

氏名(本籍)	よこやませいし 横山清司(東京都)
学位の種類	博士(生物科学)
学位記番号	博甲第6489号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	Pathophysiological and Therapeutic Analyses of Celiac Disease with Enterocytes-specific IL-15 Transgenic Mice (腸細胞特異的にIL-15を過剰発現させたマウスを用いたセリアック病の研究)
主査	筑波大学教授 博士(理学) 中田和人
副査	筑波大学教授 理学博士 林純一
副査	筑波大学教授 博士(医学) 千葉智樹
副査	筑波大学准教授(連携大学院) 博士(理学) 設楽浩志

論文の内容の要旨

セリアック病は欧米人口のおよそ1%程度にみられる自己免疫疾患で、小麦を含む食品の摂食によって小腸特異的に起こる炎症性の変化が病態発症の根源にあると考えられている。近年、セリアック病患者の小腸の上皮細胞では高濃度のIL-15が産生されていることが報告され、セリアック病の病態発症におけるIL-15の関与が注目を集めるようになった。IL-15は免疫担当細胞のCD8T細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞やナチュラルキラーT(NKT)細胞の増殖因子として知られており、またB細胞の発生と活性化に重要な働きをしているサイトカインである。セリアック病では、小腸上皮細胞上のMIC1分子をNK様CD8T細胞のNKG2D受容体が認識し、攻撃を開始することが、その発症の原因として考えられている。またセリアック病では、トランスグルタミナーゼ2(TG2)に対する特異抗体の有無がその診断基準として利用されているが、その他にも各種自己抗体の産生が検出され、セリアック病で発症する関節リウマチや、神経変性疾患等の合併症発症に関与すると考えられている。このような研究背景とは別に、所属研究室の先行研究において腸管上皮細胞でIL-15を過剰発現するマウス(T3^β-hIL-15Tgマウス)が作製され、IL-15の粘膜免疫学的機能解析が行われていた。このT3^β-hIL-15Tgマウスでは、二次リンパ組織、特に脾臓と腸間膜リンパ節の肥大が認められ、生後3~4ヶ月で慢性的な小腸炎を発症し、CD8T細胞の過剰な蓄積が起こることが報告されたが、前述のセリアック病に関する解析は手つかずの状態であった。そこで本研究では、このT3^β-hIL-15Tgマウスの病態を精査し、セリアック病との類似性を検討することとした。そして、このT3^β-hIL-15Tgマウスの疾患モデルマウスとしての利用価値を把握することで、セリアック病の効果的な治療法の探索、ならびにその確立を目指した。

まず、このT3^β-hIL-15Tgマウスで増殖しているNK様CD8T細胞を詳細に調べたところ、セリアック病の発症に深く関与していると考えられているNKG2D受容体を強く発現していることを見出した。また、血清中のイムノグロブリン量の測定を行った結果、各クラスの抗体産生量が増加していることが分かった。さらに、各種自己抗体の量を測定した結果、抗2本鎖DNA抗体や、抗Fc抗体であるRheumatoid FactorやTG2抗体などが有意に増加していることが明らかになった。そして、フローサイトメトリーを用いた解析から、

T3^b-hIL-15Tg マウスでは、抗体産生細胞であるプラズマ細胞が脾臓及び小腸粘膜固有層の両方で増加しており、その前駆細胞であるプラズマブラストは脾臓では減少し、小腸粘膜固有層で顕著に増加していることが明らかになった。これらの結果から、T3^b-hIL-15Tg マウスはヒトセリアック病の分子病態変化と酷似した表現型を呈していることが明らかとなった。

次に、この T3^b-hIL-15Tg マウスを慢性化ヒトセリアック病のモデルマウスと位置付け、CD122 (IL-2/15β 鎖) に対する抗体 (TM-β1) を投与し、過剰産生された IL-15 のシグナルを遮断することで、セリアック病の症状を抑制することが可能か、否かを検討した。IL-2 と IL-15 の受容体は、それぞれ固有の α 鎖、及び共通の β と γ 鎖の三量体で構成されており、(γ 鎖は、IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 と IL-21 が使用) TM-β1 は、IL-15 の CD122 への結合エピトープのみをマスクする抗体で、IL-2 のシグナルには影響を与えず、IL-15 のシグナルを特異的に遮断する。私はこの TM-β1 抗体を T3^b-hIL-15Tg マウスに 2 ヶ月間 (1 週間に 2 度) の腹腔投与を実施した。通常、T3^b-hIL-15Tg マウスの抹消血液中には、CD8T 細胞が加齢とともに増加することが確認されている。しかし、TM-β1 抗体を投与した場合、T3^b-hIL-15Tg マウスで増加していた CD8T 細胞は経時的に減少し続け、投与開始後およそ 2 ヶ月でほぼ正常マウスと同等の頻度に戻ることが明らかになった。また、TM-β1 抗体投与終了後のマウスより脾臓と小腸を採取したところ、T3^b-hIL-15Tg マウスでは起こっていた脾腫が消失し、小腸特異的な炎症も有意に抑制されていた。また絨毛の扁平化やリンパ球の浸潤も消失しており、正常な小腸の組織形態を示していた。また、セリアック病の病因と目されている腸管の NKG2D 陽性 CD8T 細胞が、ほぼ全て消失していることが明らかになった。以上の結果より、TM-β1 抗体の投与は、T3^b-hIL-15Tg マウスにおいて、一度発症した慢性的な小腸炎を緩解させ、正常な状態まで回復させることが示された。このような治療戦略は、CD122 に対する抗体療法がステロイドや免疫抑制剤以外の有効な治療法がない重症の慢性セリアック病の患者において有効である可能性が高い。この成果を受け、米国 NIH においてセリアック病に対するヒト化した CD122 抗体の臨床試験が計画されるに至っている。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、既に樹立されていた小腸細胞特異的に IL-15 を高発現させたマウスを再活用し、このマウスがまさにグルテンを高濃度に含む食品を摂食することで起こる慢性小腸炎を主症状とするセリアック病の疾患モデルになることを細胞学的かつ免疫学的な側面から立証することに成功している。さらに、この病態モデルマウスを駆使して IL-15 のシグナルを遮断できる抗体療法を実施し、その病態改善効果を示している。本論文におけるこれらの一連の成果は、欧米人口の 1% 程度にみられる自己免疫疾患であるセリアック病の分子病態研究の飛躍に貢献しており、その治療戦略の提案にも至っている点は学問的に高く評価できる。

平成 25 年 2 月 6 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (生物科学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。