



Title	Blockade of Interleukin-6 Signaling Suppresses Not Only Th17 but Also Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein-Specific Th1 by Promoting Regulatory T Cells in Experimental Autoimmune Uveoretinitis
Author(s)	春田, 亘史
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58932
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら 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	はる た ひろ し 春 田 亘 史
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 4 8 6 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 23 年 8 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Blockade of Interleukin-6 Signaling Suppresses Not Only Th17 but Also Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein-Specific Th1 by Promoting Regulatory T Cells in Experimental Autoimmune Uveoretinitis (実験的自己免疫性ぶどう膜炎において、インターロイキン6阻害治療は制御性T細胞を活性化することで、Th17のみならず視細胞間レチノイド結合蛋白質に特異的なTh1をも抑制する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 西 田 幸 二 (副査) 教 授 熊ノ郷 淳 教 授 竹 田 潔

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

難治性ぶどう膜炎に対しては、現在ステロイドの全身投与が標準治療であるが、その副作用が問題になることがある。一方近年、抗体医薬品が開発され、代表的な炎症性サイトカインであるTNF-αに対する抗体治療が、難治性ぶどう膜炎のベーツェット病に対して適応を認められた。しかしいまだ全例を完治させることは困難である。ヒトのぶどう膜炎モデルである、マウスの実験的自己免疫性ぶどう膜炎(以下EAU)は、視細胞間レチノイド結合蛋白質(以下IRBP)抗原を接種することで惹起される適応免疫系の炎症モデルであり、IFN-γ産生性のCD4+ヘルパーT細胞(以下Th1)と、インターロイキン(IL)-17産生性CD4+ヘルパーT細胞(以下Th17)の両者がその発症に関与していると言われている。やはり炎症性サイトカインの1つであるIL-6のレセプター(以下IL-6R)に対する抗体治療は、EAUモデルにおいてnaïve T細胞からTh17への分化を抑え、また炎症抑制性の制御性T細胞(Treg)を亢進させ、抗炎症効果があることは既に知られている。しかし我々はEAUモデルに対し抗IL-6R抗体を使用し、Th17のみならずIRBP特異的なTh1の分化も抑制することを見出した。IL-6とTh1の関係は*in vivo*においていまだ不明であり、また抗IL-6R抗体がEAUの発症に重要なIRBP特異的なTh1の分化を抑制する原因が不明であったので、今回その機序について検討した。

〔 方 法 〕

野生型(WT)、IL-6をノックアウトした6～8週齢の雌C57BL/6 マウス(IL-6KO)を用いてEAUを誘導して、眼炎症の評価を行い、眼とその所属リンパ節からのIFN-γとIL-17の産生能を調べた。またIFN-γ、IL-17KOをそれぞれノックアウトしたマウス(GKO, IL-17KO)に対しても、EAUを誘導して眼炎症の評価、IFN-γ、IL-17の産生能を評価した。また両者に抗IL-6R抗体を投与し、眼炎症の評価を行った。最後に抗IL-6R抗体により誘導されるTregに着目して、その役割を調べるために、*in vivo*においてTregを除去できる抗CD25抗体をIL-6KOに投与して、EAUを誘導した。

〔 成 績 〕

WTでは、EAU誘導後3週間をピークに強い眼炎症が見られたのに対し、IL-6KOでは炎症は見られなかった。またIL-6KOではIFN-γ、IL-17は眼球、所属リンパ節ともWTに比して産生能は低下していた。またGKO, IL-17KOはWTと同等の眼

炎症が見られた。GKOにおいてはIL-17の、またIL-17KOにおいてはIFN-γの産生能がWTにくらべて、リンパ節で有意に亢進していた。これらからEAUにおいてIFN-γ、IL-17両方のサイトカインが発症に関与していることがわかった。またIL-6KOではWTに比してTregが亢進しており、Tregを抗体で除去したIL-6KOではEAUが誘導され、また所属リンパ節においてIFN-γ、IL-17の産生能が亢進していた。

〔 総 括 〕

EAUにおいて、Th1、Th17の両方がその発症に関与しており、*in vivo*において抗IL-6R抗体治療は両者の分化を抑制することがわかった。またそのメカニズムとして抗IL-6R抗体はTregの分化を誘導して、その結果としてIRBP特異的なTh1、Th17の分化を抑制していることがわかった。実際のヒトのぶどう膜炎においても、Th1、Th17の両方が炎症に関わっているため、両者を抑制することのできる抗IL-6R抗体は有用な治療法になる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年さまざまな生物学的製剤が臨床応用されており、眼科領域においても、抗TNF-α抗体であるインフリキシマブが、ベーチェット病に伴うぶどう膜炎に用いられている。また炎症性サイトカインのインターロイキン-6(IL-6)のレセプターに対する阻害抗体が、難治性の関節リウマチに応用されており、インフリキシマブ抵抗性の難治性ぶどう膜炎に対する適応拡大が期待されている。

以前申請者が属する研究グループは、抗IL-6レセプター抗体がヒトぶどう膜炎モデルである、マウスのExperimental Autoimmune Uveitis (EAU)において、炎症を抑制すること、またIL-17産生性のCD4陽性ヘルパーT細胞(Th17)の分化と、IFN-γ産生性のCD4陽性ヘルパーT細胞(Th1)の分化を抑制することを見出した。しかし、IL-6の阻害がナイーブCD4陽性T細胞からTh17への分化を抑制することは既知であるが、Th1の分化との関わりについては不明である。今回申請者らは、EAUにおいてTh17とTh1という別種の炎症性ヘルパーT細胞のどちらがその発症に関わっているかを解明し、EAUにおいてIL-6阻害がTh1の分化を抑制する機序を解明する目的で以下の実験を行った。

まず申請者らは、IL-6の遺伝子ノックアウトマウス(KO)でEAUが抑制されること、眼、所属リンパ節の両方でTh17、Th1サブセットの分化が抑制されることを示した。次にIL-17KO、IFN-γKOではEAUが発症することを示し、Th17、Th1サブセットの両者がEAUの発症に関わることを示した。またIL-17KO、IFN-γKOにおけるEAUで、抗IL-6レセプター抗体がTh17優位の炎症だけでなく、Th1優位の炎症も抑制していることを証明した。この原因として、申請者らはIL-6の阻害が別種のCD4陽性ヘルパーT細胞のサブセットである、免疫抑制性の制御性T細胞(Treg)の分化を促進することにより、Th1を抑制するという仮説を立てた。これを検証するために*in vivo*でTregを除去する抗体を用い、IL-6KOでTregを除去後にEAUを誘導した。その結果、Tregを除去したIL-6KOではEAUが誘導され、抗原特異的なTh1の増殖が認められた。以上から、EAUにおいてIL-6を阻害するとTregの割合が増加し、その結果として抗原特異的なTh1の分化が抑制され、炎症も抑制されることが証明された。

実際のヒトのぶどう膜炎においても、Th17、Th1サブセットの両者が関与していると考えられている。その両方を同時に抑制することのできるIL-6の阻害は、難治性のぶどう膜炎に対する有力な治療法になりうると考えられる。このように、本研究はEAUにおいてIL-6阻害がTh17、Th1サブセットの両者を抑制することを初めて明らかにしたものであり、加えてぶどう膜炎に対する新規の治療法の開発につながる価値ある成果を示している。よって本研究の業績は学位に値するものとする。