

学位論文の要旨

保健学専攻	医療生命科学	分野	氏名	滝沢 章
	医療生命科学	領域		
題目				
Role of the Programmed Death-1 (PD-1) pathway in regulation of Theiler' s murine encephalomyelitis virus-induced demyelinating disease (タイラーマウス脳脊髄炎ウイルス誘導による免疫性脱髄疾患における PD-1 pathway を介した炎症制御機構)				
要旨				
背景および目的				
<p>多発性硬化症 (Multiple Sclerosis : MS) は中枢神経系の脱髄疾患である。MS は自己免疫疾患の一つであることが明らかとなっているが、自己免疫反応が生じる原因は未だ不明であり、根治療法も確立されていない。MS の患者は欧米に多く、欧米における有病率は人口10万人当たり約50人である。欧米では一般的によく知られた疾患であり、社会的な関心も非常に高い。一方、日本における有病率は人口10万人あたり8-9人と欧米に比べ少ないが、患者数は近年増加傾向にあり、今後さらに増加すると考えられているため、治療法の研究、開発は急務である。</p> <p>本研究は、MS のウイルス誘導性動物実験モデルである「タイラー脳脊髄炎ウイルス(Theiler' s murine encephalomyelitis virus : TMEV) により誘導される脱髄疾患 (TMEV-induced demyelinating disease : TMEV-IDD)」を用い、MS の発症機序の解明及び、治療法確立のための解析を行った。TMEV-IDD は、中枢神経系に慢性感染した TMEV に対する免疫反応を起因とし、中枢神経系の脱髄が生じる。さらに、中枢神経系の髄鞘抗原に対する自己免疫反応による障害が生じていることも報告されている。このように、TMEV-IDD の脱髄は、ウイルス感染に対する免疫反応と、自己組織に対する免疫反応の2つの背景を有しており、脱髄の結果、下肢の麻痺症状が発現する。従って、TMEV-IDD は中枢神経系に炎症性の脱髄が生じる機序を理解する上で非常に重要な動物実験モデルである。</p> <p>本研究では、TMEV-IDD における炎症反応を詳細に解析する上で、T 細胞上に発現する抑制性の共刺激受容体として近年注目されている Programmed Death 1 (PD-1) に着目した。PD-1 は活性化した T 細胞、B 細胞、抗原提示細胞上に発現し、中でも T 細胞上に発現する PD-1 は、T 細胞の活性化を抑制する役割を持つ。この PD-1 のリガンドとして、PD-L1 および PD-L2 の2種類が同定されている。これらのリガンドは共に炎症時や感染時に発現が増加することが知られている。PD-1 pathway の主な機能として、</p> <p>①抑制性共刺激によって、T 細胞の反応を抑制し、末梢性寛容において重要な役割を果たす、 ②2次リンパ組織においてだけでなく、末梢臓器における自己免疫寛容の維持にも深く関わっている、 ③慢性ウイルス感染時における免疫系の疲弊状態にも関与している、といった点が報告されている。</p> <p>以上の背景から、本研究は TMEV-IDD における PD-1 pathway の役割を解析することにより、PD-1 pathway の治療応用への可能性を検討した。</p>				

方法および結果

初めに TMEV 感染による PD-1、PD-L1 の発現量の変化を *in vitro* レベルにて検討するため、ナイーブマウスの大腿骨から骨髄細胞を採取し、GM-CSF によって樹状細胞を誘導した。この樹状細胞に TMEV を感染させ、PD-1、PD-L1 の mRNA 発現量をリアルタイム RT-PCR 法にて測定した。その結果、TMEV を感染させた樹状細胞において PD-1 発現量が約 3 倍、PD-L1 発現量が約 12 倍増加した。次に、TMEV 感染による PD-1、PD-L1 の発現量変化を *in vivo* においても追跡するため、TMEV-IDD マウスを作製し、TMEV-IDD の進行に伴う PD-1、PD-L1 の発現量をリアルタイム RT-PCR 法にて検討した。その結果、脊髄中の PD-1、PD-L1 の発現量は、麻痺症状の進行に伴い、約 15 倍まで増加した。

さらに、TMEV-IDD における PD-1 pathway の役割を詳細に解析するため、TMEV-IDD マウスに抗 PD-1 抗体を投与することにより、PD-1 pathway を阻害し、免疫反応及び麻痺症状発現への影響を検討した。抗 PD-1 抗体の投与期間は、TMEV-IDD の麻痺症状が発症し始める、TMEV 接種後 20 日目で区切り、麻痺症状発症前の期間 (Induction phase) と発症後の期間 (Effector phase) に分けて行った。その結果、Induction phase に抗 PD-1 抗体を投与した群では、麻痺症状の発症が有意に遅延した。一方、抗 PD-1 抗体を Effector phase に投与した群では、麻痺症状が有意に増悪した。さらに、対照群及び抗 PD-1 抗体投与群を TMEV 接種から 34 日後に屠殺し、病理組織学的な解析を行うと共に、脾細胞、脊髄浸潤細胞における細胞内炎症性サイトカインをフローサイトメトリーにて解析した。その結果、Effector phase に抗 PD-1 抗体を投与した群は、脊髄における炎症及び脱髄がより高度に進行していた。加えて、脾細胞、脊髄浸潤細胞における IFN- γ 、TNF- α の産生が亢進していることが明らかとなった。

結論

以上の結果から、TMEV-IDD において PD-1 pathway が中枢神経系の炎症反応に対して抑制的に働くことが明らかとなった。MS 治療法の確立に向け、PD-1 pathway を制御することが重要であることが示唆された。