

Title	Reduction of Cell Surface T-Cell Receptor by Non-Mitogenic CD3 Antibody to Mitigate Murine Lupus
Author(s)	Morita, Masashi
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/89481
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	森田 将史
論文題名 Title	Reduction of Cell Surface T-cell Receptor by Non-Mitogenic CD3 Antibody to Mitigate Murine Lupus (Non-Mitogenic CD3抗体によるT細胞受容体発現量減少を介したマウスループス軽減効果の検討)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>全身性エリテマトーデス (SLE) は、抗核抗体をはじめとする自己抗体が病態形成に関与すると考えられている自己免疫疾患であり、抗体産生B細胞を標的とした分子標的薬を中心に治療法開発が進んでいる。一方でBリンパ球成熟、サイトカインを介した炎症反応増幅など、Tリンパ球の病態への寄与も重要であることが報告されている。SLE患者のT細胞ではT細胞受容体 (TCR) の重要なコンポーネントであるCD3ζの発現が低下しており、CD3ζ発現低下がSLE病態にもたらす影響を検討するため、C57BL/6J (B6)マウスに変異型Fasを発現させたB6lprループスモデルに、CD3ζ遺伝子をヘテロで欠損させたB6lpr-<i>Cd3ζ^{+/+}</i>マウスを作成し、その表現型を検討した。その結果B6lpr-<i>Cd3ζ^{+/+}</i>マウスの自己抗体価、糸球体腎炎傷害スコアがいずれもB6lpr-wild typeと比較して軽減されていることを見出した。そこでB6-<i>Cd3ζ^{+/+}</i>マウスのT細胞の表現型を検討するとTCR発現量が約40%低下しており、T細胞依存性抗原(NPCGG)免疫後の濾胞性T細胞 (Tfh)分化は保たれ、胚中心B細胞(GCB)分化は抑制されることがわかった。この結果よりTCR発現量を減少させる治療はループスに有効ではないかと考え、TCR発現を減少させる手段としてCD3ϵ抗体に着目した。CD3ϵ抗体はループスを含む様々な自己免疫疾患モデルで有効性が示唆されているが、生体内での抗体活性が多面的であり詳細な免疫抑制機構が不明瞭である。本研究ではマウスCD3ϵ抗体(conventional 145-2C11、2C11C)およびFc領域をsilent化したNon-mitogenic CD3ϵ抗体(silent 145-2C11、2C11S)をループスモデルに用いて、その有効性とメカニズムを検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>B6マウスに各抗体を単回投与した解析では2C11Sの方が2C11CよりもTCR発現量を長期間減少させた。また2C11Sは2C11Cでみられたサイトカインリリース、およびT細胞増殖を誘導しなかった。これらの結果から2C11SはNon-mitogenicであり、TCR発現量減少を有意に誘導しうる抗体であることがわかった。次に2C11S、2C11Cはともに末梢血T細胞を一時的に消失させたが、更なる検証により2C11Sは接着分子を介したTrappingによる見かけ上のT細胞数減少を引き起こすと考えられ、一方2C11Cはマクロファージ/単球によるT細胞貪食を誘導すると考えられた。各抗体を投与したB6マウスにNPCGGを用いて免疫し、CD3抗体が抗体産生反応にどう影響するかを調べると、2C11S、2C11CいずれもTfh分化抑制はみられず、2C11SのみGCB分化抑制を認め、いずれの群でも抗体産生抑制を認めた。これより各CD3抗体はT細胞依存性抗体産生に異なる効果を与えると考えられた。またCD3抗体は既報で示唆されているアナジーやアポトーシスを誘導せず、2C11Sの免疫抑制作用はTCR発現量減少が主な機序であることが示唆された。</p> <p>そこで、2C11SによるTCR発現量減少がループス様病態に対して有効であるかを検討した。NZB/W F1マウスに10週齢(早期)もしくは20週齢(後期)から週1回1か月間、各抗体を腹腔内投与したところ、早期治療では2C11S群でGCB分化抑制および抗体価低下を認め、後期治療では2C11S群でGCB分化抑制がみられたものの、抗体価の有意な低下は認めなかった。また腎炎が形成される後期での治療において、2C11S群のみ有意な腎炎改善を認めた。脾臓の制御性T細胞(Treg)および各エフェクターT細胞の比率を解析すると、CD3抗体は有意なTreg分化亢進を誘導せず、また2C11SはIFNγ/IL-17産生CD4⁺T細胞分化を有意に抑制しなかった。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>Non-mitogenic Fc silent CD3抗体は長期間TCR発現量を減少させることによりループスの表現型を改善しうる。Lupusの自己抗体を介さない腎炎進展に対してもnon-mitogenic CD3抗体の抑制効果が期待され、今後SLEを含めたT細胞関連自己免疫疾患に対して更なる適用が期待される。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 森田将史	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 猪俣 善隆
	副 査 大阪大学教授 竹田 潔
副 査 大阪大学教授 熊 御 淳	

論文審査の結果の要旨

全身性エリテマトーデス (SLE) は、抗核抗体をはじめとする自己抗体が病態形成に関与すると考えられている自己免疫疾患であり、抗体産生B細胞を標的とした分子標的薬を中心に治療法開発が進んでいる。一方でT細胞の病態への寄与も重要であり、B細胞成熟やサイトカインを介した炎症反応増幅など様々な報告がなされている。SLE患者のT細胞ではT細胞受容体 (TCR) の重要なコンポーネントであるCD3 ζ の発現が低下しており、我々はCD3 ζ 発現低下そのものがSLE病態に与える影響を検討するため、C57BL6/J (B6)マウスに変異型Fasを発現させたB6lprループスモデルに、CD3 ζ 遺伝子をヘテロで欠損させたB6lpr-*Cd3 ζ ^{+/+}*マウスを作成し、その表現型を調べた。その結果B6lpr-*Cd3 ζ ^{+/+}*マウスの自己抗体価、糸球体腎炎傷害スコアがいずれもB6lpr-wild typeと比較して軽減され、T細胞の表現型解析ではTCR発現量が約40%低下していた。またT細胞依存性抗原(NPCGG)免疫後の濾胞性T細胞(T_{fh})分化は保たれ、胚中心B細胞(GCB)分化は抑制された。この結果よりTCR発現量を減少させることがループスに有効ではないかと我々は考え、TCR発現を減少させる手段としてCD3 ϵ 抗体に着目した。CD3 ϵ 抗体はループスを含む様々な自己免疫疾患モデルで有効性が示唆されているが、生体内での抗体活性が多面的であり詳細な免疫抑制機構が不明瞭である。本研究ではマウスCD3 ϵ 抗体(conventional 145-2C11, 2C11C)およびFc領域をsilent化したNon-mitogenic CD3 ϵ 抗体(silent 145-2C11, 2C11S)をループスモデルに用いて、その有効性とメカニズムを検討した。

B6マウスに各抗体を単回投与した解析では2C11Sの方が2C11CよりもTCR発現量を長期間減少させた。また2C11Sは2C11Cでみられたサイトカインリリース、およびT細胞増殖を誘導しなかった。これらの結果から2C11SはNon-mitogenicであり、TCR発現量減少を有意に誘導しうる抗体であることがわかった。抗体投与後の末梢血T細胞数を調べると2C11S、2C11Cともに末梢血T細胞を一時的に消失させたが、2C11Sは接着分子を介したTrappingによる見かけ上のT細胞数減少を引き起こし、また2C11Cはマクロファージ/単球によるT細胞貪食を誘導することが示唆された。各抗体を投与したB6マウスにNPCGG免疫し、CD3抗体が抗体産生反応にどう影響するかを調べると、2C11S、2C11CいずれもT_{fh}分化抑制はみられず、2C11SのみGCB分化抑制を認め、いずれの群でも抗体産生抑制を認めた。これより各CD3抗体はT細胞依存性抗体産生に異なる効果を与えられたと考えられた。またCD3抗体は既報で示唆されているアナジーやアポトーシスを誘導せず、2C11Sの免疫抑制作用はTCR発現量減少が主な機序であることが示唆された。

この結果をもとに2C11SによるTCR発現量減少がループスにおける自己抗体産生に有効であると予想し、NZB/W F1マウスに10週齢(早期)もしくは20週齢(後期)から週1回1か月間、各抗体を腹腔内投与したところ、早期治療では2C11S群でGCB分化抑制および抗体価低下を認め、後期治療では2C11S群でGCB分化抑制を認めたものの、抗体価の有意な低下はみられなかった。またループス腎炎が形成される後期での治療において、2C11S群のみ有意な腎炎改善を認めた。脾臓の制御性T細胞(Treg)および各エフェクターT細胞の比率を解析すると、CD3抗体は有意なTreg分化亢進を誘導せず、また2C11SはIFN γ /IL-17産生CD4⁺T細胞分化を有意に抑制しなかった。

以上よりNon-mitogenic Fc silent CD3抗体によるTCR発現量減少はループスを軽減しうると考えられた。上記内容は学位授与に値すると考える。