

Title	Therapeutic effect of a new immunosuppressive agent, everolimus, on interleukin-10 gene-deficient mice with colitis
Author(s)	松田, 宙
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48949
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	まつ だ ちゅう 松 田 宙
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 1 6 0 4 号
学位授与年月日	平成 19 年 9 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Therapeutic effect of a new immunosuppressive agent, everolimus, on 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免疫抑制剤 Everolimus の治療効果とそのメカニズム)
論文審査委員	(主査) 教授 澤 芳樹 (副査) 教授 林 紀夫 教授 福澤 正洋

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

炎症性腸疾患 (IBD ; inflammatory bowel disease) は遺伝的素因を背景として、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、その病因ならびに病態については未だ十分に解明されていない。クローン病 (CD ; Crohn's disease) は代表的な IBD のひとつであるが、大腸粘膜固有層 (CLP ; colonic lamina propria) での Th1 型サイトカインを産生する CD4⁺T リンパがその病態の中心的な役割を果たしていると考えられている。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抗炎症療法、6-MP 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。近年、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、寛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できるものがないのが現状である。

ラパマイシンの誘導体である Everolimus は、サイクロスポリンやタクロリムスなどのカルシニューリン阻害剤とは作用機序が異なり、細胞内情報伝達分子である mTOR (mammarian target of apamysin) に結合して細胞増殖シグナルを阻害し、IL-2 による T 細胞の増殖を抑制することで免疫抑制作用を示す。さらに、Everolimus には抗腫瘍効果ならびに抗日和見感染の作用が報告されている。そこで、本研究では移植と同様に易感染性を呈する IBD に対し、Everolimus の寛解維持療法としての可能性を調べる目的で、CD 類似病変を自然発症する IL-10^{-/-} マウスにおける慢性腸炎モデルを用いて、その治療効果を作用機序も含めて検討した。

[方法ならびに成績]

1. 腸炎をすでに発症した 16-20 週齢の IL-10^{-/-} マウスに対し、Everolimus (3.0 mg/kg) を 4 週間連続経口投与し、同期間 vehicle のみを投与した control 群と比較することにより、腸炎に対する治療効果およびその機序につき検討した。各種リンパ組織 (SP ; spleen, MLN ; mesenteric lymph nodes) からのリンパ球の解析は flow cytometry を用いて行い、リンパ球の非刺激下 48 時間培養上清におけるサイトカイン産生については ELISA 法で解析した。Everolimus 投与群では Control 群に比して、
 - 1) IL-10^{-/-} マウスの有意な病態改善 (体重増加、下痢の軽減) 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: Everolimus 9.8 ± 1.1 v.s. control 17.3 ± 3.3)
- 3) SP、MLN、CLP のリンパ球数は有意に減少し、なかでも SP、CLP リンパ球における $CD4^+$ T リンパ球数が有意に減少した。
- 4) CLP において $CD4^+$ $CD44^+$ 活性化 T リンパ球数が有意に減少した。
- 5) CLP リンパ球における $IFN-\gamma$ 産生は有意に減少した。

2. 腸炎をすでに発症した 16-20 週齢の $IL-10^{-/-}$ マウスと同週齢の野生型マウス (Wt) に対し、Everolimus (3.0 mg/kg) を 4 週間連続経口投与し、SP のリンパ球を用いて Everolimus が mTOR シグナルに与える影響につき western blot 法にて検討した。

- 1) Everolimus を投与しない場合、 $IL-10^{-/-}$ マウスは Wt に比して、mTOR シグナルの亢進が認められた。
- 2) Everolimus を投与した場合、Wt、 $IL-10^{-/-}$ マウスとも mTOR シグナル下流の 4EBP1 のリン酸化の抑制が認められ、mTOR シグナルを抑制することを確認した。

[総 括]

Everolimus は $IL-10^{-/-}$ マウスにおける慢性腸炎の組織学的炎症所見を有意に抑制した。腸炎抑制の作用機序として、Everolimus は $IL-10^{-/-}$ マウスのリンパ球の mTOR シグナルを阻害することによって、活性化リンパ球を抑制し、大腸粘膜固有層における活性化 $CD4^+$ T リンパ球を減少させ、さらに $INF-\gamma$ 産生を減少させることが要因のひとつではないかと考えられた。Everolimus は寛解導入後の維持療法として有用な治療薬のひとつであることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

クローン病 (CD) は代表的な炎症性腸疾患のひとつであるが、その病因病態については未だ十分に解明されていない。近年、CD の緩解導入療法において有効な治療法が登場しているが、寛解維持療法においては安全かつ有効な治療法は確立されていない。そこで病態の重要な役割を演じていると考えられる $CD4^+$ T リンパ球をターゲットとして、その増殖を抑制する新規免疫抑制剤 everolimus の寛解維持療法としての可能性を調べるべく、CD 類似の慢性腸炎モデルである $IL-10^{-/-}$ マウスを用いて、その治療効果と作用機序を検討した。その結果、everolimus は慢性腸炎を組織学的に抑制した。everolimus は大腸固有粘膜層において、活性化 $CD4^+$ T リンパ球の mTOR 以下のシグナルを抑制することによって、その増殖を抑制し、 $INF-\gamma$ 産生を減少させることで慢性腸炎を制御したと考えられた。以上より、本論文は学位の授与に値すると考えられる。