

氏名	渡邊 総一郎
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1283号
学位授与の日付	2021年9月30日
学位論文題名	Neutrophil extracellular traps are induced in a psoriasis model of interleukin - 36 receptor antagonist - deficient mice 「好中球細胞外トラップは、インターロイキン36受容体アンタゴニストの欠落したマウスの乾癬様皮疹では、産生が亢進している。」 Scientific Reports. 2020;10:20149
指導教授	杉浦 一 充
論文審査委員	主査 教授 安岡 秀 剛 副査 教授 吉川 哲 史 教授 坪井 直 毅

論文内容の要旨

【緒言】

*IL36RN*遺伝子の機能喪失型変異は、インターロイキン(IL)-36 α 、 β 、 γ サイトカインに拮抗的に作用するIL-36受容体アンタゴニスト(IL-36Ra)の欠損を招く。このような病態をDITRA (Deficiency of interleukin- thirty six antagonist)と呼ぶ。DITRAではIL-36Raの欠損によりIL-36サイトカインによる炎症反応が持続し、膿疱性乾癬や尋常性乾癬などの自己炎症性角化症を引き起こす (Sugiura K. et al. J. Invest. Dermatol. 2013)。当教室では、*Il36rn*^{-/-}マウスを用いて、DITRAの研究を行ってきた。

【目的】

尋常性乾癬では、リンパ球、樹状細胞、マクロファージの働きが明確になってきた。しかし、好中球や好中球細胞外トラップ(NETs: Neutrophil extracellular traps)の役割は徐々に解明されてきたものの十分ではない。*Il36rn*^{-/-}マウスに対しイミキモド(IMQ)を3日間外用することで乾癬様皮疹を誘発することが可能である。この乾癬モデルマウスを用いて尋常性乾癬における好中球やNETsの役割を解明することで、新規治療薬の開発を目指すことが本研究の目的である。

【方法】

1) *Il36rn*^{-/-}マウスと野生型マウスの背面に、3日間IMQを塗布し、PASI (psoriasis and area severity index) スコア、病理学的検討や免疫組織学的手法を用いて乾癬様皮疹を評価した。2) リアルタイムRT-PCRを用いて、*Il36rn*^{-/-}マウスと野生型マウスの組織中のサイトカイン、ケモカインを比較検討した。3) NETs形成に必要な酵素であるPAD4を阻害

する効果を持つ、Cl-amidineを*Il36rn*^{-/-}マウスに投与し、乾癬様皮疹に与える影響について検討した。

【結果】

1) *Il36rn*^{-/-}マウスでは、野生型マウスと比較して、乾癬様皮疹の増悪を認めた。また、病理学的に、*Il36rn*^{-/-}マウスでは、野生型マウスと比較し、表皮肥厚、浸潤する好中球数、NETs形成の有意な増加を認めた。2) 組織中のサイトカイン、ケモカインを評価したところ、*Il36rn*^{-/-}マウスでは、野生型マウスと比較して、様々なサイトカインやケモカインの有意な増加を認めた。3) Cl-amidineの投与により、*Il36rn*^{-/-}マウスにおける乾癬様皮疹および表皮肥厚、浸潤する好中球数、NETs形成は抑制された。

【考察】

IMQによるToll様受容体7の刺激により、樹状細胞からのIL-36の産生は亢進する。その結果、表皮は肥厚し、ケモカインが産生される(Tortola L, et al. J. Clin. Invest. 2012)。その一方で、Cl-amidineはNETsを崩壊させるDNase Iと同等に乾癬様皮疹を抑制する(Shao S, et al. Front Immunol. 2019)。本研究の結果からは、*Il36rn*^{-/-}マウスでは、持続的なIL-36の刺激により表皮肥厚や炎症細胞浸潤が起き、その結果、NETs形成が亢進していると考えられた。また、Cl-amidineが*Il36rn*^{-/-}マウスの乾癬様皮疹を抑制したことから、DITRAでは、NETs 形成が亢進しており、病態に深く関わっていることが示唆された。

【結語】

NETsはDITRAにおいて新たな治療標的となる可能性がある。

論文審査結果の要旨

申請者は、IL-36受容体拮抗因子 (IL-36Ra) の欠損症では、重度のイミキモド誘発性の乾癬様皮疹を引き起こし、病理学的に好中球を多数認めたことから、病態に好中球細胞外トラップ (NETs) が関わっているとの仮説を立てた。マウス背部にイミキモドを3日間塗布したところ、Psoriasis area and severity index score、表皮肥厚、浸潤する炎症細胞数において、*Il36rn*^{-/-}マウスでは野生型に対して有意に増悪した。蛍光免疫染色を用いて、NETs を同定したところ、*Il36rn*^{-/-}マウスでは野生型に対して有意にNETs 形成が増加した。*Il36rn*^{-/-}マウスの組織では、IL-36 γ など様々なサイトカイン・ケモカインの発現が有意に増加した。これらの所見は、NETs 形成に必要な不可欠なPAD4という酵素を阻害する、Cl-amidine の投与により抑制された。マウス腹腔内マクロファージを、NETs と共培養したところ、マクロファージ単独群に比べIL-36 γ の発現が有意に増加した。本研究により、IL-36Ra欠損症におけるNETs の関わりが明確となり、NETs が新たな治療ターゲットとなりうることを提示した。質疑応答では、本研究における仮説、実験条件、IL-36受容体拮抗因子リコンビナントによる治療実験の提案、自己抗体の定量の提案、IL-36受容体拮抗因子の誘導に関わる因子、IL-36を分泌する細胞、人への応用の可能性等、幅広い本質的な質問と提案がなされ、申請者からはそれぞれについて適切な回答がなされた。本研究は学位取得にふさわしい内容であることが確認された。