

[課程・2]

審査の結果の要旨

氏名 タニタ ノール
Tanita Noor

本研究は、制御性 T 細胞(regulatory T cell)のひとつである CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺制御性 T 細胞の除去マウスモデルについて研究したものである。従来の報告では、LAG-3 ノックアウトマウスをはじめ、CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺制御性 T 細胞が生体内で除去されたモデルの報告はなかった。本研究は、DNA ワクチンの手法を用いて、CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺制御性 T 細胞の除去マウスモデルの作成を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウス LAG-3 の D1-D3 部分の cDNA 配列を挿入した pCAGGS ベクター (pCAGGS-LAG-3)を用いて、野生型 C57BL/6 マウスに DNA ワクチンを行ったところ、一部のマウスで蛋白尿・脱毛・皮膚炎など、全身性の炎症所見を示唆する症状を認めた。筋肉注射・皮下注射・静脈注射の方法を比較したところ、静脈注射でもっとも効率よく全身性の炎症所見を認めたことから、経静脈的投与による DNA ワクチンを行い、解析を進めた。
2. DNA ワクチン後 8 か月の時点で、pCAGGS-LAG-3 ベクター投与群は、コントロールと比較して蛋白尿の発生率・重症度・抗 ds-DNA 抗体値が有意に高く、また生命予後も有意に悪かった。
3. pCAGGS-LAG-3ベクター投与群のマウスの一部では脾腫を認め、皮膚病理所見で表皮過形成や炎症細胞浸潤を認め、腎病理所見ではC3/IgG沈着を伴う糸球体腎炎所見を、肺病理所見では炎症細胞浸潤を認め、全身性エリテマトーデス様 (ループス様) 自己免疫病態の存在が示唆された。
4. 脾細胞のCD4⁺ T細胞をFACS解析したところ、pCAGGS-LAG3ベクター投与群のマウスでのうち、ループス様病変を呈したマウスでCD4⁺CD25⁻LAG-3⁺Egr2⁺ T細胞の著しい減少を認めた。他のCD4⁺ T細胞群には明らかな差を認めなかった。
5. また、pCAGGS-LAG-3ベクター投与群のマウスでのうち、ループス様病変を呈したマウスにおいて、抗LAG-3抗体値の上昇を認めた。この結果より、pCAGGS-LAG-3 DNA ワクチンにより、抗LAG-3抗体の産生が誘導され、CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺Egr2⁺ T細胞が除去される機序の可能性が考えられた。

以上、本論文は、DNAワクチンによって抗LAG-3抗体が誘導され、CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺Egr2⁺ T細胞が著しく減少し、その結果ループス様病変が呈される可能性を示した。CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺制御性T細胞の除去マウスモデルについては、本研究が初めての報告となる。

現時点では、抗 LAG-3 抗体の産生が、CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺Egr2⁺ T 細胞の除去と直接的な関係があるかどうかは明確には証明されておらず、今後はハイブリドーマの手法などを用

いて精製された抗 LAG-3 抗体を用いた、CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺Egr2⁺ T 細胞除去実験による証明が必要となる。また、CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺Egr2⁺ T 細胞の除去がループス様病変と関連するかどうかについては、DNA ワクチンを行ったマウスに CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺ T 細胞を移入することで症状の緩和が見られるかどうかの検証による証明が必要となる。ただ、今回の結果から、野生型マウスにおいても、CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺Egr2⁺ T 細胞の除去によって自己免疫性病変を呈する可能性が考えられ、この発見は大きな価値があると思われる。本研究により今後の制御性 T 細胞の解析が大きく進む可能性があると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。