



## Circulating activated T cell subsets in autoimmune thyroid diseases : Differences between untreated and treated patients

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大橋, 弘幸 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1419">http://hdl.handle.net/10271/1419</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 142号	学位授与年月日	平成 5年 3月 9日
氏 名	大 橋 弘 幸		
論文題目	<p>Circulating activated T cell subsets in autoimmune thyroid diseases :  Differences between untreated and treated patients  (自己免疫性甲状腺疾患における末梢血活性化 T 細胞サブセット :  未治療と治療患者における差異)</p>		

医学博士 大橋弘幸

## 論文題目

Circulating activated T cell subsets in autoimmune thyroid diseases: Differences between untreated and treated patients

(自己免疫性甲状腺疾患における末梢血活性化 T 細胞サブセット：未治療と治療患者における差異)

## 論文の内容の要旨

近年、モノクローナル抗体の利用とフローサイトメトリーの応用によりリンパ球サブセットの正確な測定が可能になった。現在までにバセドウ病、橋本病や亜急性甲状腺炎におけるリンパ球サブセットについて検討がなされているが、相反する結果が報告されており、治療との関連について調べたものは少ない。今回、2重染色フローサイトメトリーの技術を使用し、治療前後の甲状腺機能と活性化 T ( $\text{Ia}^+ \text{CD3}^+$ ) 細胞サブセットの変化との関連について検討した。

【対象・方法】対象患者は、バセドウ病56名（未治療：9名、治療後甲状腺機能亢進状態：10名、治療後甲状腺機能正常状態：23名、治療後甲状腺機能低下状態：14名）橋本病16名、亜急性甲状腺炎7名、正常者18名を対象とした。〔1〕リンパ球サブセットの分析：(i) ヘパリン加末梢血を午前8～10時に採血し、末梢血単核球を Ficoll-Hypaque 比重遠心法にて分離した。(ii) モノクローナル抗体は、FITC 標識 T3 (anti-CD3), T4 (anti-CD4), T8 (anti-CD8), B1 (anti-CD20) と PE 標識 I2 (anti-HLA-DR), 2H4 (anti-CD45R) 4B4 (anti-CD29) を使用した。(iii)  $5 \times 10^6 / \text{ml}$  の末梢血単核球200  $\mu\text{l}$  に FITC 標識及び PE 標識モノクローナル抗体を加え、氷上で1時間培養染色した。(iv) 検体は、フローサイトメトリー法 (EPICS V) にて、10,000個のリンパ球を解析した。〔2〕TBII (TSH Binding Inhibitor Immunoglobulin) は、ラジオレセプターアッセイ法で測定した。

【結果】〔1〕末梢血リンパ球サブセットの変化：①バセドウ病未治療患者において、 $\text{CD8}^+$  細胞の有意な低下 ( $p < 0.05$ ) と  $\text{CD4} / \text{CD8}$  比の上昇 ( $p < 0.05$ ) を認めた。②機能亢進群では、 $\text{CD4} / \text{CD8}$  比が上昇 ( $p < 0.05$ ) していた。③橋本病では、 $\text{CD3}^+$  細胞の低下 ( $p < 0.01$ ) が認められた。④亜急性甲状腺炎では、甲状腺中毒期に B 細胞と  $\text{CD4} / \text{CD8}$  比の増加していたが、寛解期には正常化した。〔2〕活性化 T 細胞サブセットの変化：①  $\text{Ia}^+ \text{CD3}^+$  および  $\text{Ia}^+ \text{CD4}^+$  細胞は、バセドウ病の未治療、治療後の甲状腺機能状態とは関係なく増加していた ( $p < 0.05$ )。②  $\text{Ia}^+ \text{CD8}^+$  細胞は、未治療バセドウ病群、治療後機能亢進群では、正常者に比し有意な変化がみられなかったが、治療後機能正常化群と低下群では有意 ( $p < 0.05$ ) に増加した。③橋本病では、活性化 T 細胞サブセットの増加がみられた。④亜急性甲状腺炎の甲状腺中毒期に  $\text{Ia}^+ \text{CD4}^+$ ,  $\text{Ia}^+ \text{CD8}^+$  細胞が有意に増加したが ( $p < 0.05$ )、寛解期には正常化した。⑤甲状腺疾患においては甲状腺機能にかかわらず、ヘルパー T 細胞 ( $\text{CD4}^+ 2\text{H4}^-$ ,  $\text{CD4}^+ 4\text{B4}^+$ ) 細胞、サプレッサーインデューサー T 細胞 ( $\text{CD4}^+ 2\text{H4}^+$ ,  $\text{CD4}^+ 4\text{B4}^-$ ) は変化しなかった。〔3〕バセドウ病の活性化 T 細胞サブセットと TBII との関係： $\text{Ia}^+ \text{CD8}^+$  が高値のバセドウ病患者は、TBII が低値であった。逆に、 $\text{Ia}^+ \text{CD8}^+$  が低値の者は、TBII が高値であった。

【考察】1988年、Totterman らは、バセドウ病患者において  $Ia^+ T$  細胞の増加とメチマゾール投与後の  $Ia^+ CD8^+$  細胞の一過性の増加を報告し、メチマゾールのような抗甲状腺剤が、バセドウ病において活性化サプレッサー T 細胞 ( $Ia^+ CD8^+$ ) を誘導すると報告している。今回の我々の結果では、未治療バセドウ病や治療後甲状腺機能亢進状態で、同様に末梢血中  $Ia^+ CD3^+$ ,  $Ia^+ CD4^+$  細胞の増加を認めたが、 $Ia^+ CD8^+$  細胞は機能亢進状態では正常者に比して有意の変動はなく、治療後機能正常化群あるいは機能低下群のみで増加していた。また、高力価の TBII を持ったバセドウ病患者は、 $Ia^+ CD8^+$  細胞が低値の傾向 ( $p=0.07$ ) がみられた。一方、亜急性甲状腺炎では、甲状腺中毒期に全ての  $Ia^+ T$  細胞サブセットが増加し、寛解期には完全に正常化した。これら結果は、バセドウ病でみられる  $Ia^+ T$  細胞の増加は、亜急性甲状腺炎の一過性の正常な免疫応答とは異なり、自己免疫反応を反映していることを示唆する。さらに、バセドウ病において  $Ia^+ CD8^+$  細胞の増加は、本症の活動性の抑制や TBII の低下と関連して免疫抑制的に働き、寛解に導くものと推察された。

【結語】バセドウ病では、亜急性甲状腺炎の免疫応答とは異なり、抗甲状腺剤の投与により活性化サプレッサー T ( $Ia^+ CD8^+$ ) 細胞が増加し、TBII の低下とともに寛解に導くことが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

バセドウ病は自己免疫疾患で、その発症原因として TSH レセプタ抗体などの液性免疫に関する報告が多いが、細胞性免疫の役割については未だ明らかでない。申請者は自己免疫性甲状腺疾患患者の末梢リンパ球サブセットを解析して、その細胞性免疫の異常と甲状腺機能および治療効果との関連を検索した。

審査委員会において申請者によりなされた口頭発表と論文内容について審査した結果次の点が評価された。

1. バセドウ病56例、橋本病16例、亜急性甲状腺炎7例、および中毒性自己免疫性甲状腺炎2例について、治療前後の末梢血を採取し、二重染色フローサイトメトリの手技により、活性化  $HLA-DR^+ T$  リンパ球、ヘルパー T リンパ球 ( $CD4^+ 2H4^-$ ,  $CD4^+ 4B4^+$ ) および、サプレッサーインデューサー T リンパ球 ( $CD4^+ 2H4^+$ ,  $CD4^+ 4B4^-$ ) を分析し健常人を対象に活性化リンパ球の出現頻度を比較検討した。この際対象とした症例の種類、数、測定法、判定法はいずれも本研究の目的にそった方法で成績の判定上問題がないと判断された。
2. バセドウ病、および橋本病では、治療効果の有無と無関係に、活性化 T リンパ球 ( $Ia^+ \cdot CD3^+$ ) および、活性化ヘルパーインデューサー T リンパ球 ( $Ia^+ \cdot CD4^+$ ) の比率が増加しており、活性化された  $CD4^+ T$  細胞がこれら疾患の発症機序に重要な役割を演じていることが示唆された。
3. 活性化サプレッサー T リンパ球 ( $Ia^+ \cdot CD8^+$ ) の比率は、バセドウ病で、治療により機能が正常化又は低下した症例では増加したが、機能が改善しないで機能亢進状態が続いた症例では増加しなかった。また  $Ia^+ \cdot CD8^+$  細胞が増加しているバセドウ病の症例ではレセプタ抗体価 (TBII) の低い傾向がみられた。これらのことから活性化サプレッサー T リンパ球の誘導が免疫抑制効果と関連している可能性が示された。
4. 亜急性甲状腺炎では、血中甲状腺ホルモンの過剰な時期では  $Ia^+ \cdot CD4^+$  細胞、 $Ia^+ \cdot CD8^+$  細胞共にその比率が増加し、寛解期に入るとこれらの細胞は正常化した。亜急性甲状腺炎では自己免疫疾患とは異

なる反応を示した。

以上、本研究は二重染色フローサイトメトリの手技を用いて甲状腺疾患の治療前後の甲状腺機能と活性化Tリンパ球亜群の変化との関係を明らかにしたもので、自己免疫の異常発症機構を解明する上で示唆に富むものであると高く評価された。

審査の過程で次のような質問がなされた。

1. 対象患者の症状、他の自己免疫疾患の合併の有無
2. 採血時間、採血回数
3. 測定器の特性、測定感度、再現性
4. 対照健常人の性、年齢、数
5. 比率の表示と絶対数表示
6. Tリンパ球の活性化と形態の変化
7. 末梢血リンパ球亜群と甲状腺浸潤リンパ球との相関
8. 抗甲状腺剤の免疫抑制作用とその機序
9. 活性化ヘルパーTリンパ球の作用機序
10. 活性化サプレッサーTリンパ球の増加の意味
11. 甲状腺濾胞細胞の抗原提示能
12. 本研究の将来への展望、臨床応用の可能性

以上の試問に対し申請者は、ほぼ適切な解答を行い、本論文は博士（医学）の学位授与に値するものと審査員全員で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 吉 見 輝 也

副査 教授 瀧 川 雅 浩 副査 教授 山 下 昭

副査 教授 吉 田 孝 人 副査 助教授 室 博 之