

機関番号：32610

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791709

研究課題名 (和文) レチノイン酸を用いた自己免疫性眼炎症疾患の抑制の試み

研究課題名 (英文) Suppressive effect of retinoid on experimental autoimmune uveoretinitis

研究代表者

慶野 博 (KEINO HIROSHI)

杏林大学・医学部・講師

研究者番号：90328211

研究成果の概要 (和文)：近年、レチノイドによる免疫調節作用が注目されている。今回、核内受容体の一種であるレチノイン酸受容体 α 、 β 、 γ を活性化する retinoic acid およびレチノイン酸受容体 α 、 β を特異的に活性化する合成レチノイド Am80 を用いてベーチェット病などの難治性ぶどう膜網膜炎の動物モデルとして知られる実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎 (EAU) を用いて retinoic acid および Am80 の炎症抑制効果を検討した。その結果、retinoic acid および合成レチノイド Am80 の投与群では基剤投与群に比べて EAU の炎症スコアの有意な低下が認められた。さらに所属リンパ節細胞を抗原で刺激し、炎症性サイトカインの産生について検討したところ retinoic acid、Am80 投与群では IFN- γ 、IL-17 の産生が有意に低下、さらに CD4 陽性 T 細胞上の IL-6 receptor (CD126) の発現が低下していることが確認された。さらに EAU の発症期に Am80 を投与したところ、EAU の発症の遅延がみられた。以上の結果よりレチノイン酸受容体はぶどう膜網膜炎の治療標的分子となる可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

Recent studies have demonstrated that retinoids suppress T cell differentiation into Th1 and Th17 cells while promoting the generation of Foxp3⁺ T regulatory cells in vitro. We examined whether retinoic acid receptor (RAR) agonist, retinoic acid and RAR- α/β specific agonist Am80 would be effective in experimental autoimmune uveoretinitis (EAU), an animal model that shares many clinical and histological features with human uveitic disorders. Administration of retinoic acid and Am80 was effective in suppressing inflammation in EAU, mainly by suppressing differentiation of Th1/Th17 effector cells. In addition, the expression of IL-6 receptor α on CD4⁺ T cells was down-regulated in retinoic acid /Am80-treated mice. Am80 treatment during the effector phase only was capable of delaying inflammation in EAU. Thus, retinoic acid and the synthetic retinoid, Am80 appears to be a promising agent for preventing and treating autoimmune uveoretinal inflammation mediated by the Th1/Th17 pathway.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 眼科学

キーワード：レチノイド受容体、自己免疫性ぶどう膜網膜炎、Th17、制御性 T 細胞

1. 研究開始当初の背景

近年、レチノイドによる免疫調節作用が注目されている。特にレチノイン酸受容体へ結合するレチノイン酸が Foxp3(+)制御性 T 細胞の誘導能を有すること、また自己免疫疾患の effector 細胞として注目されている Th17 細胞の誘導を抑制することなどが報告されている。これらの結果から Th17 を主体とした自己免疫疾患に対するレチノイドの臨床応用への可能性が指摘されていた。

2. 研究の目的

今回、我々はレチノイン酸受容体 α 、 β 、 γ を活性化する retinoic acid およびレチノイン酸受容体 α 、 β を特異的に活性化する合成レチノイド Am80 を用いてベーチェット病などの難治性ぶどう膜網膜炎の動物モデルとして知られる実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎 (EAU) を用いて retinoic acid および Am80 の炎症抑制効果を検討した。

3. 研究の方法

(1) C57BL/6 マウスにヒト IRBP ペプチドを皮下接種し EAU を誘導した。免疫日からレチノイン酸 (0.2 mg/マウス) および基剤の腹腔内投与を開始 (EAU 誘導期)、免疫後 21 日目まで隔日投与を行った。免疫後 12 日目から眼底検査を行い、両群の EAU の程度を評価した。また免疫後 21 日目に眼球を摘出し、病理組織学的に検索した。さらに所属リンパ節細胞を採取し、抗原刺激によるサイトカイン産生能について検討を行った。

(2) C57BL/6 マウスにヒト IRBP ペプチドを皮下接種し EAU を誘導した。免疫日から Am80 (3 mg/kg) および基剤の内服投与を開始 (EAU 誘導期)、免疫後 21 日目まで隔日投与を行った。免疫後 12 日目から眼底検査を行い、両群の EAU の程度を評価した。また免疫後 21 日目に眼球を摘出し、病理組織学的に検索した。さらに所属リンパ節細胞を採取し、抗原刺激によるサイトカイン産生能、リンパ球増殖反応について検討を行った。

4. 研究成果

(1) retinoic acid 投与群では基剤投与群と比較して EAU の臨床スコアの有意な低下がみられた。リンパ節細胞培養上清中の IFN- γ 、IL-17 は retinoic acid 投与群で有意に低下した。また EAU を誘導したマウスからリンパ節細胞を採取し、IRBP ペプチドで刺激培養時、retinoic acid を添加すると CD4 陽性 T 細胞上の IL-6 受容体陽性細胞数が減少した。

(2) Am80 投与群では基剤投与群と比較して EAU の臨床スコアの有意な低下がみられた。リンパ節細胞培養上清中の IFN- γ 、IL-17 は Am80 投与群で有意に低下したが、リンパ球増殖反応は有意な低下はみられなかった。また EAU を誘導したマウスからリンパ節細胞を採取し、IRBP ペプチドで刺激培養時 Am80 を添加すると CD4 陽性 T 細胞上の IL-6 受容体陽性細胞数が減少した。さらに網膜抗原特異的 T 細胞の誘導後に Am80 を投与 (EAU の発症期のみ投与) して EAU の軽症化がみられるか検討したところ、EAU の発症は遅延したが免疫後 21 日目の時点では基剤投与群と比較して臨床スコアの有意な差は認めなかった。

以上の結果より、EAU の誘導期に retinoic acid および Am80 を投与することにより EAU の軽症化が誘導された。レチノイン酸受容体がぶどう膜網膜炎の治療標的分子となる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件)

①Taki W, Keino H, Watanabe T, Nakashima C, Okada AA. Interferon- γ Release

Assay in Tuberculous Scleritis Arch Ophthalmol 129: 368-371, 2011. 査読あり

②Nakashima C, Keino H, Watanabe T, Taki W, Okada AA.

Intravitreal bevacizumab for iris metastasis of small-cell lung carcinoma with neovascular glaucoma. Jpn J Ophthalmol 50: 80-81, 2011 査読あり

③Keino H, Watanabe T, Sato Y, Okada, AA. Oral Administration of Retinoic Acid Receptor- α / β -Specific Ligand Am80 Suppresses Experimental Autoimmune Uveoretinitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 52:1548-1556, 2010. 査読有

④Sugita S, Horie S, Yamada Y, Keino H, Usui Y, Takeuchi M, Mochizuki M Suppression of bystander T helper 1 cells by iris pigment epithelium-inducing regulatory T cells via negative costimulatory signals.

Invest Ophthalmol Vis Sci 51: 2529-2536, 2010. 査読あり

⑤Levinson RD, Okada AA, Ashouri E, Keino H, Rajalingam R.

Killer cell immunoglobulin-like receptor gene-cluster 3DS1-2DL5-2DS1-2DS5 predisposes susceptibility to Vogt-Koyanagi-Harada syndrome in Japanese

individuals." Hum Immunol 71: 192-194, 2010. 査読あり

⑥Keino H, Watanabe T, Taki W, Nakashima C, Okada AA.

Clinical features and visual outcomes of Japanese patients with scleritis." Br J Ophthalmol 94: 1459-1463, 2010. 査読あり

⑦Keino H, Watanabe T, Sato Y, Okada AA. Anti-inflammatory effect of retinoic acid on experimental autoimmune uveoretinitis." Br J Ophthalmol 94: 802-807, 2010. 査読あり

⑧Keino H, Usui Y, Oh-I K, Usui M, Goto H. Correlation between cerebrospinal fluid cell count and cerebrospinal fluid level of chemokine, monokine induced by interferon-gamma in Vogt-Koyanagi-Harada disease." Acta Ophthalmol 88: e30-31, 2010. 査読あり

⑨慶野博、岡田アナベルあやめ
ベーチェット病におけるぶどう膜網膜炎の活動性の評価法

リウマチ科 43:620-628, 2010.

⑩慶野博 強膜炎の薬物療法
眼科 金原出版 52: 1167-1176, 2010.

⑪慶野博 平成21年度日本眼科学会学術奨励賞 受賞論文総説

低分子 NF- κ B 阻害剤を用いた実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎の抑制機構 日本眼科学会雑誌 114:994-954, 2010. 査読あり

⑫Keino H, Nakashima C, Watanabe T, Taki W, Hayakawa R, Sugitani A, Okada AA.

Frequency and clinical features of intraocular inflammation in Tokyo Clin Experiment Ophthalmol 37:595-601, 2009. 査読あり

⑬Vega JL, Keino H, Masli S. Surgical denervation of ocular sympathetic afferents decreases local transforming growth factor-beta and abolishes immune privilege Am J Pathol 175:1218-25, 2009. 査読あり

⑭Okada AA, Keino H, Watanabe T, Taki W, Hayakawa R.

Recurrence of acute anterior inflammation after intravitreal injection of bevacizumab in uveitis

Jpn J Ophthalmol 53:182-4, 2009. 査読あり

⑮Watanabe T, Keino H, Sato Y, Kudo A, Kawakami H, Okada AA.

High mobility Group Box Protein 1 in experimental autoimmune uveoretinitis Invest Ophthalmol Vis Sci 50:2283-90, 2009.

査読あり

⑯慶野博: 特集 ぶどう膜炎アップデート

4. ベーチェット病に対するインフリキシマブ療法 眼科 51:873-80, 2009.

[学会発表] (計20件)

①慶野博: Therapeutic effect of Therapeutic effect of potent IL-12/IL-23 inhibitor, STA-5326 on an experimental autoimmune uveoretinitis

平成21年度日本眼科学会学術奨励賞受賞講演. 第114回日本眼科学会総会, 名古屋, 平成22年4月17日

②慶野博、Ralph Levinson、Raja Rajalingam、岡田アナベルあやめ: Vogt-小柳-原田病とKIR 遺伝子多型 第114回日本眼科学会総会, 名古屋, 平成22年4月17日

③佐藤康彦、慶野博、梅沢一夫、岡田アナベルあやめ: 培養ヒト網膜色素上皮細胞に対する dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) の抗炎症効果 第114回日本眼科学会総会, 名古屋, 平成22年4月17日

④Keino H, Watanabe H, Sato Y & Okada AA: Oral administration of retinoic acid receptor-a/b specific ligand, Am80 suppresses experimental autoimmune uveoretinitis Federation of Clinical Immunology Societies (FOCIS) Boston Jun.24-27, 2010

⑤慶野博、佐藤康彦、首藤紘一、岡田アナベルあやめ: 合成レチノイド AM80 による実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎の軽症化 第44回日本眼炎症学会, 東京, 平成22年7月8日-9日

⑥渡邊交世、慶野博、井上真、吉野啓、岡田アナベルあやめ: 結核性ぶどう膜炎の合併が疑われた眼内悪性リンパ腫の1例 第44回日本眼炎症学会, 東京, 平成22年7月8日-9日

⑦慶野博、Ralph Levinson、Raja Rajalingam、岡田アナベルあやめ: Vogt-小柳-原田病とKIR 遺伝子多型

第114回日本眼科学会総会 学術展示優秀賞受賞講演 第64回日本臨床眼科学会, 神戸, 平成22年11月11-14日

⑧慶野博、渡邊交世、瀧和歌子、伊東真知子、岡田アナベルあやめ ベーチェット病網膜ぶどう膜炎に対するインフリキシマブ長期投与の有効性 第64回日本臨床眼科学会, 神戸, 平成22年11月11-14日

⑨中山真紀子、慶野博、渡邊交世、井上真、平形明人、岡田アナベルあやめ

Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) 病における脈絡膜厚の経時的評価第64回日本臨床眼科学会, 神戸, 平成22年11月11-14日

[図書] (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

慶野 博 (KEINO HIROSHI)

杏林大学・医学部・講師

研究者番号：90328211

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：