

京都大学	博士 (医学)	氏名	岩本 諭
論文題目	<p>TNF-α is essential in the induction of fatal autoimmune hepatitis in mice through upregulation of hepatic CCL20 expression. (TNF-α は、肝臓での CCL20 の発現上昇を誘導し、致死性自己免疫性肝炎マウスモデルの発症に不可欠である)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>【背景】 TNF-αの産生は、免疫応答が関与する様々な炎症性疾患の病態深く関与し、実際、リウマチ疾患や炎症性腸疾患に対して、TNF-α拮抗薬は臨床の場で広く用いられ非常に有用であることが示されている。一方、肝臓において、TNF-αは肝細胞に対して多面的に作用し、直接もしくは間接的に肝細胞に細胞死を誘導する一方で、肝細胞の増殖や炎症惹起性の様々な因子の産生の誘導や、肝組織の再生への促進的な作用があることが知られている。ヒト自己免疫性肝炎 (Autoimmune hepatitis : AIH) は、自己反応性 T 細胞によって生じる臓器特異的自己免疫疾患と考えられているが、AIH 患者の末梢血において TNF-α濃度の上昇がみられることが報告されている。しかし、TNF-αが AIH の病態にどのように関与しているのか、また、TNF 拮抗薬が AIH の治療に有効であるのか、いずれも明らかではない。</p> <p>【目的】 最近開発されたヒト AIH に類似した疾患モデルマウスを用いて、TNF-αの AIH 病態形成での役割を明らかにし、TNF 拮抗薬が AIH 治療に有効であるのか検討することを目的とし本研究を行った。</p> <p>【方法】 BALB/c系統のPD-1 遺伝子欠損 (PD-1^{-/-})マウスに新生仔期胸腺摘除 (NTx) を施行することで、高ガンマグロブリン血症と抗核抗体産生を伴うヒトAIHに類似した重度のAIHが発症する。このNTx-PD-1^{-/-}マウスでは、CD4⁺T細胞の存在が発症に不可欠であり、その活性化は最初脾臓で生じ、CCR6-CCL20 axisによって肝臓へ移行し炎症を惹起し、ほぼ全例2週齢で肝炎を発症し、約4週齢で死に至ることが明らかとなっている。このマウスにおいて、TNF-α とCCL20 に対する中和抗体の <i>in vivo</i>投与を行い、経時的な血清TNF濃度、肝逸脱酵素の測定、肝組織、脾臓における組織学的解析、免疫染色、RT-qPCRによるサイトカイン、ケモカイン発現解析を行うとともに、各組織から免疫担当細胞を単離し、フローサイトメトリーでのサイトカイン、表面マーカー発現解析を行った。また、リコンビナントTNF-αの <i>in vivo</i>投与や <i>ex vivo</i>での肝細胞培養実験も行った。</p> <p>【結果】 血中TNF-α濃度は、AIHの発症時期にすでに有意に上昇していた。この上昇は、脾摘、抗CD4 抗体投与によるCD4⁺T細胞除去によって抑制でき、脾臓でのCD4⁺T細胞活性化に由来するものであることが示唆された。抗TNF-α抗体投与を予防的に行なうとAIHの発症は抑制可能であったが、AIH発症後からの治療的な投与では、致死性肝炎の進行は抑制できなかった。そして、抗TNF-α抗体の予防的投与では、AIHの発症時期の脾臓T細胞の活性化は抑制できなかったが、脾臓T細胞の肝への移行に必須の肝細胞でのCCL20 の発現上昇が抑制可能であった。逆に、抗CCL20 抗体投与では、AIH発症の抑制が可能であったが、血中TNF-α濃度の上昇は抑制できなかった。また、<i>in vivo</i>および <i>ex vivo</i>でリコンビナントTNF-αの投与を行なうと、肝細胞でCCL20 の発現上昇が誘導されたことが明らかとなった。</p> <p>【結論】 ヒト AIH に類似したマウスモデルでは、TNF-αは AIH の発症に不可欠であり、活性化された脾臓 T 細胞が肝臓へ移行し炎症を惹起するのに必須の肝細胞での CCL20 の発現上昇を誘導することが明らかとなった。また、TNF 拮抗薬は治療的には AIH の再発治療に有効であることが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

ヒト自己免疫性肝炎 (Autoimmune hepatitis : AIH) は、自己反応性 T 細胞によって生じる臓器特異的自己免疫性疾患と考えられ、患者血清において TNF- α が高値を示すことが報告されている。しかし、TNF- α がその病態にどのように関与しているのか、また、TNF 拮抗薬が治療に有効であるのか、いずれも明らかではない。一方、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と、ヒト AIH に類似した重度の AIH が発症することが明らかとなっている。そこで、この疾患モデルを用いて、TNF- α の持つ役割と TNF 拮抗薬の有効性について検証を行った。

AIH マウスモデルでは、重症化する以前の発症時期から血中 TNF- α 濃度が有意に上昇しており、抗 TNF- α 中和抗体を発症前に投与すると、肝細胞での CCL20 発現上昇が抑制され、発症に必須である脾臓の活性化 T 細胞の肝への移行が阻害され、AIH の発症が抑制された。また、リコンビナント TNF- α の投与にて、肝細胞での CCL20 の発現が上昇した。一方、AIH 発症後に抗 TNF- α 中和抗体を治療的に投与しても、致死性の肝炎進行は抑制できなかった。これらのことから、TNF- α は肝細胞での CCL20 の発現上昇を介して AIH の発症に必須であること、また TNF 拮抗薬は重症例の治療には有効ではないが、AIH の再発予防には有効である可能性が示された。

以上の研究は、自己免疫性肝炎の病態解明と治療法の開発に貢献し、広く臓器特異的自己免疫性疾患に関する理解を深めるの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 25 年 2 月 4 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