosus. *Commun Biol,* 7, 277. *https://doi: 10.1038/s42003-024-05989-x.*

4） Akiyama M, Yoshimoto K, Kaneko Y (2023). Significant association of CX3CR1+CD8 T cells with aging and distinct clinical features in Sjögren's syndrome and IgG4-related disease. *Clin Exp Rheumatol*. 41, 2409-2417. *https://doi: 10.55563/clinexprheumatol/kfsd65.*