HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | 自己免疫疾患モデルにおけるTYK2の免疫薬理学的役割の研究［論文内容及び審査の要旨］ |
| Author(s) | 石崎, 雅之 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(薬科学) |
| Dissertation Number | 乙第6893号 |
| Issue Date | 2013-09-25 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/53947 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Masayuki_Ishizaki_abstract.pdf, 論文内容の要旨 |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

【論文博士　乙２】

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士 薬科学　氏 名　石 崎 雅 之

学 位 論 文 題 名

**自己免疫疾患モデルにおける TYK2 の免疫薬理学的役割の研究**

生体は環境変化に対して恒常性を維持する機能として免疫システムを持ち、その細胞間情報伝達あるいは直接的防御機能を担うのがサイトカインであり、サイトカイン受容体からの情報伝達の代表的な経路が JAK-STAT シグナル経路である。本研究では、JAK キナーゼファミリーの一つである TYK2 の免疫システムにおける役割に着目した。TYK2 は最初に発見された JAK だが、免疫系における役割は十分に研究されていなかった。しかし、2006 年に高 IgE 血症患者の中からヒト TYK2 欠損例が発見され、免疫システムの恒常性維持、特にヘルパーT (Th) 細胞による免疫系バランス制御での TYK2 の重要性が明らかになった。さらに興味深いことに、近年、様々な疾患で世界的に検討された全ゲノム関連解析では、代表的な自己免疫疾患である関節リウマチ (RA)、炎症性腸疾患 (IBD)、乾癬、多発性硬化症、全身性エリテマトーデスにおいて、TYK2 あるいは関連分子が疾患感受性遺伝子として同定されていることから、TYK2 が複雑な自己免疫疾患において共通して病態形成に関わる重要な分子であると考えた。

そこで、本研究では TYK2 が Th1 細胞ならびに Th17 細胞により誘導される自己免疫反応をコントロールする役割を担うと考え、サイトカイン産生、細胞分化ならびに病態発症での役割を $Tyk2^{-/-}$マウスを用いて解析した。

最初に、T 細胞機能への TYK2 欠損の影響を検討する目的で $Tyk2^{+/+}$、$Tyk2^{+/-}$および $Tyk2^{-/-}$マウスを用いて、*in vitro* での T 細胞機能が TYK2 欠損の影響を受けないこと、一方で TYK2 が介在する IL-12 誘導性 IFN1 産生および IL-23 誘導性 IL-17 産生に対しては必須の因子であることを明らかにした。また、$Tyk2^{-/-}$ naive $CD4^{+}$細胞が IL-12 依存的な Th1 細胞分化を抑制すること、TYK2 非依存的な IL-6+TGFβ による Th17 細胞分化には影響せず、IL-23 依存的な Th17 細胞維持・増殖の過程に関与することを明らかにした。一方、TGF 的による免疫制御性 T 細胞分化に対しては TYK2 欠損は影響を及ぼさないことを示し、TYK2 は Th1 細胞および Th17 細胞に対して選択的な影響を持つことを明らかにすることで、自己免疫疾患治療の創薬標的として魅力的なプロファイルを持つことを示唆した。さらに、TYK2 の役割を *in vivo* の遅延型過敏（DTH）反応で検討し、TYK2 が IL-12 や IL-23 を介した *in vivo* での T 細胞免疫応答にも重要であることを明らかにした。

*In vitro* での成績を踏まえ、自己免疫疾患病態の形成における TYK2 の役割を検討した。まず、代表的な自己免疫疾患である RA について、Tyk2 に自然突然変異を持った B10.Q/J マウスがコラーゲン誘導性関節炎（CIA）に発症抵抗性を示すことを明らかにした。しかし、CIA においては T 細胞が関わる関節炎発症過程での TYK2 の関与は不明だった。そこで、抗コラーゲン抗体誘導性関節炎（CAIA）を検討し、$Tyk2^{-/-}$マウスが抗体依存的な関節炎発

症に対しても抵抗性を示すことを明らかにした。またそのとき、所属リンパ節（DLN）では STAT3/STAT4 リン酸化、肢組織での IL-17 および IFNγ の mRNA 発現が Tyk2$^{-/-}$マウスでは低下し、Tyk2$^{-/-}$マウスでの CAIA 発症抑制に Th1/Th17 細胞の抑制が寄与していることを示唆した。

IBD は消化管での炎症を主徴とする原因不明の慢性炎症性疾患で、主に潰瘍性大腸炎（UC）とクローン病（CD）から成る。UD モデルである DSS 誘導性大腸炎に対し、Tyk2$^{-/-}$マウスでは疾患活動性スコアの有意な低下を認めた。また、DSS による大腸長短縮を Tyk2$^{-/-}$マウスは有意に軽減した。大腸組織では IL-12 や IL-23 など Th1/Th17 関連遺伝子の発現の低下を Tyk2$^{-/-}$マウスで認めた。また、CD モデルである TNBS 誘導性大腸炎に対しても、Tyk2$^{-/-}$マウスでは致死率を有意に改善した。以上の結果から、TYK2 が IBD においても重要な役割を持つことを示唆した。

乾癬は Th17 細胞が病態形成に中心的な役割を持つと考えられている皮膚疾患である。まず、TLR7 アゴニスト imiquimod（IMQ）塗布による IMQ 誘導性乾癬モデルを検討し、Tyk2$^{-/-}$マウスでは耳介への IMQ 塗布により誘導される耳介腫脹し、表皮肥厚ならびに好中球性炎症が軽減することを明らかにした。そのとき、耳介 DLN では Th17 細胞が有意な減少、耳介の炎症局所では Th17 サイトカインである IL-17 および IL-22 遺伝子発現が有意に低下した。IMQ 塗布により誘導される IL-23 が乾癬様病態の誘導に関わると考えられたことから、IL-23 を皮内へ投与して誘導する乾癬モデルを用いて IL-23 依存的な病態形成での TYK2 の関与を検討した。この IL-23 誘導性乾癬モデルにおいて、Tyk2$^{-/-}$マウスでは有意な耳介腫脹の抑制と Th17 サイトカイン産生の低下を認めた。さらに、IL-22 のシグナル伝達は TYK2/JAK1 が担うという点に着目し、IL-22 を投与したときの皮膚変化について検討した。IL-22 投与により誘導される耳介腫脹ならびに表皮肥厚が Tyk2$^{-/-}$マウスでは有意に軽減し、誘導されるサイトカインならびに抗菌ペプチド類の発現低下ならびにケラチノサイト増殖の低下を認めた。皮膚での主要な IL-22 受容体発現細胞はケラチノサイトであることから、ケラチノサイト細胞株 HaCaT を用いてノックダウン実験を行い、Tyk2 siRNA によって IL-22 刺激依存的な STAT3 リン酸化が抑制されることを明らかにした。さらに、TYK2 選択的キナーゼ阻害剤である tyrphostin A1 が耳介腫脹ならびに Th17 サイトカイン産生を有意に抑制することを確認し、TYK2 のキナーゼ阻害により制御可能であることを示唆した。

以上の内容から、本研究では、①TYK2 は IL-12 および IL-23 のシグナルに重要な分子であり、自己免疫疾患誘導に関わる Th1 細胞および Th17 細胞に対して選択的な影響を及ぼすこと、② RA、IBD および乾癬の疾患モデルにおいて Tyk2$^{-/-}$マウスは抵抗性を示し、炎症部位またはリンパ節では Th1 細胞、Th17 細胞、または関連分子の発現が低下すること、③ 乾癬においては、IL-22 シグナル伝達にも TYK2 が重要であること、④ TYK2 阻害剤が乾癬の病態を制御しうることを明らかにした。

以上の結果は、TYK2 機能の制御が乾癬延いては自己免疫疾患の治療に新しい選択肢を与える可能性を示している。