

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月 31日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591244

研究課題名（和文） 制御性T細胞とTh17細胞を標的とした慢性移植片対宿主病治療の
開発研究課題名（英文） Synthetic Retinoid Am80 Ameliorates Chronic Graft-Versus-Host
Disease by Downregulating Th1 and Th17

研究代表者

前田 嘉信 (MAEDA YOSHINOBU)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：60403474

研究成果の概要（和文）：同種造血幹細胞移植は、白血病など血液悪性疾患に治癒をもたらす治療法として確立しているが、移植片対宿主病（GVHD）は致死性の合併症として今日なお克服すべき最大の課題である。本研究ではまず、慢性 GVHD 発症マウスモデルを用いて体内の T 細胞を解析したところ、従来考えられていた Th2 細胞に加えて Th1 細胞および Th17 細胞が移植後後期に増加していることが明らかとなった。さらに血清中の Th1 および Th17 サイトカインが増加している、IFN- γ / IL-17 ノックアウトマウスの移植後に慢性 GVHD が軽減することから Th1 および Th17 細胞が慢性 GVHD 発症に関与していることが強く示唆された。最後に合成レチノイドである Am80 は、Th1・Th17 への分化抑制作用をもち、移植後に投与することで慢性 GVHD が抑制されることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Chronic GVHD (cGVHD) is a main cause of late death and morbidity after allogeneic hematopoietic cell transplantation, but its pathogenesis remains unclear. We investigated the roles of Th subsets in cGVHD with the use of a well-defined mouse model of cGVHD. In this model, development of cGVHD was associated with up-regulated Th1, Th2, and Th17 responses. Th1 and Th2 responses were up-regulated early after BM transplantation, followed by a subsequent up-regulation of Th17 cells. Infusion of IFN- γ (-/-) or IL-17(-/-) T cells attenuated cGVHD in the skin and salivary glands. Am80, a potent synthetic retinoid, regulated both Th1 and Th17 responses as well as TGF- β expression in the skin, resulting in an attenuation of cutaneous cGVHD. These results suggest that Th1 and Th17 contribute to the development of cGVHD and that targeting Th1 and Th17 may therefore represent a promising therapeutic strategy for preventing and treating cGVHD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

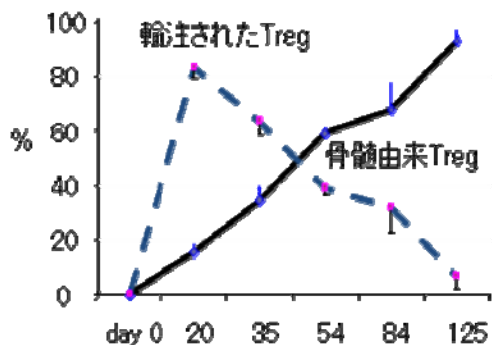
キーワード：同種造血幹細胞移植、移植片対宿主病

1. 研究開始当初の背景

同種造血幹細胞移植は、白血病など血液悪性疾患に治癒をもたらす治療法として確立しているが、移植片対宿主病 (GVHD) は致命的合併症として今日なお克服すべき最大の課題である。GVHD は移植後早期に発症する急性型と、後期に自己免疫様の症状で発症する慢性 GVHD に大別される。急性 GVHD に比べ慢性 GVHD に関しては、その基礎的研究が遅れており病態解明と治療法開発は急務となっている。

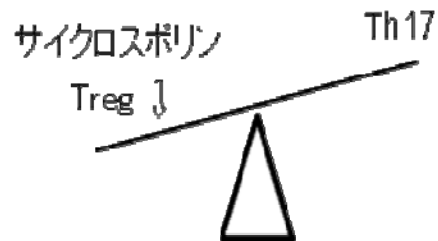
近年、Th1、Th2 細胞に続く第三の免疫担当細胞として Th17 細胞の概念が提唱され、Th17 細胞が産生する IL-17 と自己免疫疾患との関連が注目されている。Th17 細胞は IL-6 と TGF- β によって誘導されるのに対し、IL-6 は Treg の誘導を阻害する。また、Th17 細胞は Treg により抑制され、両者は相反の関係にあると考えられる。我々は、まずマウス造血幹細胞移植モデルで、体内の Treg 動態を検討した結果、驚くべきことに、1) 移植片中の Treg は一旦、宿主体内で増加 (homeostatic expansion) したのち減少し続け、移植後 120 日前後には消失すること、代わって移植後期はドナー骨髄から新たに分化した Treg が主体であることが明らかとなった。この結果から、移植片中の Treg では慢性 GVHD を抑制することはできず、骨髄から新たな Treg を誘導することの重要性が示唆された。

現在の GVHD 予防の中心であるシクロスポリンは、IL-2 の産生を障害しアロ応答性 T 細胞の活性化を阻止する。しかし、Treg にも IL-2 刺激が必須であること、シクロスポリンには胸腺障害作用が報告されていることから、我々はシクロスポリンが新規 Treg による長期の免疫寛容の再構築を妨げていると仮説した。そこで移植後にシクロスポリンを投与する群としない群を比較した結果、投与群の胸腺および末梢の Treg の再構築が著しく低下していることが明らかとなった。



m-TOR(mammalian target for rapamycin)は、マクロライド系抗生物質ラパマイシンの標的分子として同定されたセリン・スレオニンキナーゼであるが、細胞の分裂や成長、生存における調節因子としての役割を果たしている。m-TOR の阻害剤は、IL-2 産生への直接的な抑制効果や胸腺障害作用がないことから、我々はこの新たな免疫抑制剤がその作用機序の点から新規 Treg による長期の免疫寛容再構築を阻害しないと仮説するに至った。

一方、Th17 細胞は Treg により抑制され両者は相反の関係にあること、慢性 GVHD が自己免疫疾患に類似した臨床像を呈すること、慢性 GVHD 発症患者では TGF- β 、IL-6 が上昇しておりこれらのサイトカインに Th17 細胞の誘導能があることから、Th17 細胞が慢



性 GVHD に関与していると仮説した。そこで我々は、マウス慢性 GVHD モデルにおいて、発症時のリンパ節から採取した細胞を調べたところ、慢性 GVHD 発症マウスがコントロールに比べ優位に IL-17 陽性細胞が多く、IL-17 産生能も高いという結果が得られた。以上から、慢性 GVHD は新規 Treg による免疫寛容の再構築が不十分であることと合わせ Th17 細胞が増加する状態「Treg/Th17 バランスの崩れ」が発症に関与している可能性が考えられた。

2. 研究の目的

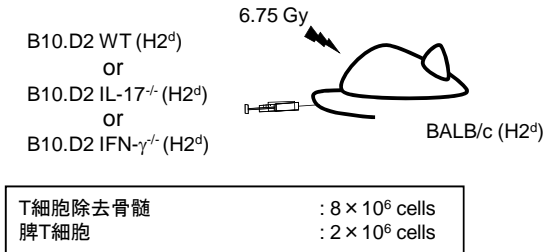
本研究ではまず、慢性 GVHD 発症マウスモデルを用いて体内の T 細胞を解析する。次に、IL-17 欠損マウスによって慢性 GVHD 発症が抑制されるかを検討し慢性 GVHD への Th17 細胞の関与を直接的に証明する。最後に、慢性 GVHD に対する抗 IL-17 抗体の治療効果を明らかにすることを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

IFN- γ ノックアウトマウス、IL-17 ノックアウトマウスによって慢性 GVHD 発症が抑制されること、さらに抗 IL-17 抗体による治療

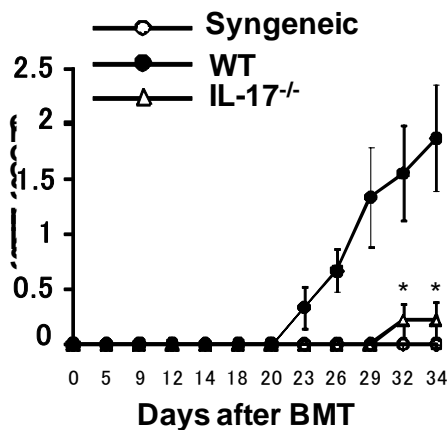
効果を明らかにする。

- 1) シクロスポリンと m-TOR 阻害剤のドナー骨髄幹細胞由来 Treg に与える影響の比較
- 2) 骨髄幹細胞由来 Treg 再構築が慢性 GVHD 発症に与える影響の検討
- 3) Th17 細胞による慢性 GVHD への関与の検討

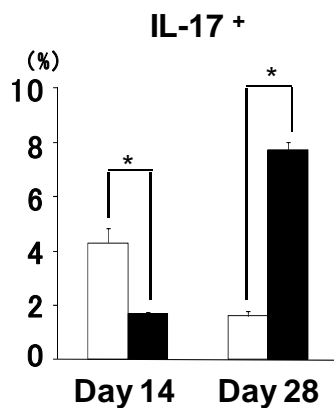


4. 研究成果

(1) 本研究においてはマウス同種移植モデルを使い、まずシクロスポリンが新規 Treg による長期の免疫寛容再構築を阻害するのに対し、m-TOR 阻害剤は阻害しないことを明らかにし、慢性 GVHD 予防法として m-TOR 阻害剤が有用であることを明らかにした。

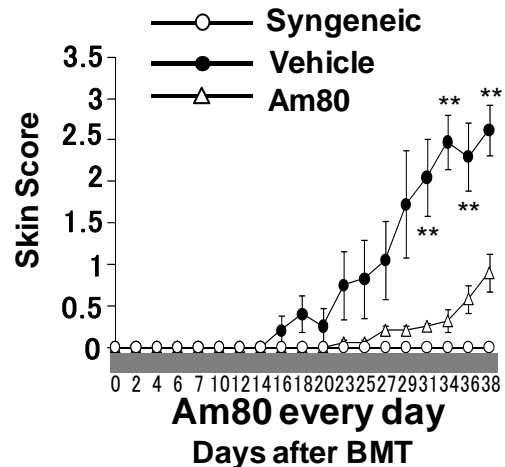


(2) 次に、慢性 GVHD 発症マウスモデルを用いて体内の T 細胞を解析したところ、従来考えられていた Th2 細胞に加えて Th1 細胞



および Th17 細胞が移植後後期に増加し、慢性 GVHD の標的臓器である肝臓や肺に浸潤していることが明らかとなった。

(3) さらに血清中の Th1(IFN- γ)および Th17(IL-17)サイトカインが増加していること、および IFN- γ ノックアウトマウス、IL-17ノックアウトマウスの移植後に慢性 GVHD が軽減することから Th1 および Th17 細胞が慢性 GVHD 発症に関与していることが強く示唆された。



(4) 最後に合成レチノイドである Am80 は、Th1・Th17 への分化抑制作用をもち、移植後に投与することで慢性 GVHD が抑制されることが明らかとなった。

(5) 本研究により Th1・Th17 細胞が慢性 GVHD 発症に関与すること、Am80 が Th1・Th17 細胞の抑制を介して慢性 GVHD を改善することが明らかとなった。本研究の結果により、慢性 GVHD 発症の新たなメカニズムが解明されたとともに、これまでステロイド以外に有効な治療法がなかった慢性 GVHD に対し、Am80 は全く新たな作用機序をもつ薬剤として臨床応用される道が開かれた。

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 1 件)
Nishimori H, Maeda Y et al. Synthetic Retinoid Am80 Ameliorates Chronic Graft-Versus-Host Disease by Downregulating Th1 and Th17. 査読有 Blood. 2012; 119(1):285-95

[学会発表] (計 1 件)
Nishimori H, Maeda Y et al. Donor Th17

and Th1 Contribute to Chronic
Graft-Versus-Host Disease. ASH Annual
Meeting Orland, USA 2010/12/6

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田 嘉信 (MAEDA YOSHINOBU)
岡山大学・岡山大学病院・助教
研究者番号：60403474

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

谷本光音 (TANIMOTO MITSUNE)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科 教授
研究者番号：10240805