

難治性疾患の病態解析および新規検査法・治療法の開発

くろかわ すずき まなえ
黒川(鈴木)真奈絵

(受付:平成23年1月12日)

近年医学研究は飛躍的な発展を遂げており、ヒトゲノム解析や induced pluripotent stem (iPS) 細胞樹立など新規手法を用いて、病因解明や治療法開発が進められている。しかし未だ病因不明、或いは根治療法がない難治性疾患は多数存在しており、患者の生命予後および生活の質(quality of life, QOL)の問題より、これらの克服は急務である。筆者は免疫学、再生医学およびプロテオミクスの手法を用い、難治性疾患の複数の分野において病因・病態解明および新規検査法・治療法の確立を試みており、本稿では最近の報告を中心に紹介する。

免疫系は本来、自己を病原微生物を含む外来性の異物より防御するためのシステムであるが、免疫寛容の異常等により免疫系が誤って自己を攻撃してしまうことがある。これが自己免疫疾患であり、臓器特異的の自己免疫疾患と全身性自己免疫疾患に分けられる。この全身性自己免疫疾患に当たるのが膠原病であり、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、ベーチェット病 (Behcet's disease, BD) などが含まれる。BD の生命予後は大幅に改善されているが、現在でも腸管・中枢神経・大血管炎の三大特殊病変合併例、および眼症状合併例においては、QOL が低い場合が少なくない。筆者らは、BD の末梢血や腸管・脳脊髄液等の病変組織において Th1 に偏位した免疫応答を検出し、病因・病態への関連を報告してきた¹⁻³⁾。またこれらの結果を統括し、BD の病因・病態を考察する総説を発表した^{4,5)}。BD における Th1 反応を効果的に抑制できれば、これら重篤な合併症を含めた BD の病態を効果的に改善できる可能性がある。

炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎 (ulcerative co-

litis, UC) とクローン病 (Crohn's disease, CD) は臓器特異的の自己免疫疾患に分類されるが、実際には腸管以外の全身の臓器・組織に症状・所見が認められる。この2疾患の鑑別は難しく、従来の内視鏡検査や病理組織診断だけでは鑑別不能な症例が存在し、それらは分類不能大腸炎 (indeterminate colitis, IC) と呼ばれる。筆者らは、UC および CD の末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) で発現している蛋白質を網羅的に解析し、UC 群と CD 群を全例鑑別することができた⁶⁾。また IC の1例を同法で解析したところ UC に分類される結果を得たが、実際この例はその後の追跡にて UC と診断された。この PBMC プロテオミクス法により、UC および CD における罹病機関、活動性、腸管病変の範囲、および治療反応性を高率に予測することも可能であった。今後、症例数を増やした基礎的解析を経て、臨床における実用化の可能性を検討していく予定である。

神経や眼の変性・損傷疾患は難治性疾患の代表例であり、脳梗塞や緑内障、角膜損傷は現代社会における重要事案である。筆者らはマウスおよびカニクイザルの胚性幹 (embryonic stem, ES) 細胞から、各々運動ニューロンのマスター遺伝子である MASH-1 導入およびレチノイン酸添加培養により誘導した神経前駆細胞を、免疫抑制したマウス損傷脳に移植したところ、当該細胞が生着し、神経ネットワークを構築しマウスの運動機能が改善したことを確認した^{7,8)}。これらの神経前駆細胞にはケモカイン受容体 CXCR4 が発現しており、マウスの脳表を損傷させると損傷部位でのみ CXCR4 の唯一のリガンドである stromal-derived factor-1 (SDF-1) が特異的に発現することを見出した⁹⁾。この細胞を免疫抑制した脳表損傷マウスの傍側脳室に移植する

と生着し、脳表損傷部へと移植細胞が移動して神経ネットワークを再構築し、マウスの運動機能が改善した。また、マウス ES 細胞に眼発生に必須の pax 6 遺伝子を導入したところ角膜上皮細胞や網膜構成細胞に特異的な分子を発現し¹⁰⁾、これを角膜損傷マウスの損傷部位に移植すると生着し角膜が再生することを確認した¹¹⁾。マウスおよびカニクイザル ES 細胞を IV 型コラーゲン上で培養し誘導した角膜前駆細胞においても角膜上皮に特異的な分子の発現を確認し、移植実験において同様の結果を得ている^{12,13)}。これらの治療法を臨床的に応用することにより、脳梗塞や緑内障、角膜損傷等の根治治療を目指していきたい。

上記のように難治性疾患の克服を目指して研究を継続しているが、臨床における実用化には、さらに数段階の基礎的および臨床研究の過程を経なければならぬ。なおこれらの研究は、免疫学・病害動物学教室の鈴木登教授、生化学教室の加藤智啓教授の御指導のもと、本学教員、研究技術員、そして大学院生、研究生の方々の御協力により論文発表を行った。この場をお借りして、心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) Nagafuchi H, Takeno M, Yoshikawa H, Kurokawa MS, Nara K, Takada E, Masuda C, Mizoguchi M, Suzuki N. Excessive expression of Txk, a member of the Tec family of tyrosine kinases, contributes to excessive Th1 cytokine production by T lymphocytes in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Immunol* 2005; 139: 363-370.
- 2) Imamura Y, Kurokawa MS, Yoshikawa H, Nara K, Takada E, Masuda C, Tsukikawa S, Ozaki S, Matsuda T, Suzuki N. Involvement of Th1 cells and heat shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behcet's disease. *Clin Exp Immunol* 2005; 139: 371-378.
- 3) 野中信宏, 池島秀明, 黒川真奈絵, 高田えりか, 中野弘雅, 大岡正道, 今村愉子, 松田隆秀, 鈴木登. 神経パーチエット病患者の病態形成における炎症性サイトカインの果たす役割. 聖マリアンナ医科大学雑誌 2006; 34: 257-67.
- 4) Kurokawa MS, Imamura Y, Noguchi Y, Hatsugai M, Tsukikawa S, Matsuda T, Suzuki N, Kato T. Intestinal Behcet's disease. *Curr Trends Immunol* 2009; 10: 79-91.
- 5) Kurokawa MS, Suzuki N. Behcet's disease. *Curr Rheum Res*, in press.
- 6) Hatsugai M, Kurokawa MS, Kouro T, Nagai K, Arito M, Masuko K, Suematsu N, Okamoto K, Itoh F, Kato T. Protein profiles of peripheral blood mononuclear cells are useful for differential diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2010; 45: 488-500.
- 7) Ikeda R, Kurokawa MS, Chiba S, Yoshikawa H, Hashimoto T, Tadokoro M, Suzuki N. Transplantation of motoneurons derived from MASH1-transfected mouse ES cells reconstitutes neural networks and improves motor function in hemiplegic mice. *Exp Neurol* 2004; 189: 280-292.
- 8) Ikeda R, Kurokawa MS, Chiba S, Yoshikawa H, Ide M, Tadokoro M, Nito S, Nakatsuji N, Kondoh Y, Nagata K, Hashimoto T, Suzuki N. Transplantation of neural cells derived from retinoic acid-treated cynomolgus monkey embryonic stem cells successfully improved motor function of hemiplegic mice with experimental brain injury *Neurobiol Dis* 2005; 20: 38-48.
- 9) Hazama Y, Kurokawa MS, Chiba S, Tadokoro M, Imai T, Kondo Y, Nakatsuji N, Suzuki T, Hashimoto T, Suzuki N. SDF-1/CXCR4 contributes to neural regeneration in hemiplegic mice with a monkey ES-cell-derived neural graft. *Inflamm Regen* 2010; 30: 193-205.
- 10) Kayama M, Kurokawa MS, Ueda Y, Ueno H, Kumagai Y, Chiba S, Takada E, Ueno S, Tadokoro M, Suzuki N. Transfection with pax 6 gene of mouse embryonic stem cells and subsequent cell cloning induced retinal neuron progenitors, including retinal ganglion cell-like cells, in vitro. *Ophthalmic Res* 2010; 43: 79-91.
- 11) Ueno H, Kurokawa MS, Kayama M, Homma R, Kumagai Y, Masuda C, Takada E, Tsubota K, Ueno S, Suzuki N. Experimental transplantation of corneal epithelium-like cells induced by Pax6 gene transfection of mouse embryonic

- stem cells. *Cornea* 2007; 26: 1220–1227.
- 12) Homma R, Yoshikawa H, Takeno M, Kurokawa MS, Masuda C, Takada E, Tsubota K, Ueno S, Suzuki N. Induction of epithelial progenitors in vitro from mouse embryonic stem cells and application for reconstruction of damaged cornea in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 4320–4326.
- 13) Kumagai Y, Kurokawa MS, Ueno H, Kayama M, Tsubota K, Nakatsuji N, Kondo Y, Ueno S, Suzuki N. Induction of corneal epithelium-like cells from cynomolgus monkey embryonic stem cells and their experimental transplantation to damaged cornea. *Cornea* 2010; 29: 432–438.