慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	T-bet upregulation and subsequent interleukin 12 stimulation are essential for induction of Th1 mediated immunopathology in Crohn's disease
Sub Title	T-betの発現上昇とその後のinterleukin-12刺激が、クローン病におけるTh1細胞による免疫学的な病態の誘導に必須である
Author	松岡, 克善
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.6-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0006

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

T-bet upregulation and subsequent interleukin 12 stimulation are essential for induction of Th1 mediated immunopathology in Crohn's disease

(T-betの発現上昇とその後のinterleukin-12刺激が、クローン病における Th1細胞による免疫学的な病態の誘導に必須である)

松　岡　　克　善

内容の要旨

［背景］

クローン病（CD）の腸管局所では、interferon（IFN）-γ産生に特徴づけられるT helper cell type 1（Th1）型反応が惹起されている。naïve T細胞からTh1細胞への分化のmaster switchとして転写因子T-box expressed in T cells（T-bet）が同定・報告された。

［目的］

CDの病態形成におけるT-betの役割を明らかとすることを目的とした。

［材料・方法］

(1) 外科切除された腸粘膜よりEDTA-collagenase-Percoll法により腸粘膜内リンパ球（lamina propria mononuclear cell；LPMC）を分離した。

(2) 比重遠心法で末梢血リンパ球（peripheral blood mononuclear cell；PBMC）を分離した。

(3) LPMCおよびPBMCよりCD4+細胞を磁気ビーズ法で分離した。

(4) CD・潰瘍性大腸炎（UC）・正常コントロール（NL）より分離したCD4+LPMCにおけるT-bet mRNA転写量を定量的RT-PCR法にて測定した。また、T-bet蛋白の発現をWestern blotting法にて検討した。

(5) LPMCの培養上清中のIFN-γおよびinterleukin（IL）-12濃度を測定した。

(6) LPMCをIL-12，18で刺激し、T-bet発現および培養上清中のIFN-γ濃度を検討した。

(7) CD4+PBMCを抗CD3/CD28抗体で刺激し、1）培養上清中のIFN-γ濃度、2）T-bet発現、3）IL-12受容体β2鎖の発現について検討した。

［結果］

(1) CDから分離したCD4+LPMCにおいて、UC・NLと比較してT-bet mRNA転写量・蛋白発現量ともに有意に増加していた。

(2) CDのLPMCにおいて、UC・NLと比較してIFN-γおよびIL-12の産生量が有意に増加していた。

(3) CDより分離したLPMCはIL-12およびIL-18刺激によりIFN-γ産生が亢進したが、T-betの発現量に変化はなかった。

(4) CD4+PBMCでは抗CD3抗体刺激によりT-betが発現した。T-betの発現とともにPBMCはIFN-γを産生するようになり、またIL-12受容体β2鎖を発現し、IL-12によるさらなるIFN-γ産生亢進に感受性となった。

［結論］

CDの腸管局所では、T細胞は抗原刺激によってT-betを発現しTh1細胞への分化を開始、その後樹状細胞・マクロファージからのIL-12/IL-18刺激により、さらに強固なTh1反応が誘導され、腸管炎症が惹起されていると考えられた。

論文審査の要旨

腸管の慢性肉芽腫性炎症性疾患であるクローン病の腸管局所ではinterferon（IFN）-γ産生に特徴づけられるT helper cell type 1（Th1）優位の免疫反応が惹起されている。クローン病におけるTh1細胞の誘導にはinterleukin（IL）-12, IL-18といった樹状細胞・マクロファージから分泌されるサイトカインの重要性が報告されているが、転写因子レベルでの制御機構については明らかにされていない。本研究では、Th1特異的な転写因子であるT-box expressed in T cells（T-bet）がクローン病の腸管局所のCD4陽性細胞で発現が亢進していること、またT-betが抗原刺激によって誘導されること、T-betが誘導された後にIL-12受容体が発現しIL-12によるIFN-γ産生亢進に対して感受性になることを示した。以上の結果よりT-betがクローン病の腸管局所でのTh1細胞誘導に関与している可能性が示唆された。

審査では、先ずT-betの機能はマウスでは詳細に分析されていることを踏まえて、本研究の新規性について質問があり、ヒトの検体を用いて詳細にクローン病におけるT-betの関与を検討した点が本研究の新規性であると回答された。また、本研究中でIL-12＋IL-18によるTh1細胞誘導の亢進が示されているが、IL-18単独ではTh2細胞を誘導するとの報告があり、その点に関する検討も行うべきであるとの指摘がなされた。次に、クローン病の中でもT-bet発現量に幅があることから薬剤や疾患活動度による影響はないのか、という点に関して議論となった。手術標本を用いるため臨床背景を揃えることは困難であったが、薬剤・採取部位・炎症の程度についてはT-bet発現量とは有意な相関は認めなかったと回答され、それに対して組織学的な炎症像とT-bet発現についても検討すべきであるとの指摘がなされた。さらに、T-betのクローン病の治療標的としての可能性についての言及がなされ、T-betは転写因子であるのでsiRNAによる抑制が新たな治療法として考えられるとの回答があった。最後に、今回の結果より考えられるクローン病の病因について議論がなされた。T-betの発現を誘導しているのは、樹状細胞・マクロファージなどの抗原提示細胞であること、近年報告されたクローン病の疾患感受性遺伝子は全てマクロファージに関連した遺伝子であることより、食餌抗原や細胞内寄生菌を適切に処理できず樹状細胞・マクロファージが異常に活性化されることが病態の根幹である可能性が高いとの回答がなされた。

以上、本研究は今後さらに検討すべき課題を残しているが、クローン病のTh1細胞誘導機構における転写因子レベルでの制御機構の一端を明らかにした点で有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　内科学　日比　紀文

医化学　末松　　誠　微生物学・免疫学　小安　重夫

外科学　北島　政樹

学力確認担当者：

審査委員長：末松　誠

試問日：平成17年 7月26日