

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07759

研究課題名(和文) 視神経脊髄炎におけるタイプ1インターフェロンシグネチャーの解明

研究課題名(英文) Investigation of interferon signature in NMOSD

研究代表者

奥野 龍禎 (Tatsusada, Okuno)

大阪大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：00464248

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：視神経脊髄炎(NMOSD)において、1型インターフェロン(IFN-1)シグネチャーの重要性が注目されている。我々は、PBMCを用いてNMOSD由来のcfDNAによるIFN-1誘導を見出した。DNase処理、cGAS阻害剤、Toll19アンタゴニストはIFN-1産生を抑制した。NMOSD患者のcfDNAのDNAメチル化パターンから、cfDNAの主な細胞源は好中球であることが示された。さらに、NMOSD由来の血清でNETosis誘導の増強が観察され、ジピリダモールで阻害された。NMOSDのIFN-1シグネチャーは好中球から主に放出されるcfDNAにより誘導されることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NMOSDはアクアポリン4抗体が引き起こす疾患であり、近年多数の生物製剤が使用可能になっているが、どのようにして本来出現しないアクアポリン4抗体が出現に至るのかは不明である。本研究によりNMOSDにおける自然免疫系の関与を明らかにできた。NMOSDの根本的な原因解明につながる成果である。

研究成果の概要(英文)：Recently accumulating evidence suggests the pivotal role of type 1 interferon (IFN-1) signature in the pathogenesis of neuromyelitis optica spectrum disorder (NMOSD). We found that enhanced IFN-1 induction by cfDNA derived from NMOSD was observed in PBMCs with cofactor of LL37 antimicrobial peptide. DNase treatment, cGAS inhibitor, and Toll-like receptor 9 antagonist efficiently inhibited IFN-1 production. DNA methylation pattern of cfDNA in patients with NMOSD demonstrated that the predominant cellular source of cfDNA was neutrophils. Whole blood transcriptome analysis also revealed neutrophil activation in NMOSD. In addition, enhanced NETosis induction was observed with NMOSD-derived sera, and efficient pharmacologic inhibition of NETosis with dipyrindamole was observed.

Our study highlights the previously unrevealed role of cfDNA predominantly released by neutrophil in the induction of IFN-1 signature in NMOSD and further indicate a novel pharmacologic target in NMOSD.

研究分野：神経免疫学

キーワード：NMOSD IFN シグネチャー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

視神経脊髄炎スペクトラム障害 (NMOSD) は、CNS の自己免疫炎症性疾患である。NMOSD におけるアクアポリン 4 (AQP4)-Abs の病原性については確立されたが、NMOSD において自己寛容が破綻する正確なメカニズムはまだ解明されていない。多発性硬化症 (MS) の治療法であるインターフェロン (IFN)- $\beta$  は、NMOSD の疾患経過を悪化させることが報告されており、いくつかの研究では 1 型 IFN (IFN- $\beta$ ) の増加との相関もしめされている。全身性エリテマトーデス (SLE) やシェーグレン症候群などの典型的な IFN 関連自己免疫疾患の特徴である、抗核抗体を始めとする自己抗体が NMOSD 患者ではしばしばみられる。これらは、NMOSD の発症に IFN-1 シグネチャーが極めて重要な役割を果たしているということを示唆していると考えられてきた。

IFN- $\beta$  は、B 細胞活性化因子(BAFF)などの B 細胞活性化に関与する遺伝子の発現を増加させる。これは、IFN- $\beta$  が B 細胞の増殖、分化、免疫グロブリンのクラススイッチに関与していることを示している。さらに、IFN- $\alpha$  はインターロイキン (IL) -6 と協同してナイーブ B 細胞の形質芽細胞への分化を促進し、その結果 SLE における病原性自己抗体の産生を引き起こすと報告されている。しかしながら NMOSD 患者に IFN シグネチャーが出現する正確なメカニズムは解明されていなかった。

### 2. 研究の目的

NMOSD 患者における IFN シグネチャーの活性化につながる最初のトリガーを明らかにし、その過程に関与する免疫細胞の正確なメカニズムと種類をさらに解明する。

### 3. 研究の方法

アクアポリン 4 抗体陽性 NMOSD 患者 32 名と健常者 23 名から臨床サンプルを入手した。血清由来の無細胞 DNA (cfDNA) による末梢血単核細胞 (PBMC) の IFN-1 誘導を、in vitro での DNA センサーの遮断と組み合わせて評価した。cfDNA 画分は、バイサルファイトシークエンスにより DNA メチル化プロファイルを解析し、cfDNA の由来を明らかにした。さらに、好中球細胞外トラップ関連細胞死 (NETosis) の誘導を NMOSD 群とコントロール群で解析し、NETosis に対する薬物介入の有効性を評価した。

### 4. 研究成果

LL37 抗菌ペプチドを補酵素とする PBMC において、NMOSD 由来の cfDNA による IFN-1 誘導の亢進が観察された。DNase 処理、cGAS 阻害剤、Toll 受容体 9 アンタゴニストは IFN-1 産生を有意に抑制した。NMOSD 患者の cfDNA の DNA メチル化パターンから、cfDNA の主な細胞源は好中球であることが示された。全血トランスクリプトーム解析により、NMOSD における好中球の活性化も明らかになった。さらに、NMOSD 由来の血清で NETosis 誘導の亢進が観察され、ジピリダモールが NETosis を有意に阻害した。本研究により NMOSD における IFN シグネチャーの誘導において、好中球から主に放出される cfDNA の役割が明らかになった。またジピリダモールが NMOSD の増悪を抑制する治療となりうることを示した。本研究で NMOSD でアクアポリン 4 に対する自己免疫寛容が破綻する過程に好中球の活性化が関与しているこ

とが示されたが、今後は好中球活性化のメカニズムに着目して研究を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Murata H, Kinoshita M, Yasumizu Y, Motooka, D, Shiraishi N, Sugiyama S, Kihara K, Tada S, Koda T, Konaka H, Takamatsu H, Kumanogoh A, Okuno T, Mochizuki H	4. 巻 9
2. 論文標題 Cell-free DNA Derived from Neutrophils Triggers Type1 Interferon Signature in NMOSD.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 N2	6. 最初と最後の頁 e1149.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1212/NXI.0000000000001149.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------