

齋藤巨樹 論文内容の要旨

主 論 文

Regulation of Graves' Hyperthyroidism with Naturally Occurring CD4⁺CD25⁺
Regulatory T cells in a Mouse Model
(CD4⁺CD25⁺調節性 T 細胞によるマウスバセドウ病モデルの発症調節)

齋藤巨樹、永山雄二

(Endocrinology 147 巻 5 号 2417-2422, 2006 年)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻
(主任指導教員：永山雄二教授)

緒 言

CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞 (Treg) は末梢の CD4⁺ T 細胞の 5~10% を占め、エフェクター CD4⁺ T 細胞の抑制に働くことが知られている細胞集団である。これまでに、様々な自己免疫疾患モデルにおいて疾患抑制に Treg が関与している事が報告されている。本研究では、甲状腺刺激ホルモン受容体 (TSHR) A サブユニットをコードしたアデノウイルスベクター (Ad-TSHR289) によるバセドウ病モデルマウスにおいて、抗 CD25 抗体を用いて Treg の除去を行い、Treg のバセドウ病への関与を検討した。

対象と方法

疾患好発系の BALB/c マウスと疾患非好発系 C57BL/6 マウスに、0.5 mg の抗 CD25 抗体を投与し 4 日後に 10⁸ pfu の Ad-TSHR289 で免疫を行なった。免疫は 3 週間間隔で 2 回繰り返した。2 回目の免疫から 2 週間後に採血を行い、甲状腺組織を摘出した。抗 CD25 抗体による Treg の除去は、フローサイトメトリーにより確認した。血清 thyroxine (T₄) を radioimmunoassay により測定し、コントロール群の平均値 + 3 SD 以上をバセドウ病発症とした。血清 thyroid stimulating antibody (TSAb) は血清を添加したラット正常甲状腺細胞 FRTL-5 から放出される cAMP を指標に測定した。血清 thyroid blocking antibody (TBAb) は TSH による FRTL-5 からの cAMP 産生の血清添加による阻害率を指標に測定した。血清抗 TSHR 抗体価は、TSH-binding inhibiting antibody assay、抗体のサブクラスは enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

により測定した。TSHR 特異的な免疫反応は、免疫後 10 日後にマウスの脾細胞を採取して、TSHR タンパクで 4 日間刺激し産生される IFN- γ を ELISA によって測定して検討した。甲状腺組織は H&E 染色を行い検討した。

結 果

抗 CD25 抗体 0.5 mg 投与による Treg の除去がフローサイトメトリーにより確認された (6.0%→1.7%)。非好発系の C57BL/6 マウスは、Ad-TSHR289 の免疫のみでは発症が認められなかったが、抗 CD25 抗体で予め Treg を除去すると、10 匹中 3 匹のマウスで発症が認められた。好発系の BALB/c マウスでは、抗 CD25 抗体の投与群と非投与群の間で発症率に差は認められなかった。しかし、抗 CD25 抗体投与群では血清 T₄ 値の有意な増加が認められた (22.2±13.2 vs. 11.9±5.2 μ g/dl ; p<0.05)。抗 TSHR 抗体価は抗 CD25 抗体投与群で上昇した。さらに BALB/c マウスでは TSAb は上昇し TBAb は減少した。しかし、抗体の IgG サブクラスには影響を与えなかった。脾細胞による TSHR 特異的な IFN- γ 産生にはいずれのマウスの系統でも Treg の除去は影響を与えなかった。甲状腺組織を H&E 染色したところバセドウ病発症マウスの組織には濾胞上皮の肥厚などの甲状腺過剰刺激の所見が得られた。さらに C57BL/6 の甲状腺では発症した 3 匹中 2 匹でリンパ球の浸潤が認められた。

考 察

抗 CD25 抗体により Treg を除去する事で、Ad-TSHR289 バセドウ病モデルマウスの非好発系 C57BL/6 マウスにおいて発症率を増加させ、好発系の BALB/c マウスにおいてはバセドウ病の発症率には影響を与えなかったが、重症度を増加させた。このように Treg は、このマウスバセドウ病モデルにおいて、好発系と非好発系の両系統のマウスで、疾患の抑制に重要な役割を果たしている事が明らかとなった。さらに、好発系と非好発系のマウスの間で Treg を除去しても疾患感受性に違いが認められた事から、本モデルにおける疾患感受性の違いは、Treg の機能の違いによるものではないことが示唆された。このように、エフェクター T 細胞と制御性 T 細胞のバランスが、崩れることがバセドウ病の発症に関係するメカニズムの 1 つである可能性が示された。