

氏名	常賀
学位	博士(医学)
学位記番号	新大院博(医)第156号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Hydrodynamic-Based Delivery of an Interleukin-22-Ig Fusion Gene Ameliorates Experimental Autoimmune Myocarditis in Rats (ハイドロダイナミクス法によるインターロイキン 22-Ig 融合遺伝子導入はラット実験的自己免疫性心筋炎を改善する)
論文審査委員	主査 教授 安保 徹 副査 教授 相澤 義房 副査 教授 内藤 眞

#### 博士論文の要旨

【はじめに】 IL-22 は IL-10 と 22% のアミノ酸が類似しており、その受容体は、IL-22 受容体と IL-10 受容体  $\beta$  のヘテロダイマーからなる。IL-22 はこのように IL-10 との類似性を示すが、その作用は、まだ不明な点が多く、よくわかっていない。以前申請者らは、ラットの自己免疫性心筋炎モデル(EAM)に対して IL-10、IL-13 など Th2 サイトカインが奏功すると報告してきたが、この新しいサイトカインである IL-22 の作用は不明である。そこで申請者は、IL-22 が EAM に対して治療効果を有するか、その産生細胞と標的細胞は何か、またその機序はどのようなものであるかについて検討した。

【対象と方法】 第 0 日にブタ心筋ミオシンで免疫し、治療群に第 1 日目あるいは 6 日目に pCAGGS-IL-22-Ig をハイドロダイナミクス法にて遺伝子導入し、pCAGGS-Ig を遺伝子導入したコントロール群と比較検討した。また、標的細胞を同定するために、第 18 日目の EAM の心臓からランゲンドルフ還流装置下にコラゲナーゼ処理して分離し、金属ふるいと適当な抗体、マグネットビーズ抗体を用いて精製した細胞群で、IL-22 関連蛋白の遺伝子発現を定量的 RT-PCR にて検索した。さらに、IL-22 の作用を調べるために、治療群の血清あるいは IL-22 を EAM の心臓から得られた培養細胞に加え、免疫関連蛋白の mRNA と蛋白の変化を検討した。

【成績と考案】 第 1 日目と第 6 日目に遺伝子導入した群とも、治療群で有意に心体重比、心筋炎面積率の減少がみられ、IL-22 は EAM に対して効果があると考えられた。IL-22 の産生細胞は  $\alpha\beta$  T 細胞であり、IL-22 受容体と IL-10 受容体  $\beta$  の高い発現が見られた。標的細胞と考えられる細胞は、むしろ炎症細胞群ではなく、非心筋非炎症性細胞であった。EAM 心臓から得られた IL-1 で刺激された培養細胞では、治療群の血清あるいは IL-22 によって、PGE 合成酵素、Cox-2、MIP-2、MCP-1、IL-6、CINC-2 の遺伝子発現および蛋白の産生が有意に抑制された。

IL-22 作用については、最近様々な報告がなされている。今回申請者らの EAM と同様に、T 細胞依存性のマウス肝炎モデルでは、IL-22 は肝炎を改善させたと報告されている。しかし、逆に、関節リウマチでは、IL-22 は synovial fibroblast の MCP-1 の産生をうながし、proinflammatory cytokine としての役割があるのではないかとの報告もある。また、IL-22 は、組織における自然免疫を促進する作用があるとの報告もあり、作用については未だによくわかっていない。このように IL-22 の作用については、その標的細胞の種類やその細胞の活性化状態によって異なる可能性があり、今後さらなる検討が必要であると考えられる。今回申請者は、in vitro の検討で、IL-1 で刺激した非心筋非炎症性細胞に対する IL-22 の作用を検討した。以前申請者らは、EAM の心臓局所で、CD11b+細胞が多くの IL-1 を産生しており、非心筋非炎症性細胞は IL-1 受容体をもつ IL-1 の標的細胞でもあると報告した。IL-22 の標的細胞でもある非心筋非炎症性細胞は、in vivo においては CD11b+細胞が産生する IL-1 の刺激を受け、かつ  $\alpha$   $\beta$  T 細胞の産生する IL-22 の影響を受けているものと思われる。また、CINC、MIP-2、MCP-1 などのケモカインも fibroblast などで IL-1 や TNF- $\alpha$  によって産生増強されるのはよく知られており、IL-22 はこれらを抑制することによって、治療効果がもたらすことが期待される。以前、申請者らは、EAM 心臓中の IL-10 や IL-10 受容体の遺伝子発現解析から、IL-10 産生細胞は主に非心筋非炎症性細胞で、IL-10 の標的細胞は主に  $\alpha$   $\beta$  T 細胞や CD11b+細胞などであると報告した。このようなことから、IL-22 は類似していると言われる IL-10 とは、産生細胞や標的細胞はかなり異なっていると考えられる。一方、今回 IL-22 で EAM が抑えられたという事実は、IL-22 の作用する非心筋非炎症性細胞が、EAM において重要な役割を果たす可能性を示している。自己免疫疾患における非心筋非炎症性細胞の重要性は、今後更に検討すべき課題と考えられる。

**【結論】** IL-22 には EAM の抑制効果があり、その機序には IL-1 で刺激された非心筋非炎症性細胞での PGE 合成酵素、Cox-2、MIP-2、MCP-1、IL-6、CINC-2 の抑制が考えられた。

(論文審査の要旨)

IL-22 は IL-10 と 22% のアミノ酸が類似し、その受容体は、IL-22 受容体と IL-10 受容体  $\beta$  のヘテロダイマーからなるが、IL-22 の作用については不明点が多い。ブタ心筋ミオシンで免疫し実験自己免疫性心筋炎 (EAM) を作成し、pCAGGS-IL-22-Ig をハイドロダイナミクス法にて遺伝子導入し、pCAGGS-Ig を導入したコントロールと比較検討した。

第 1 日目と第 6 日目に遺伝子導入を行うと、IL-22 治療群で有意に心体重比、心筋炎面積率の減少がみられ、EAM は改善した。IL-22 の産生細胞は  $\alpha$   $\beta$  T 細胞であり、標的細胞は非心筋非炎症性細胞であることを確認した。EAM 心臓から得られた IL-1 で刺激された培養細胞では、治療群の血清あるいは IL-22 の添加によって、PGE 合成酵素、Cox-2、MIP-2、MCP-1、IL-6、CINC-2 の遺伝子発現および蛋白の産生が有意に抑制された。

以上、IL-22 の EAM の抑制効果を認め、その機序に IL-1 で刺激された非心筋非炎症性細胞での PGE 合成酵素などサイトカインの産生抑制が考えられた。これらの点を明らかにした点に、学位論文としての価値を認める。