

学位論文題名

The effect of angiotensin type 1 receptor antagonist on animal models of uveitis

(ぶどう膜炎動物モデルを用いた
アンジオテンシンタイプ1受容体拮抗薬の効果に関する研究)

学位論文内容の要旨

[背景と目的]

ぶどう膜炎とは、虹彩、毛様体、脈絡膜におきる炎症の総称で、治療にはステロイドや免疫抑制剤が用いられているが、現在でも時に失明をもたらす疾患である。ぶどう膜炎の動物モデルとしては、急性前部ぶどう膜炎のモデルとしてエンドトキシン誘発性ぶどう膜炎 (Endotoxin-induced uveitis: EIU)、比較的慢性に経過し、網膜等、主に後眼部の炎症を起こすモデルとして、実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎 (Experimental autoimmune uveoretinitis: EAU) がある。

アンジオテンシン II (Angiotensin II, Ang II) は、腎臓の傍糸球体細胞で産生されるレニンにより活性化され、血管収縮作用を持ち、強い昇圧作用をもつことが知られているが、最近、抗炎症反応においても重要な役割を果たすことが注目されている。このレニン-アンジオテンシンシステムを阻害する薬剤として、アンジオテンシンタイプ1受容体拮抗薬が高血圧治療薬として一般に使用されている。しかし、これらが同時に筋炎、腸炎、関節炎といった炎症反応に対して抑制効果を示すことが、幾つか報告されている。本研究では選択的アンジオテンシンタイプ1受容体拮抗薬であるロサルタンを用いて、EIU、EAU に対する治療効果を検討した。

[方法]

7週齢のルイスラットに lipopolysaccharide (LPS) 200 μ g を皮下注射し、EIU を誘導した。また、LPS 投与と同時にロサルタン 1 mg/kg, 又は 10 mg/kg を静脈内注射した。LPS 投与 24 時間後に前房水を採取し、浸潤細胞数、タンパク濃度、tumor necrosis factor (TNF)- α 濃度、monocyte chemoattractant protein (MCP)-1、transforming growth factor (TGF)- β 濃度を測定した。また LPS 投与 24 時間後、3 時間後に眼球を摘出し、H&E 染色、nuclear factor (NF)- κ B に対するモノクローナル抗体を用いた免疫染色を行い、これらの組織像を比較検討した。

EAU モデルでは、6-8 週齢の C57BL/6 マウスを用い、視細胞間レチノイド結合タンパク

(interphotoreceptor retinoid binding protein: IRBP)由来ペプチドを完全フロイントアジュバントに懸濁、皮下投与しぶどう膜炎を誘導した。追加アジュバントとして百日咳菌毒素も投与した。ぶどう膜炎の臨床スコアは3-4日毎に観察し、比較検討した。また免疫10日後に所属リンパ節を採取し、抗原特異的T細胞増殖反応とサイトカイン産生を比較検討した。

[結果]

EIUを誘導したラットの前房水中の炎症細胞数は、非治療群と比較し、ロサルタン投与群で有意に減少していた($p < 0.01$)。また、前房水中のタンパク、TNF α 、MCP-1、TGF- β 1濃度も非投与群と比較し、ロサルタン投与群で濃度依存的に抑制がみられた($p < 0.01$)。次にLPS投与3時間後に眼球を摘出し、免疫染色を行い、NF- κ B陽性細胞数をロサルタン投与群と非投与群で比較したところ、ロサルタン投与群で有意にNF- κ B陽性細胞数の減少が見られた($p < 0.01$)。

一方EAUモデルにおいては、ロサルタン投与群と非投与群で、臨床スコアにはほとんど差は見られず、IRBP特異的T細胞増殖反応、培養上清中のTNF- α 濃度にも差は認められなかった。

[考察]

ロサルタンは、EIUにおいて前房水中の炎症細胞数、タンパク濃度、炎症性サイトカイン、ケモカイン濃度を有意に抑制し、また虹彩、毛様体においてNF- κ B経路を抑制し、抗炎症作用を示した。一方EAUにおいて、ロサルタン投与は、T細胞増殖反応、サイトカイン産生のいずれにも影響を及ぼさなかった。ロサルタンは細胞接着分子の発現を抑制することが今までに報告されており、EIUにおける本実験の抗炎症効果には、炎症細胞浸潤の抑制が関与したと考えられた。一方、T細胞の抗原特異的増殖反応はロサルタン投与で抑制されず、T細胞を介する自己免疫反応であるEAUに対しては、ロサルタンは影響を与えないと考えられた。

[結論]

レニン-アンジオテンシンシステムは目の急性炎症反応に深く関与しており、この阻害は急性前部ぶどう膜炎治療に有効であることが示された。接着分子の抑制などこれらの阻害効果の分子メカニズムについては今後の研究が必要と考えられた。いずれにしても本研究において明らかにしたアンジオテンシンタイプ1受容体阻害薬の抗炎症作用から、今後これらが新たな治療法の一つとして応用されることが期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 大 野 重 昭
副 査 教 授 小 野 江 和 則
副 査 教 授 上 出 利 光

学 位 論 文 題 名

The effect of angiotensin type 1 receptor antagonist on animal models of uveitis

(ぶどう膜炎動物モデルを用いた

アンジオテンシンタイプ1受容体拮抗薬の効果に関する研究)

ぶどう膜炎とは、虹彩、毛様体、脈絡膜におきる炎症の総称で、治療にはステロイド薬や免疫抑制薬が用いられているが、現在でも時に失明をもたらす疾患である。ぶどう膜炎の動物モデルとしては、急性前部ぶどう膜炎のモデルとしてエンドトキシン誘発ぶどう膜炎 (Endotoxin-induced uveitis: EIU)、比較的慢性に経過し、網膜等、主に後眼部の炎症を起こすモデルとして、実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎 (Experimental autoimmune uveoretinitis: EAU) がある。アンジオテンシン II(AII)は、腎臓の傍糸球体細胞で産生されるレニンにより活性化され、血管収縮作用を持ち、強い昇圧作用をもつことが知られているが、最近、抗炎症反応においても重要な役割を果たすことが注目されている。このレニン-アンジオテンシンシステム (RAS) を阻害する薬剤として、アンジオテンシンタイプ1受容体拮抗薬 (ARB) が高血圧治療薬として一般に使用されている。しかし、これらが同時に筋炎、腸炎、関節炎といった炎症反応に対して抑制効果を示すことが、幾つか報告されている。本研究では選択的アンジオテンシンタイプ1受容体拮抗薬であるロサルタンを用いて、EIU、EAU に対する治療効果を検討した。

その結果、ロサルタンは、EIU において前房水中の炎症細胞数、タンパク濃度、炎症性サイトカイン、ケモカイン濃度を有意に抑制し、また虹彩、毛様体において NF- κ B 経路を抑制し、抗炎症作用を示した。一方 EAU において、ロサルタン投与は、T 細胞増殖反応、サイトカイン産生のいずれにも影響を及ぼさなかった。ロサルタンは細胞接着分子の発現を抑制することが今までに報告されており、EIU における本実験の抗炎症効果には、炎症細胞浸潤の抑制が関与したと考えられた。一方、T 細胞の抗原特異的増殖反応はロサルタン投与で抑制されず、T 細胞を介する自己免疫反応である EAU に対しては、ロサルタンは影響を与えないと考えられた。

レニン-アンジオテンシンシステムは目の急性炎症反応に深く関与しており、この阻害は急性前部ぶどう膜炎治療に有効であることが示された。本研究において明らかにしたア

ンジオテンシンタイプ1受容体阻害薬の抗炎症作用から、今後これらが新たな治療法の一つとして応用されることが期待される。

公開発表にあたってはまず副査の上出利光教授から、RASには循環系と組織系があるが、局所的なRASが関係しているのかとの質問があり、虹彩毛様体にAT1受容体が存在し、EIUの網膜でも発現上昇が報告されており、局所的なRASが関与していると考えていると回答した。次に、動脈硬化にはT細胞が関与しており、ARBが動脈硬化の予防に効果があったとの報告があるが、今回のT細胞を介する自己免疫疾患であるEAUにも効果があるのではないか、EAUモデルの炎症レベルを弱めると効くのではないかと、についての質問があった。EIUとEAUのモデルの違い、また今回の実験における投与方法の違いについて説明し、T細胞に影響を与えるかどうかについてさらに調べるにあたり必要な実験について回答した。

次いで副査の小野江和則教授から、EAUとTh17の関与についての質問があり、今までの報告を引用し、Th17との関連はあるがそれだけですべて説明できるものではなく、病態の形成にはTh17とTh1と両方の関与が考えられると回答した。次にEAUにおいてロサルタンはきちんと投与されているのか、降圧などの作用が実際出ているのかとの質問があり、マウスにおいて血圧測定は行っていないと回答した。次にEIUにおいて示されたNF- κ B陽性細胞はどんな細胞かとの質問に対しては、LPS刺激に対して反応し、流入したマクロファージの可能性はあるが、それだけではなく、虹彩毛様体に存在するAT1受容体の存在の報告からも、虹彩毛様体の細胞自体がNF- κ B陽性細胞ではないかと考えていると回答した。また、ロサルタンの効果は*in vitro*で確認したのかとの質問に対しては、自身で*in vitro*では確認していないが、論文を引用して今までの*in vitro*での結果を回答した。

次いで主査の大野重昭教授から、いくつかあるARBのうちロサルタンを選んだ理由を質問され、ARBのうち最も早くに開発され臨床応用が開始されたため、長い間安全に使用されてきた実績があることと、他のARBにはない抗炎症作用機序が報告されている点を述べた。次にロサルタンの投与量はどのように決めたのかという問いがあり、自己免疫疾患動物モデルにARBを投与し、効果のあった論文について回答した。今後ヒトに対して使用するに当たり局所投与への応用の可能性はあるかという問いに対しては、今回示した実験データからも、内服だけでなく、局所投与で、濃度を上げて使用することが望ましいと考えられ、点眼治療への応用が期待されると回答した。

この論文は、EIU、EAUにおけるRASの関与について明らかにし、EIUにおいてその阻害による治療効果を報告した点で高く評価され、今後、RASを阻害する薬剤を使用したぶどう膜炎に対する治療応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。