

令和 4年 9月

魚谷 竜 学位論文審査要旨

主 査 景 山 誠 二

副主査 山 崎 章

同 宮 崎 大

主論文

Antiviral cytotoxic T lymphocyte responses for long term prognosis of corneal infection by cytomegalovirus in immunocompetent subjects

(非免疫不全者におけるサイトメガロウイルス (CMV) 角膜炎の長期予後と細胞傷害性T細胞の応答性)

(著者：魚谷竜、宮崎大、清水由美子、大谷史江、春木智子、佐々木慎一、小山あゆみ、井上幸次、錫谷達夫)

令和4年 Scientific Reports doi:10.1038/s41598-022-09312-8

参考論文

1. Corneal endothelial cells activate innate and acquired arm of anti-viral responses after cytomegalovirus infection

(角膜内皮細胞はサイトメガロウイルス感染により、ウイルスに対する自然免疫および獲得免疫を活性化する)

(著者：宮崎大、魚谷竜、井上美智子、春木智子、清水由美子、矢倉慶子、山上聡、錫谷達夫、細貝真弓、磯村寛樹、井上幸次)

平成29年 Experimental Eye Research 161巻 143頁～152頁

2. Effectiveness of 16S ribosomal DNA real-time PCR and sequencing for diagnosing bacterial keratitis

(細菌性角膜炎の診断における16SリボソームDNAリアルタイムPCRおよびシーケンスの有効性)

(著者：清水大輔、宮崎大、江原二三枝、清水由美子、魚谷竜、稲田耕大、佐々木慎一、井上幸次)

令和2年 Graefe's Archive for Clinical Experimental Ophthalmology
258巻 157頁～166頁

学位論文要旨

Antiviral cytotoxic T lymphocyte responses for long term prognosis of corneal infection by cytomegalovirus in immunocompetent subjects

(非免疫不全者におけるサイトメガロウイルス(CMV)角膜炎の長期予後と細胞傷害性T細胞の応答性)

眼におけるサイトメガロウイルス (CMV) 感染症は、免疫不全者に見られる網膜炎が代表的であるが、非免疫不全者においても稀に前眼部炎症を起こすことがある。特に角膜内皮炎は、角膜内皮細胞の損失による機能不全により、角膜移植が必要となる。健康な非免疫不全者が、角膜内皮炎を繰り返し再発する理由は、依然として不明である。一方で、CMV感染とその活性化を抑制する宿主側の要因として、抗ウイルス性細胞傷害性T細胞 (CTL) 応答が認識されている。本研究では、CMV感染した角膜内皮細胞において、CTL反応がCMV角膜内皮炎の転帰や予後にどのように影響するかを解析することを目的とした。我々は、CMV抗原蛋白であるpp65特異的CTL応答が再発を抑え、内皮細胞の消失から角膜を保護することを明らかにした。一方、IE1特異的CTL応答は、適切なpp65特異的CTL応答が誘導されない場合、角膜移植や緑内障手術を必要とする予後不良因子となっていた。

方法

対象は鳥取大学医学部附属病院を受診したCMV角膜内皮炎患者とした。CTL抗原提示細胞として、不死化ヒト角膜内皮細胞 (HLA A*2402) を使用した。角膜内皮炎患者は、HLAタイプング後、A*2402の9名11眼を対象とした。

ヒト角膜内皮 (HCE_n) 細胞に対するウイルス抗原特異的CTL測定は、以下の通り行った。まず、対象患者から採取した血液から、Ficoll密度勾配遠心法及び、ネガティブセレクションを用いてCD8⁺ Tリンパ球を分離した。続いて、CMV特異的CD8⁺ Tリンパ球を獲得するために、CMVに感染させたHCE_n細胞と、分離したCD8⁺ Tリンパ球を共培養した。CTL反応を測定するために、CMVペプチドを付加したHCE_n細胞を、獲得したCMV特異的CD8⁺ Tリンパ球と共培養した。CMVペプチドは、pp65:QYDPVAALF とIE1:SSAKRKMPD の2種類を用いた。6時間後上清を回収し、グランザイムBを測定した。

結果

CMV角膜内皮炎患者において、角膜内皮細胞密度は、平均では79.73/mm²/year減少した。これに対し、pp65に対するCTLの誘導は、内皮細胞密度の低下を有意に改善した

(448/mm²/fold increase, P=0.000)。一方、IE1特異的CTLの誘導は、内皮細胞密度を有意に減少させた(133.98/mm²/fold increase P=0.000)。次に、CMV特異的CTLが発症から角膜移植までの間隔にどのように影響するかを評価した。IE1特異的CTLの誘導は、角膜移植までの時間を有意に短縮した(ハザード比/fold increase: 1.64, P=0.003)一方、pp65特異的CTLの誘導は、角膜移植までの時間を延長させた(ハザード比/fold increase: 0.54, P=0.05)。次に無再発期間とCTL誘導の関連性を検討した。その結果、pp65特異的CTLは有意に無再発期間を延長させた(ハザード比/ fold increase : 0.93, P=0.01)。一方、IE1特異的CTLは、無再発期間との関連は認めなかった。最後に緑内障手術までの期間について解析したところ、IE1特異的CTLの誘導は手術までの時間を有意に短縮した(ハザード比/ fold increase : 1.47, P=0.001)。

考 察

IE1特異的CTLの誘導は、角膜内皮の損失や眼圧上昇を含む予後不良と関連することが示された。一般に、CTL応答は、組織損傷を起こし、特有の病理像をきたすことがある、これには、ウイルス抗原の性質と感染細胞の量が重要な要因であると思われる。CTLは、ウイルスに感染した細胞と接触すると、グランザイムやパーフォリンを介して、感染細胞を破壊する。また、感染細胞のアポトーシスを誘導して除去するとともに、ケモカインを介した炎症細胞の活性化を引き起こす。このように、無症候性に発現しやすいIE1を標的とする場合、防御効果とダメージ効果のアンバランスが、IE1特異的CTLが予後不良と関連する可能性がある。CMV感染症に対するワクチン開発では、幹細胞移植を受けた患者を含め、pp65が最も効果的なCTLエピトープであることが示されている。これらと我々の知見は、pp65が眼CMV疾患を予防するワクチンのエピトープとして良い候補となる可能性を示唆している。

結 論

pp65特異的CTL活性は、視覚的予後の改善と関連していた。しかし、pp65特異的CTL活性が不完全な状態でのIE1特異的CTLの誘導は、予後不良因子となる可能性がある。