

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16928

研究課題名(和文) 自然リンパ球MAIT細胞の眼内炎症制御メカニズムの解明

研究課題名(英文) The role of innate lymphoid cell in autoimmune uveitis

研究代表者

長谷川 英一 (Hasegawa, Eiichi)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：70636521

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：自然リンパ球Mucosal associated invariant T(MAIT)細胞のぶどう膜炎における機能を解析するため、MAIT細胞を欠損させたマウスに実験的自己免疫性ぶどう膜炎を誘導し眼炎症の重症度を評価したところ、野生型マウスと比較し網膜血管炎や網膜滲出斑など眼炎症の有意な増悪が見られた。またPCR、FACSを用いた解析ではMAIT細胞欠損マウス眼内の炎症性サイトカインの発現が上昇していた。自然リンパ球MAIT細胞は眼内炎症時に炎症反応性に増加し、炎症抑制的に作用している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非感染性ぶどう膜炎の原因・詳細な発症機序については未だ解明されておらず、現在標準的に行われている治療は炎症を抑制するための対症的な治療のみであり、効果不十分や副作用出現など克服しなければならない課題も多い。本研究ではこれまで多く研究されているT細胞を主体とした獲得免疫系ではなく、自然リンパ球を対象としたぶどう膜炎の発症機序についての解析を行ない、その重要性を示した。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of mucosal associated invariant T(MAIT) cell, which was an innate lymphoid cell, in autoimmune uveitis using experimental autoimmune uveitis (EAU). FACS analysis revealed that the infiltration of MAIT cells into the eye was increased when EAU was induced. The severity of intraocular inflammation was significantly deteriorated in MAIT cell-deficient mice compared to wild-type mice. PCR analysis revealed that the expression of inflammatory cytokines was elevated in the eyes of MAIT cell-deficient mice. These results suggested that MAIT cell played a crucial role in suppressing autoimmune uveitis by regulation of inflammatory cytokine expression.

研究分野：眼科学

キーワード：ぶどう膜炎 MAIT細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ぶどう膜とは虹彩・毛様体・脈絡膜の総称であり、血管が豊富に存在するため微生物や腫瘍細胞が到達しやすく、また免疫細胞も豊富なため感染防御反応に加えて自己免疫反応による炎症の場となりやすい。このぶどう膜の炎症には感染性と非感染性のものが存在するが、原田病、ベーチェット病、サルコイドーシスの3大ぶどう膜炎を含む非感染性ぶどう膜炎疾患では、自己免疫反応により虹彩毛様体炎や網脈絡膜炎、視神経炎による組織障害を起こすことで重度の視力障害をきたし、最終的に失明に至る場合も少なくない。これら非感染性ぶどう膜炎の原因・詳細な発症機序については未だ解明されておらず、現在標準的に行われている治療は炎症を抑制するための対症的な副腎皮質ステロイド薬の眼局所と全身投与であり、重症例では免疫抑制剤を使用している。近年では生物学的製剤である抗 TNF 抗体が非感染性ぶどう膜炎の治療適応となり失明に至る症例は減少しているものの、アレルギー反応や感染症、耐性の出現で使用できない症例や、さらには長期間使用での安全性など克服しなければならない課題も多い。根本的な治療法が無い現状を鑑みると、ぶどう膜炎の発症機序や詳細な病態の解明、新たな治療法の開発は社会的急務である。

2. 研究の目的

ぶどう膜炎の病態にはヒト及びその動物モデルである実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (Experimental autoimmune uveitis: EAU) 共に CD4 陽性 T 細胞が Th1 細胞や Th17 細胞に分化し炎症を惹起することが重要と考えられ、これまで多くの研究がなされてきた。しかし免疫反応においては、T 細胞を主体とする獲得免疫系と非特異的免疫応答を示し抗原提示を行うマクロファージ等の自然免疫系に加えて、自然リンパ球とよばれる細胞集団も自然免疫と獲得免疫を繋ぐ役割を担い、炎症惹起に重要であることが分かっている。Mucosal associated invariant T (MAIT) 細胞は、NKT 細胞や T 細胞と共に自然リンパ球に分類され、通常の T 細胞と同様に T 細胞受容体を有し、細菌や真菌感染において MHC class Ib 分子である MR1 依存性に抗原提示を受けて活性化し、炎症に関与していることが分かっている。最近、病原性微生物由来のビタミン代謝産物を抗原として認識し感染防御に働くことが明らかになった。一方で多発性硬化症や膠原病をはじめとする自己免疫疾患でも MAIT 細胞が増加していることが明らかとなり、未知の自己抗原を認識し免疫応答に重要な役割を果たしていることが示唆され注目を浴びている。自己免疫性疾患であるぶどう膜炎においても、その病態に MAIT 細胞が関与しているのではないかと考え研究の対象とした。今回の研究の目的は、MAIT 細胞がぶどう膜炎における炎症形成にどのように関与しているのかを解明し、新たな病態理解を目指すことである。

3. 研究の方法

本研究は実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (Experimental autoimmune uveitis: 以下 EAU) を用いて検討を行った。EAU は網膜抗原と結核死菌を含む完全フロイドアジュバンドのエマルジョンをマウスに投与することで、眼内にヒトぶどう膜炎と類似した炎症を惹起することができるモデルである。

() MAIT 細胞のぶどう膜炎における病態関与の解析

EAU を誘導した野生型マウスの炎症極期の眼組織を回収し、眼内での MAIT 細胞の増減をフローサイトメトリー (FACS) にて解析する。野生型マウスと MAIT 細胞欠損マウス (MR1K0 マウス, J33K0 マウス) に EAU を作成し、ぶどう膜炎の重症度を眼底観察による炎症所見で経時的にス

コア化し各マウス群で評価比較する。また炎症極期の重症度を組織学的にスコア化し(HE 染色による)同様に各マウス群で比較し、MAIT 細胞のぶどう膜炎への関与を検討する。

()MAIT 細胞の眼内炎症制御メカニズムの解明

EAU を誘導した野生型マウスと MAIT 細胞欠損マウスの眼組織を採取し、FACS を用いて T 細胞をはじめとする眼内浸潤炎症細胞の割合の違いを調べる。また MAIT 細胞の獲得免疫系への作用を見るために、EAU を作成した野生型マウスと MAIT 細胞欠損マウスの眼組織を採取し、IFN- γ や IL-17 等 Th1、Th17 細胞由来炎症関連因子の発現の違いを real-time PCR、ELISA 法を用いて検討する。またその他の炎症関連因子の発現の経時的な変化についても同様に解析し、臨床症状の変化との関連について検討を行う。

()ヒトぶどう膜炎の活動性と MAIT 細胞との相関についての解析

同意が得られたぶどう膜炎患者の眼内液(前房水、硝子体液)、末梢血中の MAIT 細胞を FACS を用いて解析し、その増減と視力などの臨床スコアによって評価されるぶどう膜炎の疾患活動性との相関を調べる。

4 . 研究成果

()MAIT 細胞のぶどう膜炎における病態関与の解析

まず EAU を誘導した野生型マウスの眼内炎症細胞をフローサイトメトリーにて解析したところ、MAIT 細胞が眼内に浸潤してきていることが確認できた。続いて MAIT 細胞のぶどう膜炎における機能を解析するため、MAIT 細胞を欠損させたマウスに EAU を誘導し眼炎症重症度を臨床的に評価したところ、野生型マウスと比較して網膜血管炎や網膜滲出斑など眼炎症所見の有意な増悪が見られ、臨床スコアも悪化していた。また炎症極期の眼球を摘出し HE 染色を行い組織学的評価を行ったところ、MAIT 細胞欠損マウスにおいて有意に組織学的スコアが悪化していた。このことから MAIT 細胞は眼内炎症時に炎症反応性に増加し、炎症抑制的に作用している可能性が示唆された。

()MAIT 細胞の眼内炎症制御メカニズムの解明

MAIT 細胞がぶどう膜炎において炎症抑制的に作用する機序として、MAIT 細胞が炎症性サイトカインの発現を調節している可能性を考え各種サイトカインの発現を検討した。EAU を誘導した野生型マウスと MAIT 細胞欠損マウスの主要な炎症性サイトカインであるインターロイキン (IL)-17 と IFN γ の眼内液中の発現を比較したところ、MAIT 細胞欠損マウスにおいてそれらの発現が上昇している傾向が見られたが有意差は認めなかった。MAIT 細胞が炎症抑制性サイトカインの発現を促進し炎症を抑制している可能性も考え、主要な炎症抑制性サイトカインである IL-10 の眼内液中の発現も解析したが、こちらも両群に有意な発現の差は見られなかった。その他のサイトカインの発現変化について継続解析中である。

()ヒトぶどう膜炎の活動性と MAIT 細胞との相関についての解析

ヒトぶどう膜炎患者の眼内液を用いて FACS 解析を行ったところ、MAIT 細胞が検出され眼内炎症への関与が示唆された。また Vogt-小柳-原田病患者の末梢血において、炎症活動期には寛解期と比較して CD161、V β 7.2 両陽性の MAIT 細胞が増加していることが確認され、ヒトにおいても炎症病態に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。サンプル数を増やして解析を継続している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takeda A, Yamada H, Hasegawa E, Arima M, Notomi S, Myojin S, Yoshimura T, Hisatomi T, Enaida H, Yanai R, Kimura K, Ishibashi T, Sonoda KH	4. 巻 62
2. 論文標題 Crucial role of P2X7 receptor for effector T cell activation in experimental autoimmune uveitis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Japanese journal of ophthalmology	6. 最初と最後の頁 398-406
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10384-018-0587-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa E, Takeda A, Yawata N, Sonoda KH	4. 巻 42
2. 論文標題 The effectiveness of adalimumab treatment for non-infectious uveitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immunological Medicine	6. 最初と最後の頁 79 ~ 83
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/25785826.2019.1642080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 山名智志, 長谷川英一, 武田篤信, 園田康平
2. 発表標題 ベージェット病眼症に対するインフリキシマブの長期治療経過
3. 学会等名 第52回日本眼炎症学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長谷川英一, 山名智志, 八幡信代, 武田篤信, 園田康平
2. 発表標題 九州大学における非感染性ぶどう膜炎に対するアダリムマブの使用成績
3. 学会等名 第52回日本眼炎症学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 船津治彦, 吉山慶三, 中間崇仁, 中武俊二, 左野裕介, 長谷川英一, 園田康平
2. 発表標題 広角蛍光眼底造影で観察したVogt-小柳-原田病の検討
3. 学会等名 第52回日本眼炎症学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山名智志, 長谷川英一, 八幡信代, 武田篤信, 園田康平
2. 発表標題 フォークト-小柳-原田病患者における慢性化に関する因子の検討
3. 学会等名 第53回日本眼炎症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamana S, Hasegawa E, Takeda A, Yawata N, Sonoda KH
2. 発表標題 Long term outcomes of infliximab in patients with Behcet ' s disease-related uveitis
3. 学会等名 The Association for Research in Vision and Ophthalmology Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hasegawa E, Yamana S, Yawata N, Takeda A, Sonoda KH
2. 発表標題 Outcomes of the treatment for refractory non-infectious uveitis with Adalimumab
3. 学会等名 Global Ocular Inflammation Workshop 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamana S, Hasegawa E, Takeda A, Yawata N, Sonoda KH
2. 発表標題 Risk factors associated with persistent ocular inflammation in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease
3. 学会等名 15th International Ocular Inflammation Society Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----