

# 審査の結果の要旨

氏名 神崎 健仁

本研究は全身性自己免疫疾患の病態において重要な役割を演じていると考えられる抗核抗体の産生機序を明らかにするため、抗核抗体を産生するマウスモデルを新たに確立して、この系を用いて抗核抗体産生機序の解析を実際に試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. **homeostatic proliferation** に基づき自己免疫性疾患を発症する **lymphopenic mouse transfer model** のひとつで、これまで腸炎等の臓器特異的自己免疫疾患のマウスモデルとして用いられてきた **BALB/c** マウス由来 **CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T** 細胞(Tc)を **BALB/c** ノードマウスに移入するモデルがあるが、この系が従来のマウスモデルと比較して **IgG** 型抗核抗体を早期に高率に高抗体価で産生することを確認した。そのため本系を用いて、従来の動物モデルの様に遺伝学的背景等の制約を受けることなく、抗核抗体産生機序の検討ができることが示された。
2. 本系で Tc 移入5日後の脾臓を解析したところ、**Flow cytometry** により **GL-7<sup>+</sup>Fas<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>GC** B 細胞の増加や **CXCR5<sup>-</sup>CXCR4<sup>+</sup>ICOS<sup>+</sup>PD-1<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>**細胞の存在を認め、免疫蛍光染色により **PNA(peanut agglutinin)**で標識される GC の形成と GC 内に多数の **PD-1<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>**細胞が存在すること、T 細胞領域に多数の形質細胞様樹状細胞(**pDC**)が存在することが示された。そして **PD-1<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T** 細胞について、**PCR** により **IL-21** の産生が亢進することが、共培養で B 細胞の **IgG** 産生誘導能が高いことが示され、この細胞が **follicular helper T** 細胞と考えた。
3. **RAG** ノックアウトマウスに **BALB/c** マウスの B 細胞と **CD4<sup>+</sup>T** 細胞を移入しても十分に抗核抗体産生がみられること、**CD8<sup>+</sup>T** 細胞をノードマウスに移入すると抗核抗体産生誘導も GC の形成も乏しいこと、**RAG** 欠損 **DO11.10** マウス由来の非自己認識単一 **TCR** の Tc をノードマウスに移入しても十分に抗核抗体産生がみられるが腸炎は発症しないこと、オリゴヌクレオチドを用いて **TLR9** を阻害すると抗核抗体産生が抑制されること、が示された。そのため本系での抗核抗体産生誘導には Tc の存在が必要なこと、胸腺のないノードマウス由来のリンパ球に特殊な原因があるわけでないこと、自己反応性の T リンパ球が本系の抗核抗体産生の原因ではないこと、抗核抗体産生機序と腸炎発症機序が

異なること、TLR9には抗核抗体産生促進作用があることが示された。

4. 本系においてオリゴヌクレオチドで TLR9 の阻害をすると GC の形成が抑制されること、抗体投与により pDC を除去すると GC の形成と Tfh の誘導がともに抑制されること、Tc とともに制御性 T 細胞(Treg)を移入すると GC の形成と Tfh の誘導がともに抑制されることが flow cytometry と免疫蛍光染色により確認された。以上より、GC 形成や Tfh 分化に pDC が大きく関与し、Treg がこの過程を抑制していることが示された。

以上、本論文は従来のマウスモデルと異なる抗核抗体産生モデルを新たに確立し、同マウスモデルが homeostatic proliferation の結果として Tfh の誘導と germinal center の形成をきたし、それとともに抗核抗体を産生すること、さらにその過程が TLR シグナルの阻害や pDC の除去、Treg の存在により抑制されることを明らかにした。本研究は特殊な遺伝的背景を必要としない生理的反応のみに基づいた抗核抗体の産生機序を明らかにしており、また今回確立された動物モデルが今後の抗核抗体産生機序研究に有用な系となり得ることから、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。