

## 論文の要旨

申請者 松 原 秀 史

### 研究論文題目

MRL/lpr マウスの腎臓におけるリンパ球浸潤に着目した治療標的の探索

#### 1 目 的

ループス腎炎における浸潤リンパ球のポピュレーションや役割は不明な点が多い。ループス腎炎において Th1、Th2、Th17、Treg の不均衡が病態に関与しており、腎局所においてどのような細胞群が優勢なのかを知ることは治療標的を考える上で重要である。lupus prone mouse である MRL/lpr マウスを用いて腎臓に浸潤するリンパ球のポピュレーションを検討し、リンパ球浸潤を抑制することを主眼とした新規治療ターゲットを探索することを目的とした。

#### 2 対象並びに方法

MRL/lpr マウスから腎単核球を抽出して flow cytometry analysis (FCA) を行い、浸潤リンパ球のポピュレーションを検討した。次に SLE の病態に関与している可能性が示唆されているヒストンのアセチル化異常と sphingosine 1 phosphate (S1P) の 2 点に着目して T リンパ球浸潤の抑制効果を検討した。

#### 3 成 績

腎臓における浸潤リンパ球における FCA により、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>の double negative T (DNT) 細胞は Th2 系細胞に次ぐ大きな細胞集団であることがわかった。

腎皮質及び浸潤リンパ球でのヒストン脱アセチル化酵素活性は MRL/+ マウスに比し有意に高値であり、選択的ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるバルプロ酸投与群で vehicle 群に比し有意に低くなった。免疫組織学的検討でも浸潤リンパ球は抑制され腎保護効果が確認された。

内因性に S1P を増加させると報告された peptide inhibitor of trans-endothelial migration (PEPITEM) を投与することでリンパ球浸潤は抑制され、DNT 細胞においては存在比率も減少することが確認された。

ポドサイト傷害に関わる c-maf inducing protein (c-mip) は MRL/lpr マウスにおいても発現が確認され、バルプロ酸及び PEPITEM 投与群で発現が低

下していることが示された。

#### 4 考 察

本研究において MRL/lpr マウスの腎臓に浸潤している細胞における FCA で DNT 細胞が大きな細胞群を形成していることが明らかとなった。IL-17 を DNT 細胞が産生しているとする報告もあり腎局所における病態への関与が示唆された。

SLE におけるヒストンのアセチル化異常については報告が少なく病態への関与は明らかになっていない。選択的ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるバルプロ酸投与によりヒストン脱アセチル化酵素活性は有意に低値になり、免疫組織学的にもヒストン脱アセチル化の程度は軽快した。アルブミン尿も減少したことからヒストンのアセチル化異常は MRL/lpr マウスにおける病態に深く関与しているものと考えられた。

次いでリンパ球の遊走に関わる S1P を治療標的としてリンパ球浸潤制御の方法を検討した。PEPITEM は、炎症病態下でのみ血管内皮細胞に発現する cadherin (CDH)15 を受容体として、S1P 合成を促進するとされる。PEPITEM を投与することでリンパ球浸潤は抑制され、また CDH15 は皮膚や腹膜の血管内皮細胞にも発現しており、SLE の全身性病変に治療効果が期待できるものと考えられた。

Wilms' tumor 1(WT1)によって発現調整される c-mip は疾患の進行に伴いポドサイトに認められ、アルブミン尿・蛋白尿出現の一因と考えられた。そしてバルプロ酸、PEPITEM 投与によりその発現が低下していることから、浸潤リンパ球の制御はポドサイト保護(WT1 発現維持)を介して副次的に c-mip 発現を抑制、ひいてはアルブミン尿・蛋白尿を抑えていると考えられた。

#### 5 結 論

本研究は MRL/lpr マウスを用いて腎臓における T リンパ球浸潤の特徴を明らかにし、それを制御するための新たな治療薬の探索を目的とした。その結果ヒストンアセチル化酵素活性の異常の是正及び PEPITEM/CDH15axis を介した S1P 上昇が、それぞれリンパ球浸潤を抑制し腎症改善につながることを見出した。また MRL/lpr マウスにおいて c-mip がポドサイトに発現していることを明らかにし、バルプロ酸及び PEPITEM によってもたらされた蛋白尿抑制効果に c-mip が関与していることを見出した。