

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 25 年 4 月 26 日現在

機関番号：10101
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22791645
 研究課題名（和文）炎症性眼疾患に対するマクロファージ遊走阻止因子 DNA ワクチンの開発
 研究課題名（英文） Development of macrophage migration inhibitory factor DNA vaccine against inflammatory ocular disease
 研究代表者
 北明 大洲（KITAMEI HIROKUNI）
 北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員
 研究者番号：90451426

研究成果の概要（和文）：

炎症性サイトカインであるマクロファージ遊走阻止因子（MIF）に着目して難治性眼炎症性疾患であるぶどう膜炎に対するワクチン開発を試みた。MIF DNA ワクチンを作成し、あらかじめマウスに接種した後、ヒト内因性ぶどう膜炎のモデルである実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎（EAU）を惹起したところ、軽症化に成功した。しかし、なかには抗体価が十分上昇しない個体が見られ、抗体誘導の効率化が今後の課題と考える。

研究成果の概要（英文）：

We made an effort to develop the vaccine against serious endogenous uveitis. First, mice received a DNA vaccine against proinflammatory cytokine, macrophage migration inhibitory factor (MIF), and then the mice were immunized to induce experimental autoimmune uveoretinitis (EAU), an animal model for human endogenous uveitis. The severity of EAU was successfully milder after vaccination than controls. However, antibody levels were not elevated enough in some subjects.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：ぶどう膜炎・MIF・ワクチン

1. 研究開始当初の背景

ぶどう膜炎（内眼炎）は、先進国においては40歳以上の中途失明原因の約10-15%を占める疾患である。その多くがベーチェット病やサルコイドーシス、炎症性腸疾患などの膠原病またはその類縁疾患に起因する。世界25カ所を調査した研究では、現在なおベーチェット病のぶどう膜炎患者の約4人に一人が失明という厳しい現実がある。これまでぶどう膜炎の治療には主として消炎鎮痛薬（ステロイド薬、NSAIDs）と免疫抑制薬が用いられてきた。しかし日常臨床では現行の治療でも重篤な視力障害に陥る例をしばしば経験する。また全身的副作用により治療を中断せざるを得ないことも多い。一方、近年実用化されてきた生物学的製剤は強力な効果を発揮するが、投与時反応や易感染性、さらには薬価が非常に高価である。より多くの患者、あるいは世界的規模での治療を考えると安全で有効、かつ安価な治療法が切望されている。

2. 研究の目的

眼は免疫学的に特殊な部位であり、脳などとともに免疫学的特権部位とされる。眼房水内には微量のマクロファージ遊走阻止因子（MIF）が含まれている。このMIFは従来マクロファージの遊走阻止機能を有することが知られていたが、抗体でノックダウンすることによりT細胞を抑制でき、ヒト内因性ぶどう膜炎の動物モデルである実験的自己免疫性ぶどう膜炎（EAU）も軽症化させる

ことが明らかになった。また実際にベーチェット病をはじめとするぶどう膜炎患者血清中でMIFは極めて高値であった。

これらの研究結果からMIFはぶどう膜炎制御のターゲットになりうると考え、MIFに対するワクチンを作成し、ぶどう膜炎に対するワクチン療法の開発を試みた。

3. 研究の方法

(1) マウスMIFのcDNAをクローニング

(2) MIF cDNAの一部を破傷風毒素で置換した変異体を作成

置換部位は第2ループ（アミノ酸32-37 GKPAQY）またはC端とした。

(3) 電気穿孔法により4週齢マウス筋肉内に遺伝子を導入（ワクチン接種）

(4) ワクチン接種6週後に血液中の抗体価を確認

(5) 視細胞間レチノイド結合蛋白由来ペプチドと結核死菌含有完全フロイドアジュバントのエマルジョン、および百日咳菌毒素でEAUを惹起

高抗体価誘導群、低抗体価誘導群、未接種群（対照群）に分け、それぞれEAUを惹起して評価した。

(6) ぶどう膜炎の重症度を経時的に観察、

21 日後に眼球を摘出して組織学的重症度を評価

(7) 別のマウスから 14 日後に所属リンパ節を摘出し、抗原特異的 T 細胞増殖反応、サイトカインプロファイルを評価

4. 研究成果

(1) マウス血中 490nm 吸光度を測定したところ、抹消血内に抗 MIF 抗体が誘導されたことが確認された。

(2) 有効な DNA ワクチンが 2 種類得られ、それぞれワクチン 1、ワクチン 2 とした (仮称)。

(3) それぞれのワクチンで高い抗体価が誘導された個体と比較的低い抗体価の個体がみられた。

(4) 高抗体価が誘導されたマウスはぶどう膜炎が有意に軽症化した。

(5) ワクチン接種群では抗原特異的 T 細胞増殖反応が有意に抑制された。

MIF は古典的分裂促進因子活性化蛋白キナーゼ (MAPK) である ERK1/2 を活性化することで、アラキドン酸カスケードからプロスタグランジン、ロイコトリエンの産生を促進し、炎症を促進させる。また、JAB1 を抑制することで NF- κ B のリン酸化を促進して炎

症を促進させる。本研究ではぶどう膜炎を惹起する抗原特異的 T 細胞増殖反応も抑制されていた。すなわち、分子メカニズムに立脚した新規ワクチンの開発により、標的分子である MIF を制御し、ぶどう膜炎軽症化を実験的に示した。

しかし、克服すべき課題が残った。本研究では約半数の個体で高抗体価が得られ、それらのマウスは、ぶどう膜炎が有意に軽症化した。しかし残る約半数は抗体価が低く、ぶどう膜炎の重症度スコアに有意差が得られなかった。

効率よく抗体を誘導する技術的な改良が必要であるが、将来ぶどう膜炎の有望な治療手段になる可能性が示されたと考えた。

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 2 件)

1. Yoshizawa C, Saito W, Hirose S, Kitamei H, Noda K, Ishida S. Photodynamic therapy combined with intravitreal bevacizumab and sub-tenon triamcinolone acetonide injections for age-related macular degeneration. Jpn J Ophthalmol. 2013 Jan;57(1):68-73 査読有

doi: 10.1007/s10384-012-0206-8

2. Kitamei H, Namba K, Kitaichi N, Wakayama A, Ohno S, Ishida S. Chickenpox

chorioretinitis with retinal exudates and
periphlebitis. Case Report Ophthalmol.
2012; 3:180-184 査読有
doi: 10.1159/000339128

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北明 大洲 (KITAMEI HIROKUNI)
北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員
研究者番号：90451426

(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：