

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Disulfiram treatment suppresses antibody-producing reactions by inhibiting macrophage activation and B cell pyrimidine metabolism

マクロファージ活性化と B 細胞におけるピリミジン代謝の  
制御を介したジスルフィラムによる抗体産生反応の阻害

日本医科大学大学院医学研究科 解析人体病理学分野  
大学院生 陳 維力

Communications Biology. 2024 Apr 22;7(1):488. 掲載

DOI: 10.1038/s42003-024-06183-9

臓器移植における抗体関連型拒絶反応 (antibody-mediated rejection: AMR)の原因となる抗体は、抗原提示細胞、CD4 陽性 T 細胞やマクロファージなどが関わる一連の免疫応答により、B 細胞から分化した形質細胞により産生される。マクロファージの浸潤能の獲得に必要なケモカイン受容体(CCR2 および CCR5)の細胞内シグナル伝達を担う蛋白「FROUNT」を、ジスルフィラム(Disulfiram: DSF)は阻害し、マクロファージの病変局所への浸潤や活性化を抑制する。本論文において申請者は、臓器移植で認める AMR に対する DSF の効果を検証し、移植臓器内へのマクロファージの浸潤の程度や、形質細胞に分化する B 細胞に対する DSF の直接作用の検討を行った。

5-6 週令 BALB/c マウスの心臓を 7-8 週令 C57BL/6 マウスの頸部に移植する同種マウス組織適合抗原完全不一致・異所性心臓移植を用い、AMR への DSF の効果を検討するために、あらかじめ抗 CD8 抗体を投与し、細胞性拒絶反応の関与を除外している。DSF 投与は、移植心臓の生存期間を有意に延長させ、組織学的には、移植心臓における浸潤マクロファージの減少、Foxp3+制御性 T 細胞の増加、IgG や IgM、C4d 沈着の有意な減少、血清中の抗ドナー特異的 IgG や IgM の減少を認め、AMR が著明に抑制された。

B 細胞活性化および形質細胞分化への影響を評価した *in vitro* 試験では、DSF 添加により IL-4+抗 CD40 抗体、またはリポポリサッカライド (LPS)による刺激で誘導されるクラスター形成が著明に抑制され、さらに B 細胞の細胞増殖および形質細胞の細胞数は DSF 濃度依存性に減少した。既存のケモカイン阻害薬や B 細胞活性化抑制薬との比較検討も行い、DSF が最も強力に B 細胞の活性化に伴う増殖および形質細胞数の増加を抑制した。

この抑制効果の作用機序を検討するために次世代シーケンス RNA-seq で遺伝子発現の解析を行ったところ、ピリミジン代謝経路が B 細胞の活性化に関与しており、この経路を DSF が抑制していることが示された。これらの所見は、DSF が既報のマクロファージの活性化の抑制に加え、B 細胞および形質細胞の活性化を直接的に抑制することを示している。そして、B 細胞から形質細胞に分化し抗体を産生する過程にはピリミジン代謝経路が関与しており、DSF はこの経路を抑制することが可能で、新たな治療法になることも示された。

第二次審査では、評価に用いた DSF 関連化合物について、B 細胞の増殖応答の機能的評価と RNA-seq 解析による遺伝子発現解析における評価時間の違い、*in vitro* と *in vivo* 実験における DSF の作用強度が異なる理由、生体内における B 細胞、マクロファージ、制御性 T 細胞の相互作用、制御性 T 細胞増加の分子機序、DSF の AMR 以外への治療応用の可能性に関して質疑応答が行われ、いずれも的確な回答が得られた。

本研究は、臨床ですでに用いられている DSF が臓器移植における AMR の治療に応用できる可能性を初めて示した。また、本研究で見いだした DSF の B 細胞応答に対する抑制効果は、自己免疫疾患等の B 細胞が関与する他の様々な疾患への治療応用の点からも注目すべき知見であり、学位論文として十分に価値のあるものと認定した。