

審査の結果の要旨

氏名 大久保 光修

本研究は自己免疫性疾患や炎症状態に深く関わりとされる好中球細胞外トラップ (NETs) の抑制物質を同定するため、ヒト好中球、ヒト骨髄球系白血病細胞株 (neutrophil-like human myeloid leukemia cell line ; HL-60) 及び血管炎モデルマウスを使用し、NETs 形成に対するラクトフェリン (好中球顆粒内に貯留された蛋白の一つ) の機能解析を試みた研究であり、下記の結果を得ている。

1. 好中球顆粒成分の一つであるラクトフェリンが、無刺激の好中球においては細胞質に分布していたものが、代表的好中球顆粒成分であるミエロペルオキシダーゼ (MPO) やエラスターゼとは異なり刺激により細胞膜へ移行することが示唆された。
2. 外因性に投与されたラクトフェリンは、好中球細胞膜に集積しクロマチン膨張に続いて起こる好中球細胞膜の破裂を抑制することが示唆された。
3. 電子顕微鏡で観察した NETs 形成は、ラクトフェリン非存在下では一本一本のクロマチン線維が蜘蛛巣状に拡散するのに対し、ラクトフェリン存在下では一塊に凝集したような形態的特徴を呈した。
4. ラクトフェリンは NET-DNA と電荷的に結合し、電気的結合によって NETs 形成を抑制するという仮説が支持された。
5. ラクトフェリンは NETs 形成に必須とされている細胞内現象、すなわち活性酸素種 (reactive oxygen species ; ROS) の産生、それに引き続くエラスターゼの核移行および核内でのヒストン消失、また ROS により活性化される酵素 PAD4 が触媒するヒストンのシトルリン化などに影響を及ぼすことなく NETs 形成を抑制した。
6. 野生型マウス皮下への薬物刺激により惹起される皮下出血・血栓症は Local Shwartzman reaction (LSR) として知られ、IgG 非依存性局所血管炎モデルと考えられている。LSR においては細胞外に放出された NETs が内皮細胞傷害を引き起こしていると考えられるが、ラクトフェリンの経口投与によって皮下出血は抑制され、ラクトフェリンが *in vivo* においても NETs 形成を抑制することが示唆された。

以上、本論文は好中球が引き起こし血管炎を始めとした様々な疾患の発症に関与すると言われる NETs 形成に対する強力な抑制物質として、好中球顆粒内の一成分であるラクトフェリンを同定した。これまでに安全に NETs 抑制作用を発揮する内因性物質は報告がない。本論文は、ラク

トフェリンが NETs 形成を抑制する内因性物質であることを見出し、このことからラクトフェリンは NETs が関連する様々な疾患に対する安全な治療選択肢となり得る可能性を提示しており、学位の授与に値するものと考えられる。