

高老年期女性に発症する関節リウマチの T濾胞ヘルパー細胞の免疫代謝調節機構の解明

Elucidation of immunometabolic network of T follicular helper cells in female patients with elderly-onset rheumatoid arthritis

慶應義塾大学医学部 内科学（リウマチ・膠原病）専任講師 秋山 光浩

要 約

関節リウマチ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。また、肺合併症等をきたし生命予後にも影響を及ぼすため、病態解明にもとづく治療戦略の改善は喫緊の課題である。近年、人口の高齢化に伴い、関節リウマチも高老年期の発症例が増加している。高老年期発症の関節リウマチ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、高老年期発症の関節リウマチ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。今回、我々は免疫老化に関与している細胞障害性CX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞が高老年期発症関節リウマチの末梢血中で増加しており、疾患活動性と相関していることを見出した。さらに、このT細胞サブセットは高老年期発症関節リウマチの滑膜炎局所に浸潤していた。以上より、細胞障害性CX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞が高老年期発症の関節リウマチの病態形成に寄与している可能性が示唆された。また、T濾胞ヘルパー細胞では解糖系経路が亢進してエフェクター機能を発現している可能性を見出している。

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起きて関節の疼痛や腫脹が生じる疾患であり、40～50代の女性に好発する。近年、人口の高齢化に伴い60歳以上の高老年期女性に発症する関節リウマチが劇的に増加している。60歳以下で発症する関節リウマチと比べ、高老年期に発症する関節リウマチは疾患活動性が高く、関節破壊が急速に進行して身体機能障害を呈することが特徴である。したがって、高老年期発症の関節リウマチ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。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。

我々は、T濾胞ヘルパー細胞やT濾胞ヘルパー様細胞がエフェクター機能を有するB細胞や自己抗体を産生するB細胞を分化成熟させるのに必須のT細胞サブセットであることをヒト検体を用いた研究で明らかにしてきた^{1,2}。特に、CX3CR1陽性T濾胞へ

ルパー様細胞が免疫老化で増加して細胞障害機能活性をもつことを報告してきた^{3,4}。そのような背景から、高老年期発症の関節リウマチの免疫学的病態に細胞障害性T濾胞ヘルパー様細胞が関与している可能性がある。

近年、T細胞の分化や機能において代謝機構が重要な役割をもつことがわかっており、それぞれのT細胞サブセット特異的な代謝機構を活性化させているが、それを障害するとT細胞の生存率や機能の低下につながる。本研究では、我々が最近発見した新規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の高老年期発症関節リウマチ病態への関与とT細胞免疫代謝プロファイルを明らかにすることを目的とする。

方 法

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陽性T濾胞ヘルパー様細胞の割合を測定

した。次に、関節リウマチの臨床特徴別（60歳以上の高老年期発症かそれ以外か）にCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様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。高老年期発症の関節リウマチ患者の関節滑膜炎局所のCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の浸潤を、生検標本の免疫組織化学染色により評価した。

T濾胞ヘルパー様細胞を抽出し、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シーケ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) 関節リウマチ患者と健常人の末梢血CX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の比較解析

関節リウマチ患者で健常人と比較して末梢血中のCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞が増加していた（図1）。

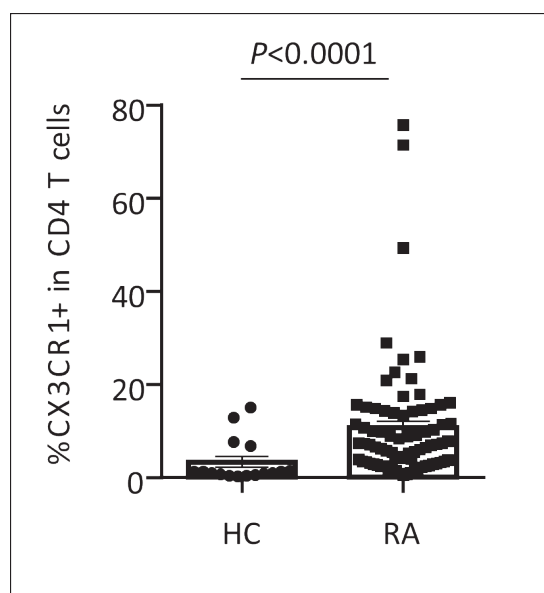


図1. CX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞が関節リウマチの末梢血で増加

(2) 関節リウマチの臨床特徴で分けたCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の比較解析

関節リウマチ患者を高老年期発症（elderly-onset RA, EORA）かそれ以外（non-EORA）に分けてCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の割合を比較し

たところ、EORAで有意に増加していた。また、年齢と正の相関を示した。

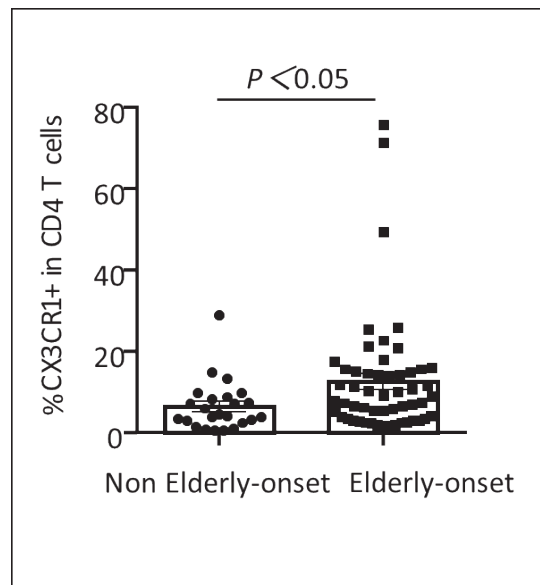


図2. CX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞が高老年期発症の関節リウマチの末梢血で増加

(3) 関節リウマチの疾患活動度とCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の関連

関節リウマチの疾患活動度とCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の割合の関連を解析した結果、CX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の割合は関節炎の活動度と正の相関を示した。

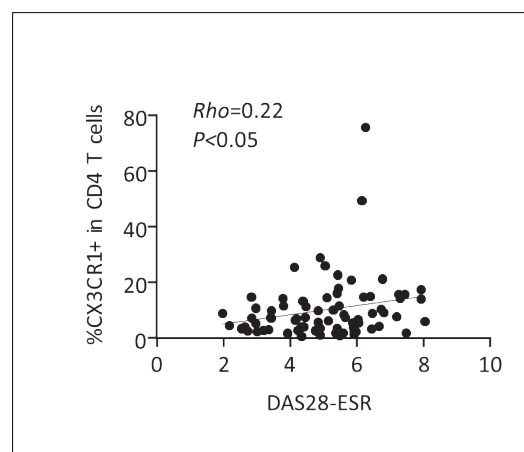


図3. CX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の割合は関節炎の重症度と正に相関

(4) 関節滑膜炎局所のCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の解析

高老年期発症の関節リウマチ患者の関節滑膜炎局

所の病理標本を用いて免疫組織化学染色によりCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞の浸潤の有無を評価した。その結果、高老年期発症の関節リウマチ患者の関節滑膜炎局所にCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞が浸潤していた。

(5) T濾胞ヘルパー細胞の免疫代謝活性

RNAシーケ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4）。

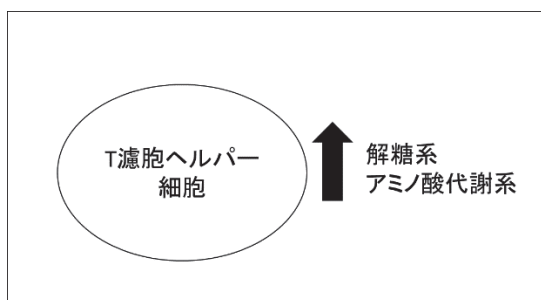


図4. エフェクター機能発現の高いT濾胞ヘルパー細胞は解糖系とアミノ酸代謝系が亢進

考 察

本研究で我々は、関節リウマチ患者では末梢血中にCX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様細胞が増加しており、特に高老年期発症の関節リウマチ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陽性T濾胞ヘルパー様細胞は高老年期発症の関節リ

ウマチの病態に関与している可能性が考えられた。CX3CR1陽性T濾胞ヘルパー様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、これらの分子が高齢発症関節リウマチの滑膜炎に寄与している可能性がある。高老年期発症の関節リウマチの新規治療として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をすることでこの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。

謝 辞

本研究に多大なご支援を受け賜りました、公益財団法人 神澤医学研究振興財団ならびに関係者の皆様に深謝申し上げます。

参考文献

1. Akiyama M, Alshehri W, Yoshimoto K, Kaneko Y. T follicular helper cells and T peripheral helper cells in rheumatic and musculoskeletal diseases. *Ann Rheum Dis.* 2023 Nov;82(11):1371-1381.
2. Akiyama M, Kaneko Y, Takeuchi T. T follicular helper cells mediate local production of allergen-specific IgE and IgG4. *J Allergy Clin Immunol.* 2022 Nov;150(5):1045-1047.
3. Seki N, Tsujimoto H, Tanemura S, et al. Cytotoxic Tph subset with low B-cell helper functions and its involvement in systemic lupus erythematosus. *Commun Biol.* 2024 Mar 6;7(1):277.
4. Akiyama M, Yoshimoto K, Kaneko Y. Significant association of CX3CR1+CD8 T cells with aging and distinct clinical features in Sjögren's syndrome and IgG4-related disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2023 Dec;41(12):2409-2417.

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) has a higher incidence in women and is an autoimmune disease that causes inflammation in the synovium of the joints. Without early and appropriate intervention, RA can lead to functional impairment due to joint destruction. Additionally, complications such as lung involvement can impact the overall prognosis, emphasizing the urgent need for improved therapeutic strategies based on a better understanding of the disease pathophysiology. In recent years, with the aging of the population, there has been an increase in cases of RA onset in the elderly. RA onset in the elderly often presents as acute cases with high disease activity, elevated inflammatory markers in the blood, and distinctive clinical features. Therefore, there is a possibility that the immunological pathogenesis differs between RA onset in the elderly and in other age groups. In this study, we identified an increase in cytotoxic CX3CR1-positive T follicular helper-like cells, which are involved in immune aging, in the peripheral blood of elderly-onset RA patients. These cells were found to correlate with disease activity. Furthermore, this subset of T cells was observed to infiltrate the synovial inflammation site in elderly-onset RA. Hence, there is suggestive evidence that cytotoxic CX3CR1-positive T follicular helper-like cells may contribute to the pathogenesis of elderly-onset RA. Additionally, we discovered that the glycolytic pathway is upregulated in T follicular helper cells, potentially contributing to the expression of effector functions.