

## [課程-2]

### 審査の結果の要旨

氏名 坂内 穎

本研究は、lymphopenia-induced proliferation (LIP) を介した全身性及び臓器特異的自己免疫モデルにおいて、neutrophil extracellular traps (好中球細胞外トラップ: NETS)の関与を短期的及び長期的な視点で検討したものである。

これまでの研究では、LIP の系において、胸腺のないヌードマウスに Tc(CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup>)を移入することにより、Tc が LIP を経て LIP-Tfh (ICOS<sup>+</sup> CD200<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup> CXCR5<sup>+</sup>)に分化し、GC-B (Fas<sup>+</sup> GL-7<sup>+</sup> B220<sup>+</sup>)が誘導されることが示されていた。そして、全身性自己抗体及び臓器特異的自己抗体の産生が促進され、胃炎や腸炎、卵巣炎、唾液腺炎など様々な臓器障害を発症する。更に、腸内滅菌をすると、LIP が抑制されることから、LIP-Tfh の誘導には腸内細菌の存在が必須であることが明らかになっていた。

一方で、SLEをはじめとした多くの自己免疫疾患において、NETs 制御異常が病態形成に関与していることが知られている。

今回、腸内細菌が関与している自己免疫モデルにおいて、NETs が以下の機序で病態に関与していることが示された。

1. ヌードマウスに腸内滅菌を行うと、腸管及び脾臓における NETs 形成が抑制されたことから、腸内細菌は NETs 形成に促進的にはたらくことが示された。
2. 2種類の NETs 阻害剤(NETs 生成阻害能を持つ Cl-amidine と NETs 分解促進能を持つ DNase I)を投与することにより、Tc 移入 5 日後のレシピエント脾臓において LIP-Tfh や GC-B の誘導が抑制されたことから、NETs は LIP-Tfh や GC-B の誘導に促進的にはたらくことが示された。
3. DNase I の投与により、全身性自己抗体としての抗核抗体及び臓器特異的自己抗体としての抗胃抗体産生が抑制されたことから、NETs はそれらの自己抗体の産生を促進することがわかった。しかし、両者の機序は異なっているものと考えられ、抗核抗体の産生においては、NETs 上に露出した核酸が自己抗原として認識され、抗核抗体が誘導されている可能性が考えられるのに対して、抗胃抗体の産生においては、NETs が胃細胞抗原をトラップしてい

る他に、何らかの間接的な関与が示唆されている。

4. DNase I を 8 週間投与し、長期的な NETs 阻害による臓器障害への影響を検討したところ、唾液腺や卵巣、膵臓、甲状腺の炎症は改善しなかったものの、胃炎や腸炎は軽減した。NETs が消化管病態の形成に寄与している機序として、bacterial translocation による細菌の侵入を防ぐために腸管壁で NETs が形成され、炎症性サイトカイン等を介し消化管障害を惹起していることが考えられた。一方、その他の臓器においては、病態形成には NETs を介さないことがわかった。
5. 胃炎や腸炎の改善が抗体介在性の機序によるか否かを検討した。Rag-/-マウスの胃や腸の組織に、Tc 移入をしたヌードマウスの血清、Tc 移入をした上で DNase I を投与したヌードマウスの血清をそれぞれ反応させ、抗マウス IgG 抗体によりそれぞれの蛍光強度を観察した。その結果、Tc 移入群では抗胃抗体が存在し、また DNase I の投与により抗胃抗体が減少した。一方、腸に対する抗体は Tc 移入群において検出されなかった。胃炎には抗体介在性の機序が関与しているが、腸炎には抗体非介在性の機序が関与していることがわかった。
6. NETs を標的とする治療は、腸内細菌が関与する自己免疫病態を制御する有効な治療法である。

以上、本論文は LIP を介した自己免疫モデルにおいて、NETs が関与していること、NET 阻害が自己免疫病態を制御する上で有用であることを明らかにした。本研究はこれまで知見の乏しかった、自己免疫病態における NETs の果たす役割の解明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。