

審査の結果の要旨

氏名 花田 徳大

本研究は全身性エリテマトーデス (SLE) における好中球細胞外トラップ (NETs) 形成に必須である Peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) の役割を検討するため、NETs を欠く *Padi4* knock out (KO) マウスを用いて解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 8 週齢の雌 BALB/c マウスに対して Toll like receptor (TLR) 7 刺激薬である Imiquimod (IMQ) の耳朶塗布を行い、同時に PAD 阻害薬である Cl-amidine を腹腔内投与してループス様病態に対する影響を評価した。IMQ 耳朶塗布により誘発される蛋白尿は、Cl-amidine 治療により改善することが示された。
2. NETs を完全に欠損した系での検討を目的として、B6 *Padi4* KO マウスにおいて IMQ 耳朶塗布によるループス様病態を評価した。*Padi4* KO マウスでは Wild Type (WT) と比較して、IMQ 耳朶塗布による脾腫、蛋白尿、耳朶皮膚表皮肥厚、炎症細胞浸潤の改善を認め、NETs 欠損による SLE 様病態の改善作用が示された。また、蛋白尿の減少は Cl-amidine 治療時と比較し、より顕著であった。
3. IMQ 耳朶塗布 *Padi4* KO マウスにおける腎臓、脾臓の免疫細胞サブセットの解析をフローサイトメーターにより行った。脾臓では CD11b 陽性細胞の *Padi4* 欠損による変化が明らかでなかった一方で、障害臓器である腎臓においては *Padi4* 欠損による CD11b 陽性細胞の浸潤が減少していた。
4. IMQ 耳朶塗布マウスにおけるミエロイド系細胞の遺伝子発現の変化を検討した。IMQ 耳朶塗布 8 週後における骨髓顆粒球における遺伝子発現を検討したところ、*Padi4* 欠損顆粒球における IFN- α 発現の低下傾向を認めたものの、ループス腎炎に関与しているとされるケモカイン、サイトカインである MCP1、IL-6 発現の変化は認めず、有意な遺伝子発現の変化は明らかでなかった。
5. SLE における NETs の役割についてヒト検体を用いて検討した。NETs を含む免疫複合体によりヒト単球は活性化され、Interferon (IFN) - α 添加により顕著となった。
6. マウス B 細胞刺激における活性化 B 細胞の割合、Plasmablasts への分化割合を評価した。WT、*Padi4* KO マウスの間では IFN- α 、各 TLR 刺激による活性化 B 細胞の割合に差は認められなかった。また、IFN- α 、各 TLR 単独刺激では両群で Plasmablasts への分化割合に差は認められなかったものの、IFN- α で事前に培養後、LPS、R848 で刺激すると、*Padi4* KO B 細胞において WT B 細胞と比較し、有意に Plasmablasts への分化割合が増加した。さらにヒト B 細胞に対する NETs の影響を検討したが、NETs および NETs を含む免疫複合体による B 細胞刺激作用は明らかではなかった。

以上、本論文は *Padi4* 欠損マウスで腎炎局所のミエロイド系細胞増加が抑制されていること、NETs を含む免疫複合体によりヒト単球は活性化され、IFN- α 添加により顕著となることを明らかにした。これらの結果から、腎局所での NETs を含む免疫複合体による単球刺激作用が、SLE 病態における新規の重要な機序である可能性が示唆された。PADI4 阻害による NETs 産生抑制が SLE 腎炎の新たな治療法開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。