

論 文 内 容 要 旨

題目 Abrogation of Rbpj attenuates experimental autoimmune uveoretinitis by inhibiting IL-22-producing CD4⁺ T cells

(Rbpj の欠損は CD4 陽性 T 細胞による IL-22 産生を抑制することで実験的自己免疫性網膜ブドウ膜炎の症状を軽減させる)

著者 Zaied Ahmed Bhuyan, Michihito Asanoma, Akiko Iwata, Chieko Ishifune, Yoichi Maekawa, Mitsuo Shimada, Koji Yasutomo
平成 26 年発行 PLOS ONE に掲載予定

内容要旨

マウスにおける実験的自己免疫性網膜ブドウ膜炎(experimental autoimmune uveoretinitis ; EAU) は、ヒトのベーチェット病、Vogt-Koyanagi-Harada 症候群等の動物モデルとして用いられ、その発症には Th1 および Th17 型の CD4 陽性 T 細胞の関与が示唆されている。Notch 受容体は細胞の発生・分化に重要な分子であり、CD4 陽性 T 細胞のエフェクター機能発現にも重要な役割を果たしていることが知られている。Notch 受容体は Delta-like 4 (Dll4)などの Notch リガンドからの刺激を受けると γ -secretase によって細胞膜貫通領域が切断される。その後、Notch 細胞内領域が核内に移行して Rbpj を含む転写因子を活性化することで Notch 標的遺伝子発現を制御することが知られている。これまでの報告により、 γ -secretase や Dll4 機能を阻害することで実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症が抑制されることが報告されており、Notch シグナルが自己免疫疾患の発症に重要な役割を果たすことが示唆されている。しかし、EAU における Notch シグナルの役割については明らかになっていない。以上の背景から、本研究では T 細胞特異的に Rbpj を欠損したマウスを用いて、T 細胞の Notch シグナルがどのように EAU の発症および病状進展に関与するかについて検討した。

マウスに interphotoreceptor retinoid binding protein (IRBP)を免疫すると EAU が発症することが知られている。CD4 と CD8 陽性 T 細胞特異的に Rbpj を欠損したマウス (Rbpj^{fl/fl}-CD4)ではコントロールマウス(Rbpj^{+/+}-CD4)に比べて有意に EAU の発症と症状が抑制された。一方、CD8 陽性 T 細胞でのみ Rbpj を欠損したマウス (Rbpj^{fl/fl}-E81)の EAU 重症度は、コントロールマウス(Rbpj^{+/+}-E81)と同程度であった。以上から、CD4 陽性 T 細胞に発現する Rbpj が EAU 発症に関与することが明らかになった。

IRBP で免疫したマウスから CD4 陽性 T 細胞を分離し、IRBP で再刺激後に細胞増殖を調べると、Rbpj^{+/+}-CD4 と Rbpj^{ff}-CD4 の間に差は見られなかった。次に、IRBP を免疫したマウスの所属リンパ節から CD4 陽性 T 細胞を分離し、IRBP を加えて培養したときの上清中のサイトカインを測定すると、IL-17 量は Rbpj^{+/+}-CD4 と Rbpj^{ff}-CD4 の間に差は見られなかったが、IL-22 および IFN- γ の産生は Rbpj^{+/+}-CD4 の方で有意に高かった。EAU 発症に CD4 陽性 T 細胞から産生される IL-22 が関与するかどうかを明らかにするために、IRBP で免疫した Rbpj^{ff}-CD4 に IL-22 を投与した。IRBP 免疫後から day 13(IRBP 免疫日を day 0 とする)まで IL-22 を投与した場合には EAU の重症度に変化が見られなかったが、day 13 から day 39 まであるいは day 1 から day 39 まで IL-22 を投与した場合には、Rbpj^{ff}-CD4 の EAU 重症度が IL-22 非投与群に比べて有意に増強した。

Rbpj は Notch 以外の分子とも相互作用することが知られていることから、Notch シグナルを抑制する γ -secretase 阻害剤を EAU 誘導マウスに投与した。その結果、溶媒対照群に比べて γ -secretase 阻害剤投与群では EAU の重症度が有意に軽減した。さらに、これらのマウスより CD4 陽性 T 細胞を分離して IRBP 存在下で培養したときの上清中の IL-22 量は、 γ -secretase 阻害剤投与群で有意に減少していた。

以上の結果より、CD4 陽性 T 細胞の Notch/Rbpj シグナルを介する IL-22 の産生は EAU の進展後期に寄与している事が明らかになり、Notch シグナルは炎症性眼疾患に対する治療標的となりうる事が示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 201 号	氏名	Bhuyan Zaied Ahmed
審査委員	主査 六反 一仁 副査 泉 啓介 副査 井本 逸勢		

題目 Abrogation of Rbpj attenuates experimental autoimmune uveoretinitis by inhibiting IL-22-producing CD4⁺ T cells

(Rbpj の欠損は CD4 陽性 T 細胞による IL-22 産生を抑制することで実験的自己免疫性網膜ブドウ膜炎の症状を軽減させる)

著者 Zaied Ahmed Bhuyan, Michihito Asanoma, Akiko Iwata, Chieko Ishifune, Yoichi Maekawa, Mitsuo Shimada, Koji Yasutomo
 平成 26 年発行 PLOS ONE に発表予定
 (主任教授 安友康二)

要旨 Notch は動物種を超えて高度に保存された分子群であり、細胞分化や機能を制御する細胞内シグナルを供給することが知られている。従来の研究により、免疫系を構成する細胞においても Notch シグナルが機能していることが解明されている。例えば、Notch シグナルは胸腺内の T 細胞初期分化に必須であるとともに、成熟 T 細胞機能分化にも重要な役割を持つ。しかし、T 細胞の機能異常に起因する自己免疫疾患の進展にどのように Notch シグナルが寄与しているかについての詳細は解明されていない。以上の背景から、申請者らは、T 細胞の Notch シグナルが実験的自己免疫性網膜ブドウ膜炎(EAU)の病態進展にどのように関与するかについて解析した。その研究を実施するために、Notch シグナルに必須の転写調節因子である Rbpj が CD4 陽性および CD8 陽性 T 細胞で欠損する Rbpj^{fl/fl}-CD4 マウスと、CD8 陽性 T 細胞でのみ欠損する

Rbpj^{ff}-CD8 マウスを用いた。得られた結果は以下に要約される。

- (1) 自己抗原である interphotoreceptor retinoid binding protein (IRBP)をマウスに免疫した結果、Rbpj^{ff}-CD4 マウスでは EAU の臨床スコアがコントロールマウスと比較して有意に低かった。一方、Rbpj^{ff}-CD8 マウスでは EAU の臨床スコアはコントロールマウスと比較して差を認めなかった。
- (2) IRBP 免疫後の Rbpj^{ff}-CD4 マウスから回収した CD4 陽性 T 細胞から産生される interleukin-22(IL-22)量は、コントロール CD4 陽性 T 細胞からの産生量より有意に低下していた。
- (3) IRBP を免疫した Rbpj^{ff}-CD4 マウスに、リコンビナント IL-22(rIL-22)を IRBP 免疫初期に投与した場合には、臨床スコアは変化しなかった。一方、IRBP 免疫後期に rIL-22 を投与した場合には臨床スコアが悪化した。
- (4) IRBP を免疫した C57BL/6 マウスに Notch シグナルを抑制する γ セクレターゼ阻害剤を投与した場合に、EAU スコアが改善し、CD4 陽性 T 細胞からの IL-22 産生も低下した。

以上の結果より、T 細胞に発現する Notch シグナルは IL-22 の産生を調節する事で、EAU の進展を抑制していることが明らかになった。本研究は Notch シグナルによる新たな自己免疫疾患の進展機構の解明に寄与する可能性が大であり、学位授与に値すると判定した。