The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Therapeutic Effects of a New Lymphocyte Homing Reagent FTY720 in Interleukin-10 Gene-Deficient Mice with Colitis
Author(s)	水島, 恒和
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45207
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

【32】

氏　　名	水島恒和（みずしまつねかず）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　18268　号
学位授与年月日	平成16年1月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Therapeutic Effects of a New Lymphocyte Homing Reagent FTY720 in Interleukin-10 Gene-Deficient Mice with Colitis （インターロイキン-10遺伝子欠損マウスの腸炎に対する新しいリンパ球ホーミング誘導薬FTY720の治療効果）
論文審査委員	（主査） 教授　松田　暉 （副査） 教授　門田　守人　　教授　宮坂　昌之

論文内容の要旨

〔目的〕

炎症性腸疾患（IBD）においては遺伝的要因を背景とし環境的要因（特に腸内常在細菌叢）を引き金とする消化管粘膜免疫機構の破綻が関与していると考えられているが、その病因・病態については未だ十分に解明されていない。IBD患者においてはCD4陽性Tリンパ球の腸管粘膜固有層（LP）への浸潤およびこれらの細胞によって産生される種々のサイトカインが重要な役割を果たしていることが報告されている。クローン病（CD）は代表的なIBDのひとつであるが、LPでのTh1型サイトカインを産生するCD4陽性Tリンパ球がその病態の中心的な役割を果たしている。従来CDに対しては栄養療法、サリチル酸製剤やステロイドによる非特異的な抗炎症療法、6MPやアザチオプリンといった免疫抑制剤が用いられてきた。最近急性期の緩解導入療法として白血球除去療法や抗TNF-α抗体といった疾患に関連した細胞や分子を標的とした治療法が登場してその有効性が注目されているが、緩解維持療法については治療効果、および副作用の点で満足の行くものではない。

FTY720は*Isaria sinclairii*菌より産生されるmyriocinを元に開発された新しい薬剤であり、ケモカインレセプターを介したリンパ球の二次リンパ組織へのhomingを促進し、更にhomingしたリンパ球の流出を阻害するという、従来の免疫抑制剤とは異なる特異な機序を有している。現在、移植領域を中心にその有用性が報告されている。また、IL-10遺伝子欠損マウス（IL-$10^{-/-}$マウス）は腸内細菌叢の存在下で、LPでのTh1型にシフトしたCD4陽性Tリンパ球によりCD類似の慢性腸炎を自然発症する動物モデルである。

以上の背景のもと、FTY720がCDにおける慢性腸炎で中心的な役割を担うCD4陽性Tリンパ球の炎症部位LPへの浸潤を抑制しCDの病態を改善しうるとの仮説に基づき、CD類似のIL-$10^{-/-}$マウス慢性腸炎モデルを用い、FTY720の治療効果、およびそのメカニズムにつき検討した。

〔方法ならびに成績〕

腸炎をすでに発症したIL-$10^{-/-}$マウス（16～20週齢）に対しFTY720（0.3 mg/kg）経口投与を行い腸炎に対する治療効果、粘膜免疫学的変化およびその機序につき検討した。

1.　FTY720　1回投与12時間後の粘膜免疫学的所見の検討

1) FTY720 投与群は control（蒸留水投与）群に比し末梢血（PB）リンパ球数の有意な減少、腸間膜リンパ節（MLN）、パイエル板（PP）リンパ球数の有意な増加を認めたが、大腸 LP（CLP）リンパ球数には変化を認めなかった。

2) 両群間においてリンパ球分画、サイトカイン産生には差を認めなかった。

2. FTY720　4週間連続投与による慢性腸炎に対する治療効果、組織学的所見（組織学的スコア）、ならびに粘膜免疫学的所見の検討

1) FTY720 投与群では control 群に比し IL-$10^{-/-}$マウスの病態改善（有意な体重増加）が認められた。

2) 組織学的に有意な腸炎の改善が得られた。（組織学的スコア：FTY720；6.6±0.2、control；21.0±5.0）

3) PB リンパ球数は1回投与後と同様に減少していたが、増加していた MLN、PP リンパ球数は control 群と同程度まで減少し、CLP リンパ球数も有意な減少を認めた。

4) PB、CLP におけるリンパ球分画上有意な CD4/CD8 比の低下（CD4 陽性 T リンパ球優位の減少）を認めた。

5) CLP リンパ球における IFN-γ 産生は FTY720 投与群において control 群に比し有意に減少した。

3. FTY720　3日間連続投与による粘膜免疫学的所見の検討

MLN、PP におけるリンパ球 TUNEL 陽性細胞数は IL-$10^{-/-}$マウスにおいて wild type マウスに比し増加していたが、Annexin V 染色による検討では PB、MLN、PP、CLP いずれにおいても FTY720 投与の有無によるリンパ球 apoptosis に差を認めなかった。

〔 総　括 〕

1. CD 類似の IL-$10^{-/-}$マウス慢性腸炎モデルに対する FTY720 の治療効果、およびそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

2. IL-$10^{-/-}$マウスに対する FTY720　1回投与によりリンパ球の MLN、PP への homing が誘導され PB リンパ球数が減少した。

3. FTY720　4週間連続投与後、臨床的ならびに、組織学的に慢性腸炎の改善を認めた。PB リンパ球数は減少したままであり、MLN、PP リンパ球数は control 群と同程度まで減少し、CLP リンパ球数も有意な減少を認めた。また PB、CLP におけるリンパ球分画上有意な CD4/CD8 比の低下（CD4 陽性 T リンパ球優位の減少）、CLP リンパ球における IFN-γ 産生減少を認めた。

4. FTY720　3日連続投与後、FTY720 投与の有無によるリンパ球 apoptosis に差を認めなかった。

以上より IL-$10^{-/-}$マウス慢性腸炎モデルに対する FTY720 投与の結果リンパ球の sequestration、Th1 型リンパ球の CLP への浸潤抑制が誘導され慢性腸炎が改善した。

論文審査の結果の要旨

クローン病（CD）においては消化管における粘膜免疫機構破綻が関与していると考えられているが、その病因・病態については未だ十分に解明されていない。CD に対する急性期の緩解導入療法として種々の治療法が登場しその有効性が注目されているが、緩解維持療法として治療効果、および副作用の点で満足の行く治療法はない。FTY720 は従来の免疫抑制剤とは異なる作用機序を有しており、リンパ球の機能には影響を及ぼさない。CD 類似の慢性腸炎を自然発症する動物モデルである IL-10 遺伝子欠損マウス慢性腸炎モデルに対し FTY720 投与を行い治療効果、およびそのメカニズムにつき検討した。IL-10 遺伝子欠損マウス慢性腸炎モデルに対する FTY720 投与の結果リンパ球の sequestration、Th1 型リンパ球の大腸粘膜固有層への浸潤抑制、局所におけるサイトカインパターンの変化が誘導され慢性腸炎が改善することが示された。この研究は FTY720 を用いた新たな CD に対する治療法の可能性を示唆するものであり学位に値するものと認める。