

Title	Progression of Autoimmune Hepatitis is Mediated by IL-18-Producing Dendritic Cells and Hepatic CXCL9 Expression in Mice.( Abstract_要旨 )
Author(s)	Ikeda, Aki
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2015-03-23
URL	<a href="http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k18849">http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k18849</a>
Right	許諾条件により本文は2015/07/01に公開; This is the pre-peer reviewed version of the following article: Ikeda, A., Aoki, N., Kido, M., Iwamoto, S., Nishiura, H., Maruoka, R., Chiba, T. and Watanabe, N. (2014), Progression of autoimmune hepatitis is mediated by IL-18-producing dendritic cells and hepatic CXCL9 expression in mice. <i>Hepatology</i> , 60: 224?236. doi: 10.1002/hep.27087, which has been published in final form at 10.1002/hep.27087.
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士 (医学)	氏 名	池 田 亜 希
論文題目	<b>Progression of Autoimmune Hepatitis is Mediated by IL-18-Producing Dendritic Cells and Hepatic CXCL9 Expression in Mice.</b> (自己免疫性肝炎モデルにおける肝炎劇症化は、樹状細胞での IL-18 産生と肝臓での CXCL9 発現によって生じる)		
(論文内容の要旨)			
<p><b>【背景】</b> 自己免疫性肝炎 (autoimmune hepatitis; AIH) 患者において、多くは慢性に肝炎が進行するが、急性発症し劇症化する症例が存在する。しかし、どのような機序で AIH が劇症化するのかは明らかではない。また、劇症化例にはステロイドパルス療法が行われるが、不応性のことも多く、新たな治療法の開発が待たれている。これまで私達は、BALB/c 系統の PD-1 遺伝子欠損マウスに、新生仔期胸腺摘除を行ない、抑制性の共刺激分子である PD-1 の欠損に加えて、CD4+CD25+制御性 T 細胞を除去することで、ヒト AIH と同様に高ガンマグロブリン血症と抗核抗体産生を伴う劇症型 AIH が発症することを明らかにしてきた。このモデルでは肝炎発症誘導に CD4+T 細胞が必須であり、その活性化は脾臓で生じ、濾胞ヘルパー T 細胞への分化を伴い、CCL20-CCR6 系に依存して肝臓に移行し、約 2 週齢で肝炎を発症する。そして、3 週齢で全例劇症化し致死的となるが、肝炎劇症化に至るメカニズムは明らかではない。</p> <p><b>【目的】</b> 本研究では、AIH 劇症化に関与する免疫担当細胞の同定と、劇症化に必須のサイトカインやケモカインの特定を行ない、AIH 劇症化機序を解明することを目的とした。</p> <p><b>【方法】</b> BALB/c 系統の新生仔期胸腺摘除 PD-1 遺伝子欠損マウスの 3 週齢において、肝臓・脾臓の組織学的解析、免疫担当細胞についての免疫組織学的、フローサイトメトリーによる解析、肝臓での PCR を用いた遺伝子発現解析、血清の ELISA 解析をおこなった。また、種々の中和抗体の <i>in vivo</i> 投与を行い、肝炎の抑制効果を検証した。</p> <p><b>【結果】</b> AIH が劇症化する 3 週齢の肝臓において、T-bet, IFN-<math>\gamma</math>, TNF-<math>\alpha</math>, CXCR3 の mRNA レベルの発現上昇を認め、Th1 型の免疫応答が優位であることが示唆され、フローサイトメトリーでの解析で、実際、CXCR3 陽性の T 細胞が CD8+T 細胞優位に増加していた。そして、抗 CD8 抗体の投与によって肝炎劇症化が抑制でき、CD8+T 細胞が肝炎劇症化に必須であることが明らかとなった。肝臓では CXCR3 リガンドである CXCL9 の発現上昇が mRNA レベル、蛋白レベルで確認でき、血清 CXCL9 濃度の上昇を伴っていた。そして、抗 CXCL9 抗体投与によって肝炎が抑制され CXCL9-CXCR3 系が劇症型 AIH の病態形成に必須であることが明らかとなった。肝での CXCL9 産生細胞を免疫染色にて解析すると、F4/80 陽性のマクロファージ/クッパー細胞であることが確認され、その発現誘導に肝臓局所でマクロファージおよび活性化 T 細胞から autocrine あるいは paracrine に産生される TNF <math>\alpha</math> の関与が示唆された。一方、肝炎劇症期に血清 IL-18 濃度の上昇をみとめ、IL-18R 抗体の投与によって肝炎が抑制された。脾臓、肝臓から各免疫担当細胞を単離し、IL-18 の発現解析をすると、樹状細胞がその主要な産生細胞であり、その発現誘導に TNF <math>\alpha</math> の関与が示唆された。IL-18R は CD4+, CD8+T 細胞樹状細胞に発現しており、IL-18R 抗体の投与によって、脾臓 T 細胞の CXCR3+T 細胞への分化が抑制され、肝炎の劇症化が抑制されることが示唆された。</p> <p><b>【結論】</b> AIH の劇症化は、TNF <math>\alpha</math> 依存性に生じ、樹状細胞が産生する IL-18 による脾臓 T 細胞の CXCR3+細胞への分化誘導と、肝臓のマクロファージ/クッパー細胞が産生する CXCL9 による CXCR3+T 細胞の脾臓から肝臓への移行が必須であることが明らかとなっ</p>			

た。

(論文審査の結果の要旨)

自己免疫性肝炎 (AIH) の多くは慢性的に進行するが、急性発症し劇症化する症例が存在する。しかし、劇症化メカニズムは明らかになっていない。申請者らのグループは、BALB/c 系統の PD-1 遺伝子欠損マウスに新生仔期胸腺摘除を施行することで、劇症型 AIH モデルを確立している。申請者はこのモデルを用いて、AIH 劇症化に関与する免疫担当細胞と必須のサイトカインやケモカインの特定と、そのネットワーク解明を目的とした。

AIH 劇症期の肝臓では、Th1 型の免疫応答を示唆する因子の発現が増強し、CXCR3+T 細胞が CD8+T 細胞優位に増加していた。抗 CD8 抗体は肝炎を抑制し、CD8+T 細胞が肝炎劇症化に必須であることが示された。また、肝臓 (主にクッパー細胞) では CXCR3 リガンドの CXCL9 が mRNA レベルおよび蛋白レベルで上昇し、抗 CXCL9 抗体投与により肝炎が抑制された。一方、肝炎劇症期には血清 IL-18 濃度の上昇を認め、IL-18 が樹状細胞より産生され、脾臓 CXCR3+Th1 細胞への分化を誘導していることを示した。また、抗 TNF  $\alpha$  中和抗体を用いた実験で、CXCL9、IL-18 の産生は TNF  $\alpha$  依存性に生じることが示唆された。

AIH の劇症化は、TNF  $\alpha$  依存性に、樹状細胞の産生する IL-18 による脾臓 CXCR3+Th1 細胞への分化誘導と、肝臓局所で産生される CXCL9 による CXCR3+T 細胞の脾臓から肝臓への移行によって生じることが示唆された。

以上の研究は、AIH の病態解明と新規治療法開発に貢献するところが多い。

したがって、本論文は博士 ( 医学 ) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 11 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。