

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	谷 田 司 明
論文題目	CCL20 produced in the cytokine network of rheumatoid arthritis recruits CCR6+ mononuclear cells and enhances the production of IL-6 (関節リウマチのサイトカインネットワークにおいて産生されたケモカイン CCL20 は CCR6 陽性単核球を遊走し、IL-6 産生を増強する)		
(論文内容の要旨)			
関節リウマチ（RA）では、経過中に CD4 陽性ヘルパーT 細胞（Th 細胞）が関節滑膜に浸潤している全細胞の約 40% を占めること等から、Th 細胞が RA の関節炎症に関与すると考えられている。Th 細胞には、IFN-γ を産生する Th1 細胞、IL-4 を産生する Th2 細胞、IL-17A を産生する Th17 細胞、TGF-β を産生する制御性 T (Treg) 細胞をはじめとした分画が存在し、そのうち、Th17 細胞は自己免疫性疾患との関連が示唆されている。自己免疫性関節炎自然発症マウスでは、線維芽細胞様滑膜細胞（FLS）がケモカイン CCL20 を産生し、その受容体である CCR6 を発現している Th17 細胞が炎症関節に遊走することが認められている。ヒトでも、RA 関節液中の IL-17A と CCL20 の濃度が変形性関節症の関節液中に比べて有意に高いと報告されている。さらに、最近になって CCR6 遺伝子多型が RA 発症と関連性があることが発見された。このようなことから、CCL20、IL-17A を含むサイトカインネットワークがヒト RA の関節炎症に深く関与すると考え、さらに解析を行った。ヒト RA 患者由来の FLS を単層培養し、炎症性あるいは Th 細胞関連サイトカインで刺激し、ELISA 法にて培養上清の蛋白濃度を測定した。培養細胞の遺伝子発現はリアルタイム PCR にて解析した。また、健常人の血液から単核球を分離し、細胞遊走アッセイとフローサイトメトリーにて細胞遊走を解析した。走化因子として、ヒトリコンビナント CCL20、あるいは FLS を IL-1β で刺激した培養上清（CM）を用いた。 ヒト RA 由来の FLS からの CCL20 の産生は TNF-α、IL-1β が主導しており、IL-17A によって増強される一方、IL-4、TGF-β によって抑制されていた。IFN-γ は複雑に関与しており、TNF-α とでは産生を増強するが、IL-1β とでは抑制する方向に働いていた。TNF-α による CCL20 の産生が IL-1β の中和抗体により抑制されたことより、IL-1β が TNF-α による CCL20 の産生誘導の一部を担っていることがわかった。また、IL-6 シグナルを伝達させるため、TNF-α に可溶性 IL-6R を同時に加えると、CCL20 の産生が増強したことから、自己・傍分泌的に産生された IL-6 のシグナルが CCL20 の産生に寄与していることもわかった。細胞遊走アッセイからは、CM が CCR6 陽性単核球の遊走を誘導しており、抗 CCL20 抗体を加えると遊走が抑制されたことから、IL-1β の刺激によって FLS から産生される蛋白の中で、CCL20 が CCR6 陽性単核球を遊走する主要な走化因子の一つであることがわかった。また、CCL20 は高濃度（$\sim 50\text{ng/ml}$）では FLS から単独でも IL-6 の産生を誘導するが、低濃度（$\sim 10\text{ng/ml}$）では単独では産生誘導が確認されなかったものの、IL-17A と同時に加えると IL-6 の産生を増強しており、CCL20 が炎症作用を担っていることがわかった。しかし、IFN-γ とはそのような相乗効果は認めなかった。 ヒト RA の炎症関節におけるサイトカインネットワークで産生される CCL20 は、CCR6 陽性単核球を遊走する主要な走化因子としての作用を有しているだけでなく、IL-6 の産生誘導を通じて炎症作用も担っていることがわかった。以上のことから、CCL20 は Th17 細胞を含むリンパ球遊走や関節炎症の遷延に関与しており、CCL20 は RA 治療の新たな標的となる可能性があると考えられる。			

(論文審査の結果の要旨)			
ヒト関節リウマチ (RA) 患者由来の線維芽細胞様滑膜細胞 (FLS) によるケモカイン CCL20 の産生は、炎症性サイトカインが主導しており、ヘルパー T 細胞 (Th 細胞) 由来のサイトカインによって調節されていることが報告されていた。今回申請者らは、RA の病態における CCL20 及びその受容体である CCR6 の関与について解析し、さらに、以下の 3 点を初めて明らかにした。① IL-1β と IL-6 が、TNF-α による FLS からの CCL20 産生を促進していること。② IL-1β の刺激によって FLS から産生される様々な蛋白質の中で、CCL20 が単核球を遊走させる主要な走化因子の一つであること。③ CCL20 は 50ng/ml 程度の高濃度では単独で FLS からの IL-6 産生を誘導する一方で、10ng/ml 以下の低濃度でも IL-17A と協調して IL-6 の産生を増強するが、IFN-γ とはそのような増強作用を認めないことである。以上より、CCL20 は CCR6 を発現している Th17 細胞を含むリンパ球の遊走だけでなく、炎症性サイトカインである IL-6 の分泌を誘導することで関節炎症の遷延にも関与しており、RA 治療の新たな標的となる可能性があると考えられる。 以上の研究は RA におけるサイトカイン及びケモカインの作用メカニズムを解明し、新規治療の可能性を示した。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文としての価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 23 年 2 月 3 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			