



Title	Anti-lactoferrin antibodies contribute to enhancement of neutrophil extracellular trap formation and are associated with disease activity of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	志田, 玄貴
Description	配架番号 : 2211
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12107号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61799
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Haruki_Shida_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 志田 玄貴

	主査	教授	水上	尚典
審査担当者	副査	准教授	北村	秀光
	副査	教授	清野	研一郎
	副査	教授	渥美	達也

学 位 論 文 題 名

Anti-lactoferrin antibodies contribute to enhancement of neutrophil extracellular trap formation and are associated with disease activity of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis

(抗ラクトフェリン抗体は好中球細胞外トラップの形成促進に寄与し、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症の疾患活動性に関与する)

抗好中球細胞質抗体（ANCA）関連血管炎（AAV）は、pauci-immune 型の壊死性血管炎と、血清中に ANCA の出現を特徴とする疾患である。本論文は AAV の病態形成に関連するとされる好中球細胞外トラップ（NET）に着目し、ANCA の一つである抗ラクトフェリン抗体（aLf）の AAV における陽性率や病原性について検討した研究である。

第一部では、AAV 患者における、aLf の陽性率と疾患活動性との関連を明らかにすることを目的として、65 例の AAV 患者の血清を使用し、aLf を測定した。aLf 陽性は 4 例で、全例が好酸球性多発血管炎性肉芽腫症（EGPA）患者の血清であった。EGPA 患者では aLf 陽性例は陰性例に比べて C reactive protein（CRP）、Birmingham Vasculitis Activity Score（BVAS）、腎病変の有病率が、有意に高く、aLf の力価と、CRP および BVAS の値に正の相関を認めた。第二部では、NET に対する aLf の作用を *in vitro* で検討した。aLf 単独では NET 形成の亢進作用を有しないが、suboptimal な量の PMA 刺激のもとでは NET の形成を有意に亢進させた。以上より、aLf は、ある種の刺激のもとで NETs 形成を亢進させ、EGPA の疾患活動性に関与していることが示唆された。

審査にあたり、副査の清野教授より、①Lf の NET に対する作用機序、②Lf のレセプターについて、③Lf が血清中で測定可能か、投与により値が変化するか、④Lf の抗炎症、抗菌作用の作用機序、⑤aLf の産生機序について質問があった。申請者は①NET が形成される過程で、細胞外からクロマチンファイバーの陰性荷電との相互作用により細胞膜が破れる過程を抑えると報告されている、②この過程では、レセプターの関与や、細胞内機構の関与は明らかになっていない、③血液中で Lf は測定可能であるが、半減期が数分と短く、経静脈投与では、一時的な上昇は得られるものの、経口投与では、成人では胃内でほとんどが分解されてしまうため、血中濃度を得るためには、工夫が必要という報告がある、④Lf は遊離鉄を強力にキレートする作用を介し抗炎症作用と、抗菌作用を持つとされている、

⑤MPA では、全例陰性であったことから、炎症と NET の産生だけでは、不十分であることが推察される。また、気管支喘息患者で aLf は陰性と報告されており、Lf の暴露のみでも不十分と考えられ、免疫異常と EGPA に特異的な上気道での暴露が産生に関与している可能性がある」と回答した。副査の北村准教授からは、①Lf も含めた動物実験での知見、②プロピオチオウラシルを使用した MPO-AAV のラットモデルでも認められるか、③実用化の見込み、④今後の研究について質問があった。申請者は①血管炎発症モデルマウスにおいて、Lf の投与により、生存期間が延長したという報告はあるが、aLf については、移入実験も含め血管炎関連の報告はない、②プロピオチオウラシルを用いた MPO-AAV モデルでは測定は行っていない、③難治性の喘息で血管炎への移行を予測するマーカーや、EGPA で、重症化を予測するマーカーとなる可能性がある、④好中球表面上の Lf の表出や、手元にある他の aLf 陽性血清を使用した検討を計画していると回答した。副査の渥美教授からは①NET が Toll-like receptor 7 と Type I interferon と関わりとされる全身性エリテマトーデス (SLE) と AAV の違い②治療により aLf が低下するかについて質問があった。申請者は①SLE と AAV では、年齢・性別の分布が大きく違うことから、DNA が Toll-like receptor 7 に提示されるとともに過剰な Type I interferon の産生を特徴とした異常な抗体産生異常を引き起こす SLE と、動脈硬化等の加齢変化・DNase や NET の処理の低下を背景として、Tumor necrotic factor α といった炎症性サイトカインの異常を引き起こす AAV といった機序の違いが推察される、②経過を追えた症例は 1 例のみで、低下はしたが考察は難しいと回答した。主査の水上教授より①NETs の必要性、②NETs とそれを抑える Lf の抗炎症・抗菌作用の生理的な機序について質問があった。申請者は①NETs に必須な PAD4 をノックアウトしたマウスでは、真菌に対する抵抗力が弱くなったとされることから、特に真菌の免疫に必要とされている、②Lf は鉄のキレート作用により抗炎症作用を持つとされ、活性化されると速やかに放出され、血液中では速やかに分解される機構があることから、内因的に NET の過剰産生を抑える生理的作用と考えられると回答した。

この論文は、AAV においては、EGPA に aLf 陽性者を認めることと、疾患活動性との関連を示し、その機序について *in vitro* の検討で、ある種の刺激のもとで、NET 形成の亢進作用を介して疾患活動性に影響を与える病原性があることを示し価値が高い。今後は EGPA の疾患活動性や、EGPA への移行を予測するマーカーとして使用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位をうけるのに十分な資格を有するものと判定した。