

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09792

研究課題名(和文)ぶどう膜炎遷延化に関わるDAMPsとMAIT細胞による炎症制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of Inflammation by DAMPs and MAIT cells associated with prolonged 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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：これまでの我々の研究でMucosal associated invariant T(MAIT)細胞が眼炎症に抑制的に作用することを明らかにしており、その機序の解明のため基礎実験を行なった。実験的自己免疫性ぶどう膜炎を誘導したMAIT細胞欠損マウスでは、インターロイキン(IL)-22の産生が低下し眼炎症が増悪することから、MAIT細胞が産生するIL-22が炎症抑制に重要であることを示した。またIL-22が眼内において抗炎症作用を有するIL-19や神経保護作用を有するNgfの発現を上昇させることがMAIT細胞の炎症抑制機序の一端であること示した。

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は現在ステロイド、免疫抑制剤や生物学的製剤が標準治療として行われているが、治療にも関わらず炎症が再発・遷延化し視機能が低下してしまう症例がある。本研究ではMAIT細胞の眼炎症抑制作用とその機序について明らかにし、MAIT細胞が非感染性ぶどう膜炎の新たな治療のターゲットとなり得ることが示唆された。今回得られた知見から眼疾患のみならず他の自己免疫性炎症性疾患についても、MAIT細胞がその病態に重要な役割を果たしている可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Our previous studies have shown that Mucosal associated invariant T (MAIT) cells have an inhibitory effect on ocular inflammation, and we conducted basic experiments to elucidate the mechanism of this effect. In MAIT cell-deficient mice with experimental autoimmune uveitis, the production of interleukin (IL)-22 was decreased and ocular inflammation was exacerbated, indicating that IL-22 produced by MAIT cells is important for the suppression of inflammation. We also showed that IL-22 upregulates the expression of IL-19, which has anti-inflammatory effects, and Ngf, which has neuroprotective effects. This suggests that this is part of the mechanism by which MAIT cells suppress inflammation.

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

眼内の虹彩・毛様体・脈絡膜を総じてぶどう膜と呼ぶが、ぶどう膜は炎症の場となりやすくぶどう膜炎と呼ばれる眼内炎症をきたしやすい。ぶどう膜炎の原因疾患には感染性のものと非感染性のものが存在するが、ベーチェット病やサルコイドーシス、原田病などに伴う非感染性ぶどう膜炎では、自己免疫反応による炎症が眼のあらゆる部位に波及し、虹彩毛様体炎や網脈絡膜炎、視神経炎などによる眼組織障害を起こすことで視機能低下を引き起こす。現在では副腎皮質ステロイド、免疫抑制剤や抗 TNF 抗体の生物学的製剤による炎症抑制療法が標準治療となっているが、中にはこれらの治療が奏効せずに炎症の再燃を繰り返したり、炎症が遷延化してしまい重篤かつ不可逆的な視機能低下に陥る症例がある。我々はこの炎症再燃や遷延化こそが社会的失明に至る原因であり、これを防ぐことがぶどう膜炎の次なるアンメットニーズであると考えており、既存治療に依存しない新たな治療法の開発が必要とされている。

### 2. 研究の目的

ぶどう膜炎の病態には CD4 陽性 T 細胞を主体とする獲得免疫系が重要な役割を果たしていることが分かっているが、T 細胞以外にも多くの免疫細胞の病態への関与が示唆されている。これまでの我々の研究で自然リンパ球に分類される CD161、V 7.2 両陽性の Mucosal associated invariant T (MAIT) 細胞が、炎症が遷延したヒトぶどう膜炎患者の末梢血にて減少しており、炎症遷延化の病態に関与している可能性を示した。また基礎実験では、MAIT 細胞欠損マウスにぶどう膜炎を誘導すると野生型マウスと比較し炎症の増悪が見られたことから、MAIT 細胞はぶどう膜炎に抑制的に作用していると考えられた。ぶどう膜炎では障害を受けた組織から放出されるダメージ関連分子パターン(DAMPs)の関与が示唆されており、この DAMPs が二次的にぶどう膜炎の再燃や遷延化を引き起こしている可能性が考えられることから、本研究の目的はぶどう膜炎遷延化に関わる DAMPs の解明と炎症抑制作用を持つ MAIT 細胞の DAMPs 制御に及ぼす影響を検討しその炎症抑制機序を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(i)野生型マウスに実験的自己免疫性ぶどう膜炎(Experimental autoimmune uveitis:以下 EAU)を作成し、各病期(発症初期、極期、後期)における眼内液を採取し、眼内での各種 DAMPs を ELISA 法を用いて解析し、経過中に発現が増減し炎症への関与が疑われる DAMPs を検出する。また、ぶどう膜炎においては CD4 陽性 Th1, Th17 細胞が産生する IFN- $\gamma$  やインターロイキン(IL)-17 が炎症惹起に重要な役割を果たしていることが証明されている。EAU を誘導した野生型マウスの眼組織を採取し、これらの炎症性サイトカインと DAMPs の発現の関連も real-time PCR、multiplex ELISA 法を用いて検討する。

(ii)MAIT 細胞と炎症因子の関連を見るために、野生型マウスと MAIT 細胞欠損マウスに EAU を誘導し、各炎症期における各種炎症因子の発現量を比較検討する。

(iii)先に検討した炎症因子のうち発現に差が見られたものについて、EAU を誘導したマウス眼内への炎症因子投与やその抗体投与による MAIT 細胞の変化とぶどう膜炎の炎症重症度変化を臨床スコアを用いて評価する。

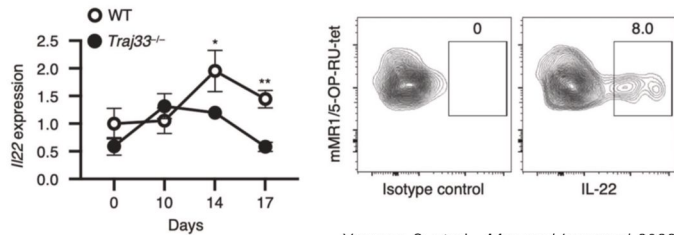
#### 4. 研究成果

(i) EAU を誘導した野生型マウスの各病期における眼内液、眼組織を採取し、ぶどう膜炎の炎症に關与すると思われる DAMPs 数種類について発現解析を行なったが、病期間の有意な発現の差は認めなかった。一方、主要な炎症性サイトカインである IL-17 や IFN の発現を調べたところぶどう膜炎発症極期前後でその発現が上昇していた。

(ii) そこで炎症性サイトカインについて更なる解析を行うべく EAU を誘導した野生型マウスと MAIT 細胞欠損マウスにおける IL-17 と IFN の発現を比較したが、両マウス群間に有意差は見られなかった。また炎症抑制性サイトカインである IL-10 についても検討を行なったがこちらにも有意差を認めなかった。しかし我々は解析を行なったいくつかの因子の中で、IL-22 の発現量が MAIT 細胞欠損マウスの炎症極期で減少していること、フローサイトメトリーを用いた野生型マウスの解析にて MAIT 細胞が眼内において IL-22 を産生していることを見出した (図 1)。

IL-22 は炎症抑制性サイトカインであり、MAIT 細胞欠損マウスではぶどう膜炎が増悪することから、MAIT 細胞が IL-22 を産生することで眼内炎症を抑制している機序が考えられた。

図 1

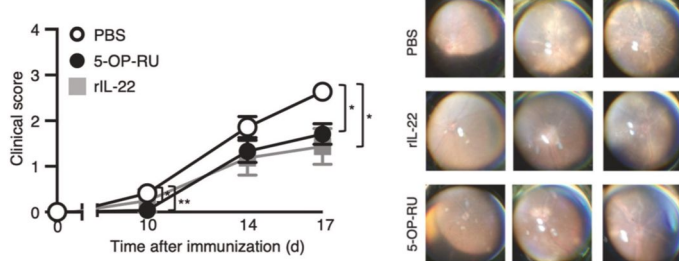


Yamana S, et al., *Mucosal Immunol.* 2022

(iii) IL-22 によるぶどう膜炎抑制効果を見るために EAU を誘導した野生型マウスの眼内に IL-22 を投与したところ、ぶどう膜炎が抑制された (図 2)。また MAIT 細胞の活性化因子である 5-OP-RU を眼内に投与した場合でも

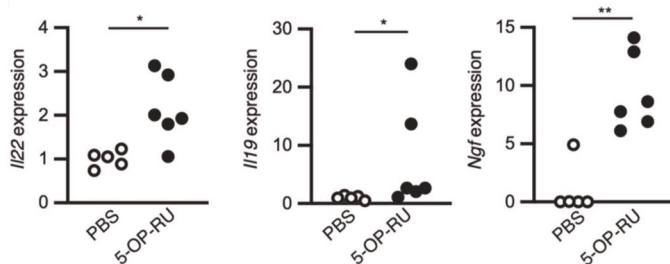
ぶどう膜炎が抑制されたことから、ぶどう膜炎においては MAIT 細胞が産生する IL-22 が炎症抑制的に作用していることが示唆された。また、5-OP-RU で MAIT 細胞を眼内で活性化させると MAIT 細胞の増加、IL-22 の発現量増加に加えて抗炎症作用を有する IL-19 と神経保護作用を有する Ngf の網膜における発現が上昇しており (図 3)、MAIT 細胞による炎症の抑制と網膜組織保護の機序の一端であることが考えられた。

図 2



Yamana S, et al., *Mucosal Immunol.* 2022

図 3



Yamana S, et al., *Mucosal Immunol.* 2022

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamana Satoshi, Shibata Kensuke, Hasegawa Eiichi, Arima Mitsuru, Shimokawa Shotaro, Yawata Nobuyo, Takeda Atsunobu, Yamasaki Sho, Sonoda Koh-Hei	4. 巻 15
2. 論文標題 Mucosal-associated invariant T cells have therapeutic potential against ocular autoimmunity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mucosal Immunology	6. 最初と最後の頁 351 ~ 361
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41385-021-00469-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 長谷川英一
2. 発表標題 ぶどう膜炎における自然リンパ球の機能
3. 学会等名 第54回日本眼炎症学会
4. 発表年 2021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
研究分担者	園田 康平 (Sonoda Koh-Hei) (10294943)	九州大学・医学研究院・教授  (17102)	
研究分担者	武田 篤信 (Takeda Atsunobu) (40560313)	九州大学・医学研究院・准教授  (17102)	
研究分担者	柴田 健輔 (Shibata Kensuke) (50529972)	山口大学・大学院医学系研究科・講師  (15501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------