



Title	Anti-IL- 6 Receptor Monoclonal Antibody Prevents Murine Colitis
Author(s)	山本, 光成
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41810
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	山本光成
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第15276号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学位論文名	Anti-IL-6 Receptor Monoclonal Antibody Prevents Murine Colitis (抗IL-6レセプター抗体によるマウス腸炎の発症抑制)
論文審査委員	(主査) 教授 松澤 佑次
	(副査) 教授 吉崎 和幸 教授 清野 宏

論文内容の要旨

【目的】

クローン病は消化管に非連続性の潰瘍、狭窄、瘻孔を形成し、緩解と増悪を繰り返す疾患である。その原因は未だ不明であるが、Th1優位なTリンパ球の活性化とそれに続くIL-1 β 、IL-6、TNF- α などの炎症性サイトカインの過剰産生が重要な役割を演じている。クローン病に対し様々な治療が行われているが、症状の改善は認めるものの病変自体の改善は認められていない。またアザチオプリンなどの免疫抑制剤はその効果についてはまだ確立されておらず、副作用のため使用も限定されている。最近、抗TNF- α 抗体がステロイド抵抗性のクローン病に対し有効であることが報告されたが、抗体の安全性や長期投与時の効果などはまだ確立されていない。IL-6は炎症の主要な調節因子として知られており、クローン病患者の腸管組織ではIL-6の発現は亢進しクローン病の活動性と関連していることが報告されている。本研究ではクローン病の新たな治療法としてこのIL-6のシグナルを阻害することにより腸炎を抑制できるのかを検討するため、CD4 $^+$ CD45RB high T細胞移入腸炎モデルに対する抗IL-6レセプター抗体の効果を検討した。

【方法】

Balb/cマウスの脾細胞からMACS磁気細胞分離システムを用いてCD4 $^+$ 細胞を分離し、FACS VantageにてCD4 $^+$ CD45RB high 細胞をソーティングした。4x10⁵個のCD4 $^+$ CD45RB high 細胞をC.B-17SCIDマウスの腹腔内に投与することにより腸炎を作製した。このマウスに対し抗IL-6レセプター抗体とラットIgGをT細胞移入時に2mg、その後8週まで毎週1mgを腹腔内投与した。

T細胞移入後8週目に腸管を採取し、HE染色を行った後、腸炎の重症度を0から3までスコア化した。また、抗ICAM-1抗体、抗VCAM-1抗体を用い免疫染色を行った。

腸管組織よりRNAを抽出しcDNAを作製し、このcDNAをテンプレートとしてサイトカイン特異的PCR反応を実施した。

【成績】

CD4 $^+$ CD45RB high T細胞を移入しPBSもしくはラットIgGを投与されたSCIDマウスは4週目頃より下痢を発症し体重減少をきたした。一方、抗IL-6レセプター抗体投与群では下痢を発症しなかった。8週目での平均体重は投与開始時に較べ、正常群110.5%、抗IL-6レセプター抗体群108.9%、ラットIgG群93.3%、PBS群88.7%と抗IL-

6 レセプター抗体群ではラット IgG 投与群に比べ有意に体重の増加を認めた。PBS 群では著明な上皮の過形成と炎症細胞浸潤、ゴブレット細胞の減少を認めた。平均腸炎スコアは PBS 群では 2.3、ラット IgG 群では 1.8 であった。抗 IL-6 レセプター抗体群では 11 匹中 7 匹がスコア 1 の腸炎を認めたのみで平均スコアは 0.6 と有意にスコアは低かった。ICAM-1 は腸炎を発症したラット IgG 群では lamina propria において強く発現していたが、抗 IL-6 レセプター抗体群ではその発現は減弱していた。VCAM-1 の発現も腸炎を発症したラット IgG 群では同部の血管内皮細胞で強く発現していたが、抗 IL-6 レセプター抗体群ではその発現は減弱していた。

SCID マウスの脾臓中の T 細胞数は、PBS 群とラット IgG 群では、 2.05×10^6 個、 2.22×10^6 であった。それに対し、抗 IL-6 レセプター抗体群では 0.83×10^6 と有意に少なかった。

腸炎を発症した PBS 群やラット IgG 群では IFN- γ や TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 の mRNA の発現は亢進していた。抗 IL-6 レセプター抗体群では IFN- γ と IL-1 β の発現は著明に減少し、TNF- α は正常のマウスと同程度の発現であった。

【総括】

抗 IL-6 レセプター抗体がヒトの炎症性腸疾患、特にクローリン病に対し効果があるのかをマウス腸炎モデルを用いて検討した。抗 IL-6 レセプター抗体投与により腸炎の発症は抑制された。また腸管での ICAM-1 や VCAM-1 の発現も抑制されていた。CD4 陽性細胞の増殖も抑制されていた。腸炎を発症したマウスでは IFN- γ や TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 の発現は増強していたが、抗 IL-6 レセプター抗体を投与されたマウスでは IFN- γ や TNF- α 、IL-1 β の発現は減少していた。これらのことより抗 IL-6 レセプター抗体は腸炎抑制効果を有し、ヒトのクローリン病に対し有益な治療法となることが示唆される。

論文審査の結果の要旨

この研究は従来の治療法では満足な治療成績を得られないクローリン病に対して抗サイトカインレセプター抗体を用いた新たな治療法の可能性を検討したものである。すなわちクローリン病で過剰に産生されている IL-6 に着目し、そのシグナルを阻害する抗 IL-6 レセプター抗体の有効性についてマウス実験腸炎モデルを用いて検討した。使用した CD4 陽性 CD45RB^{high}T 細胞移入モデルではクローリン病と同様に腸管では IL-6 や TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ の発現が増強していることを示した。このモデルに抗 IL-6 レセプター抗体を投与することにより、腸炎の発症は抑制されることを証明した。また、腸管での接着分子の発現やサイトカインの発現もともに抑制されていることを示した。これらの結果より、抗 IL-6 レセプター抗体がクローリン病に対する新たな治療法となる可能性が示された。以上のことよりこの研究は学位に値すると考える。