

京都大学	博士 (医学)	氏名	吉野 琢哉
論文題目	Immunosuppressive effects of tacrolimus on macrophages ameliorate experimental colitis (タクロリムスのマクロファージに対する免疫抑制効果は実験的腸炎を改善する)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>クローン病や潰瘍性大腸炎は原因不明の炎症性腸疾患 (IBD)である。現在、IBD 治療の主流は、腸管粘膜局所に浸潤した免疫担当細胞及び、これら細胞から産生される炎症性サイトカインの制御である。特に抗原提示細胞による腸内細菌の認識、処理異常が IBD の病態に強く関与することから、マクロファージなどの抗原提示細胞の制御が注目されている。マクロライド系免疫調節薬であるタクロリムスの作用機序は、細胞内に存在する FKBP12 と複合体を形成し、活性化 T 細胞核因子の核内移行を阻害することで、T 細胞からの IL-2 産生などを抑制することとされてきた。しかし、タクロリムスがマクロファージに及ぼす影響についての検討は行われていない。申請者は、タクロリムスの活性化マクロファージに及ぼす影響について検討した。IL-10 ノックアウト(KO)マウス由来の腹腔内マクロファージをタクロリムス(0, 0.01, 0.1mg/ml)存在下で培養、LPS 刺激を行い、炎症性サイトカインの産生を測定した。その結果、タクロリムスは濃度依存性に炎症性サイトカイン産生を抑制し、それは NF-<math>\kappa</math>B、MAPK の抑制によることが判明した。さらにタクロリムス存在下で培養されたマウス由来マクロファージ細胞株 RAW264.7 細胞を flow cytometry で解析した結果、時間、濃度依存性に AnnexinV 陽性細胞が増加し、タクロリムスがアポトーシスを誘導することが示された。またこの機序は caspase3,9 を介することが示された。自然腸炎発症モデルにおけるタクロリムスの直接的腸炎改善効果を検討するため、IL10KO マウスにタクロリムス注腸投与(10mg/kg)を行った。その結果、腸管内 CD11b 陽性細胞における TUNEL 発現が増強、CD11b 陽性細胞の減少が認められ、in vivo においても腸管内マクロファージのアポトーシスが誘導されることが証明された。無治療群と比較して、タクロリムス投与群では肉眼的、組織学的に腸炎の改善効果が認められた。さらに T 細胞、B 細胞が欠損している SCID マウスに dextran sulfate sodium を投与し急性腸炎を作製、タクロリムス注腸による腸炎改善効果について検討した。IL10KO マウスと同様、タクロリムス注腸群では腸炎の改善効果が認められた。これらの結果から、タクロリムスによるマクロファージの直接的な制御が腸炎改善効果に繋がることを示された。以上より 1)タクロリムスは NF-<math>\kappa</math>B、MAPK の抑制を介して活性化マクロファージからの炎症性サイトカイン産生を抑制すること、2)タクロリムスは caspase3,9 を介してマクロファージのアポトーシスを誘導すること、3)タクロリムス注腸投与は、腸管内マクロファージのアポトーシスを誘導することで腸炎を改善することが明らかとなった。これらの結果から、タクロリムスの腸炎抑制効果にはマクロファージの制御が関与していることが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

炎症性腸疾患の原因の1つとして、マクロファージの免疫応答異常が病態に関与していることが示唆されている。そこで申請者らは、タクロリムスのマクロファージに対する免疫抑制効果、さらに各種腸炎モデルマウスにおけるタクロリムス注腸の有用性について検討を行った。

その結果、タクロリムスは、活性化マクロファージにおいて NF- $\kappa$ B、MAPK の活性化、炎症性サイトカイン産生をともに抑制した。加えて Caspase3, 9 を介してアポトーシス誘導効果も認めた。次にタクロリムスの直接的な腸炎抑制効果を検討するため、IBD モデルマウスに対し、タクロリムスの注腸投与を行った。その結果、in vivo における腸管内マクロファージのアポトーシス誘導効果が証明された。さらにタクロリムス注腸群における著明な腸炎の改善と組織中の炎症性サイトカイン遺伝子発現の抑制が認められた。T 細胞、B 細胞の欠損した SCID マウスを用いた急性腸炎モデルにおけるタクロリムス注腸投与の結果、タクロリムスのマクロファージに対する直接的な免疫抑制効果が腸炎の改善繋がることを示唆された。

以上の研究はタクロリムスの新たな免疫抑制効果の解明に貢献し IBD の新たな細胞標的治療法の確立に寄与するところが多い。

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 22 年 11 月 1 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降