

荒牧俊幸論文内容の要旨

主 論 文

A significantly impaired natural killer cell activity due to a low activity on a per-cell basis in rheumatoid arthritis

関節リウマチにおける NK 活性の有意な低下は、NK 細胞 1 個あたりの活性低下による

荒牧俊幸 井田弘明 和泉泰衛 藤川敬太 黄明国 有馬和彦 玉井慎美 蒲池誠
中村英樹 川上純 折口智樹 松岡直樹 江口勝美

Modern Rheumatology, accepted

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：江口勝美教授)

緒 言

NK 細胞は自然免疫において細胞傷害活性を有する重要な細胞である。NK 細胞の細胞傷害活性は活性化レセプター及び抑制性レセプターによって制御されている。標的細胞はウイルス感染などにより MHC 分子の発現量が減少しており、NK 細胞を抑制するシグナルが低下する。このことにより、NK 細胞に含まれるパーフォリンやグランザイム B といった細胞傷害性顆粒を標的細胞内へ放出し標的細胞の細胞死を誘導する。さらに、NK 細胞は自己反応性の T 細胞や B 細胞を除去することによって免疫調節にも関与している。従って、NK 細胞数の減少や NK 細胞の機能低下によりウイルス感染の遷延化、悪性腫瘍や自己免疫疾患の発生に繋がっていることが推測される。

関節リウマチ(以下 RA)は滑膜における炎症、骨びらん、およびリウマチ因子を特徴とする自己免疫疾患の一つである。RA においても NK 活性が低下していることについて多くの報告があるが、そのメカニズムについては未だ解明されていない。今回、私たちは RA における NK 活性低下の機序を解明するために、RA 患者と健常者および原発性シェーグレン症候群(以下 pSS)の NK 活性、NK 細胞数、NK 細胞の表面分子、血中サイトカイン等を測定し、その関連について検討した。

対象と方法

1. インフォームド・コンセントを得た当院およびながさき内科リウマチ科病院膠原病外来通院中の RA 患者(27 名)、ステロイドや免疫抑制剤の服用歴のない pSS 患者(22 名)と健常者(15 名)から血液を採取し実験に使用した。
2. NK 活性は Effector /Target 比 50:1,20:1,10:1 で混入後、⁵¹Cr release assay を用い計測した。

NK 活性の比較は Lytic Unit (20%の Target cell を殺すのに必要な NK 細胞数の逆数を表すもので、値が高いほど NK 活性が強いことを示す)を用いた。

3. NK 細胞表面分子 (CD244, CD2, CD16, NKG2D) および NK 細胞内蛋白 (Perforin, Granzyme B, TCR と鎖) の発現は対象者からリンパ球を分離し、モノクロナール抗体を添加後、フローサイトメーターにて解析した。細胞内蛋白の染色に関しては CALTAG 社の FIX & PERM を用いた。CD56 陽性, CD3 陰性の細胞群を NK 細胞とし, 3 カラー解析を行った。
4. ELISA 法を用いて血清サイトカイン (IL-18, IL-6, TNF α) を測定した。

結 果

1. RA 患者、pSS 患者ともに、健常者と比べて NK 活性は低下していた。RA 患者では、SS 患者と異なり、NK 細胞 1 個あたりの NK 活性が低下していた。RA 患者においてプレドニゾロンの使用量は NK 活性と相関がなかった。
2. NK 細胞表面分子では NKG2D の発現率が RA 患者、pSS 患者ともに健常者より有意に低下していた。CD244, CD2, CD16 の発現率は 3 群間に有意差は見られなかったが、平均蛍光強度(MFI)は CD244 で RA 群および pSS 群、CD16 において RA 群が健常者と比較して有意に低下していた。
3. 血清中サイトカインでは TNF α , IL-18 は RA 群、pSS 群ともに健常者より有意に高値であった。IL-6 は RA 群のみで有意に高値であった。
4. RA 患者間では IL-6 高値群で NK 細胞数の低下および LU の低下が見られた。表面マーカーの発現率 NKG2D, CD16, CD2, CD244 すべてで IL-6 高値群と低値群に有意差は見られなかった。

考 察

本研究で我々は RA 患者と pSS 患者及び健常者の末梢血 NK 細胞数、NK 活性、NK 細胞表面分子および細胞内蛋白について比較検討を行った。RA 患者、pSS 患者では健常者に比較して NK 活性が低下しているが、RA 患者では pSS 患者と異なり、NK 細胞 1 個あたりのお NK 活性が低下していることが示された。

今回の検討では RA 患者における NK 1 細胞あたりの NK 活性低下を説明しうる決定的な NK 細胞の特徴は検出できなかった。しかし RA 患者において CD16 分子の発現が低下していたことは NK 1 細胞あたりの活性低下に関与している可能性はあると考えられる。

RA 患者で IL-6 高値群と低値群とを比較すると、高値群の方が、NK 活性及び NK 細胞数が低値であった。1 細胞あたりの細胞傷害活性に差がないことから、IL-6 は NK 細胞数を低下させることにより、RA 患者での NK 活性の低下に関与していることが示唆された。おそらく IL-6 は単独あるいは他のサイトカインを誘導し NK 細胞の apoptosis を誘導することによって、結果的に NK 細胞数を低下させていることが想定される。

近年 TNF 阻害剤が多くの RA 患者に使用され、その有用性が多く報告されている。一方で同治療薬による腫瘍発生リスクが増大したとの報告もあるが、現時点では腫瘍発生のリスクは報告により異なり一定していない。RA を含む自己免疫・炎症疾患では悪性リンパ腫を含むリンパ増殖性疾患の合併の頻度が多いが、その原因として NK 活性低下が考えられている。本研究で、RA 患者において 1 細胞あたりの細胞傷害能力低下が NK 活性低下を引き起こしている可能性が示唆された。NK 活性低下は腫瘍発生リスクを高めるため、今後 NK 1 細胞あたりの細胞傷害能力をモニターすることで、リスクの評価を行うべきと考える。