

審査の結果の要旨

井上眞璃子

全身性エリテマトーデスをはじめとした自己抗体産生を介する自己免疫疾患において、B細胞は抗体産生を行い、病態に深く関与している。そのためB細胞を制御する治療が注目されているが、臨床応用に至った治療法はいまだ少ない。本研究は、制御性T細胞のサブセットの一つであるLAG3⁺Tregが産生するサイトカインTGF-β3およびIL-10が、どのようにB細胞を抑制するかを明らかにするため、マウスB細胞およびループスモデルマウスを用いて検討を行い、下記の結果を得ている。

1. マウスB細胞を抗IgM抗体にて刺激し培養したところ、TGF-βはSykのリン酸化抑制を介して細胞増殖を抑制した。また、抗CD40抗体およびIL-4刺激にて培養したところ、TGF-βはSTAT6のリン酸化抑制を介して抗体産生を抑制した。
2. TLR4アゴニストであるLPSにてB細胞を刺激したところ、TGF-βはB細胞の増殖を抑制することができず、IgG、IgAの産生を逆に促進し、刺激条件によってTGF-βのB細胞への作用が異なる事が明らかになった。
3. LPS刺激下B細胞の増殖および抗体産生は、TGF-βおよびIL-10を同時に添加することで抑制され、TGF-βとIL-10が協調してLPS刺激下B細胞を抑制することが示された。TGF-βとIL-10の協調性抑制作用に関連する遺伝子を解析するため、RNAシーケンス解析を施行したところ、TGF-β3およびIL-10を添加したLPS刺激下B細胞は、無刺激B細胞と同じクラスターに分類された。また、形質細胞分化に重要な転写因子Blimp-1をコードする*Prdm1*発現がTGF-β3およびIL-10添加群で低下しており、Blimp-1の発現低下を介して形質細胞分化および抗体産生が抑制されたと考えられた。
4. LPS刺激にTGF-β3およびIL-10を添加したB細胞では、オートファジー関連遺伝子やオートファジー関連タンパク質LC-IIの発現低下がおこり、オートファジーが抑制され抗体産生が抑制されている可能性が示された。
5. LPS刺激にTGF-β3およびIL-10を添加したB細胞では、オートファジーを誘導するシグナル伝達経路であるeIF2α-ATF4シグナル伝達経路に関連した遺伝子発現が低下していた。このことより、TGF-βおよびIL-10はLPS刺激条件下において協調してeIF2α-ATF4シグナル伝達経路関連した遺伝子群を抑制することで、オートファジーを抑制し液性免疫を制御すると考えられた。
6. 抗体産生を誘導するサイトカインIL-6の産生が、TGF-β3およびIL-10添加B細胞では完全に抑制されており、IL-6産生制御がB細胞活性化阻害メカニズムに関与している可能性が

考えられた。

7. TLR7 アゴニストであるイミキモドを塗布して誘導されるループスモデルマウスに、pCAGGS-Tgfb3 および pCAGGS-II10 を経静脈的に投与すると、血清中の抗 ds-DNA 抗体価が改善した。このことより pCAGGS-Tgfb3 および pCAGGS-II10 投与がイミキモド塗布ループスモデルマウスの病勢を改善する効果があることが示された。

以上、本論文はループスの病態に関与する TLR 刺激下の B 細胞において、TGF- β 3 単独では抗体産生誘導に作用してしまうものの、IL-10 を同時に添加することで抗体産生が抑制されることを明らかにし、この制御機構には eIF2 α -ATF4 シグナル抑制を介したオートファジーの抑制が関与していることを示した。本研究より TGF- β 3 および IL-10 が協調して TLR 刺激下 B 細胞を制御することが示され、SLE をはじめとした自己免疫疾患に対して B 細胞をターゲットとして TGF- β 3 および IL-10 を作用させる方法が新規治療戦略となる可能性が期待され、学位の授与に値するものと考えられる。