

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09538

研究課題名(和文) S1P受容体アンタゴニストとIL-2・抗IL-2免疫複合体による関節リウマチ治療

研究課題名(英文) Therapy of rheumatoid arthritis by S1P receptor antagonisit and IL-2/IL-2 antibody immune complex

研究代表者

佐野 統 (SANO, HAJIME)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：00196304

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：マウス関節炎に対するIL-2IC(免疫複合体)の有効性を調べた。免疫後IL-2ICを21-23日目に投与した。早期効果を見るには免疫後0-2日後迄IL-2ICを投与した。CIAマウスの関節炎発症の頻度と炎症の程度はどちらの実験でも抑制された。IL-2ICはコントロールより血中の制御性T細胞(Treg)を2倍に増やし滑膜へのTh1とTh17の浸潤を抑制した。IL-2IC処置した脾臓でCD4+T細胞によるIL-10産生が4倍増強した。IFN- γ 産生Th1とTh17産生ヘルパーT細胞(Th17)は有意に減少した。IL-2ICはTregを誘導しIL-10産生を増強することでTreg機能を増強させる。

研究成果の概要(英文)：To determine the effect of IL-2IC on established CIA, IL-2IC was administered for 3days from day 21 to day 23 after first immunization of CIA. To define effect of IL-2 IC on early stages of diseases induction we administrated IL-2IC from day 0-2 after immunization. We observed a significant decrease in both the induction the incidence and severity of arthritis in CIA mice. Injection of IL-2IC effectively elicited more than 2-fold expansion of CD4+CD25+Foxp3+ Tregs in peripheral blood cells than control mice. Th1 and Th17 cells infiltrations in the synovium were significantly inhibited by IL-2IC treatment. Intracellular cytokine staining revealed that IL-10 production by CD4+ cells in IL-2IC treated spleen increased four folds than in controls, and IFN-producing helper T cells (Th1) and Th17 producing helper T cells (Th17) were significantly decreased. These observations induces that IL-2IC not only induce Tregs, but also augments Treg function by enhancing IL-10 production .

研究分野：リウマチ学

キーワード：関節リウマチ IL-2 免疫複合体 制御性T細胞 IL-10 Th1 Th17 CIAマウス

1. 研究開始当初の背景:

誘導性Treg (iTreg) はT細胞受容体の刺激が無くても、IL-2が存在すれば増殖可能である。IL-2-抗IL-2抗体免疫複合体 (IL-2IC) は、IL-2に比べ血中半減期が長く、Tregを効率的に増殖させる。我々はIL-2ICによるCollagen-induced arthritis (CIA)の制御について報告している。胸腺内で分化する内在性制御性T細胞 (nTreg) のみならず、ナイーブ細胞からIL-2により誘導される誘導性Treg (iTreg)も免疫反応の制御に重要であることが明らかになっている。

2. 研究の目的:

スフィンゴシン 1 リン酸 (S1P)が関節リウマチ (RA)の病態 (血管新生、炎症惹起、滑膜増殖)に密接に関与し、S1P受容体アンタゴニスト (FTY720; フィンゴリモド)が末梢血自己反応性T細胞を減少させ、関節炎を制御できることを明らかにする。しかし、S1P受容体アンタゴニストによる単独治療の臨床効果は不十分であると考えている。

3. 研究の方法:

DBA/1 マウスにⅡ型コラーゲンと Complete Adjuvant Freund をエマルジョンにして尾根部に皮下注射し一次免疫を行う。一次免疫 21 日後に、Ⅱ型コラーゲンと Incomplete Adjuvant Freund を同様にエマルジョンにして皮下注射し二次免疫を行い、関節炎を誘導した。マウス recombinant IL-2 (1 µg) と抗マウス IL-2 抗体 (JES-6.1:5 µg) を 15 分間試験管内で反応させ、IL-2IC を作成した。IL-2IC の投与は一次免疫後投与する群と二次免疫後に投与する群に分け、3 日間連続腹腔内投与を行った。IL-2IC

投与による治療効果は関節腫脹スコア並びに病理組織学的に評価した。細胞内サイトカインはリンパ節と脾臓から調整した細胞を染色し、FACS で解析した。

4. 研究成果:

IL-2IC 投与 1 週間後の末梢血中の CD4+CD25+Foxp3+Treg の割合は、コントロール PBS 投与群の約 2 倍に増加した。関節腫脹スコアは IL-2IC を一次免疫後投与した群、二次免疫後投与した群、いずれにおいても、PBS 群と比較して優位に抑制され。また、病理組織学的所見でも、IL-2IC 群で有意に関節組織へのリンパ球浸潤が抑制され、IL-6 や TNF 等の炎症性サイトカインも抑制されていた。脾臓及びリンパ節の Treg 細胞数と Treg の IL-10 発現は、IL-2IC 投与により有意に増加していた。また、脾臓 CD4+T 細胞の IFN- γ 、IL-17 の発現は IL-2IC 投与により減少していた。CIA において、IL-2IC は関節炎を抑制した。その作用機序として IL-2IC により Treg 細胞数のみならず、Treg 活性も増強し、CIA において Th1 と Th17 を抑制し、CIA における関節炎を抑制することが考えられる。

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)

1. Matsui K, Sano H. T helper 17 cells in primary Sjögren's Syndrome. J Clin Med 2017; 6: 65. 査読有
2. Shibasaki S, Karasaki M, Aburaya S, Morisaka H, Takeda Y, Aoki W, Kitano S, Kitano M, Ueda M, Sano H, Iwasaki

T. A comparative proteomics study of a synovial cell line stimulated with TNF-. FEBS Openbio 2016 ; 6 : 418-24
査読有

〔学会発表〕(計9件)

1. Yokoyama Y, Iwasaki T, Kitano S, Furukawa T, Satake A, Matsui K, Sano H. IC-2IC suppresses CIA in mice by the Th1/Th17 immune responses due to enhancement of both Treg numbers and Treg functions. The Annual European Congress of Rheumatology., 2017

2. 横山雄一, 岩崎 剛, 北野幸恵, 古川哲也, 松井 聖, 佐野 統. IL-2-抗 IL-2 抗体免疫複合体によるモデルマウス関節炎抑制と抑制性 T 細胞増強効果の検討. 第 61 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2017

3. 横山雄一, 岩崎 剛, 北野幸恵, 古川哲也, 松井 聖, 佐野 統. 抗 IL-2 抗体複合体による関節炎モデル治療のメカニズム. 第 38 回日本炎症・再生医学会, 2017

4 . Yokoyama Y, Iwasaki T, Kitano S, Furukawa T, Satake A, Moriya N, Matsui K, Sano H. Involvement of regulatory T cells and microRNAs in regulation of collagen-induced arthritis in mice treated with IL-2 /anti-IL-2 immune complexes. The 13th International Workshop on Autoantibodies and Autoimmunity (IWAA2016) 2016.10 Kyoto

5 . Yokoyama Y, Iwasaki T, Satake A, Shibasaki S, Karasaki M, Moriya N, Kitano S, Matsui K, Sano H. Involvement of regulatory T cells and microRNAs in regulation of collagen-induced arthritis

in mice treated with IL-2/anti-IL-2 immune complexes. The Annual European Congress of Rheumatology (EULAR2016) 2016. June ; London, England

6 . 横山雄一, 岩崎 剛, 北野幸恵, 古川哲也, 松井 聖, 佐野 統. IL-2-抗 IL-2 抗体免疫複合体による関節リウマチ治療の検討. 第 60 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (JCR2016) 2016.4 横浜

7 . 横山雄一, 岩崎 剛, 古川哲也, 関口昌弘, 東 直人, 北野将康, 角田慎一郎, 松井 聖, 佐野 統. IL-2-抗 IL-2 抗体免疫複合体による関節リウマチの治療. 第 43 回日本臨床免疫学会総会 . 2015.10 神戸

8 . 横山雄一, 岩崎 剛, 北野幸恵, 古川哲也, 関口昌弘, 東 直人, 北野将康, 角田慎一郎, 松井 聖, 佐野 統. IL-2-抗 IL-2 抗体免疫複合体による関節リウマチの治療. 第 80 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 . 2015.7 東京

9 . Iwasaki T, Yokoyama Y, Kitano S, Satake Ai, Matsui K, Sano H. Paradoxical effects of interleukin-2/anti-interleukin-2 monoclonal antibody immune complex on collagen-induced arthritis. The Annual European Congress of Rheumatology (EULAR2015) . 2015.6 Roma

〔図書〕(計2件)

1. 東 直人, 佐野 統.
感染性関節炎. 矢崎義雄 総編集. 朝倉内科学第 11 版. 東京: 朝倉書店, 2017 : 1287-8

2. 北野将康, 関口昌弘, 佐野 統.
リゾリン脂質と免疫制御 - 基礎から応用

ヘ - スフィンゴシン1 リン酸. 炎症と
免疫 . 2015 ; 23 : 78-82.

(3) 連携研究者
()

研究者番号 :

[産業財産権]

(4) 研究協力者
()

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究代表者 :

佐野 統 (Sano, Hajime)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 00196304

(2) 研究分担者 :

岩崎 剛 (IWASAKI, Tsuyoshi)

兵庫医療大学・薬学部・教授

研究者番号 : 10151721