

平成 21 年度日本眼科学会学術奨励賞 受賞論文総説

低分子 NF- κ B 阻害剤を用いた
実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎の抑制機構

慶野 博

杏林大学医学部眼科学教室

要 約

Nuclear factor-kappa B (NF- κ B) は種々の炎症刺激により活性化されて核内に移行する転写因子であり、サイトカイン、ケモカイン、成長因子、接着分子などの炎症関連遺伝子群の発現を誘導する。したがって、さまざまな炎症性疾患の進展に NF- κ B が重要な役割を果たしており、この分子の制御が新たな治療へとつながることが期待される。STA-5326 は米国 Synta 社によって合成された NF- κ B 阻害剤であり、特に NF- κ B 分子の一つである c-Rel の核内移行を抑制することにより interleukin-12 (IL-12)/IL-23 p40 の発現を制御する低分子化合物である。本研究では STA-5326 を用いてヒト難治性ぶどう膜炎の動物モデルとして知られる実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (experimental autoimmune uveoretinitis: EAU) に対する有効性について検討した。EAU の発症前より STA-5326 を内服投与した群では、基剤投

与群に比較して臨床的および病理組織学的にぶどう膜炎が有意に抑制された。さらにぶどう膜炎の発症期から STA-5326 を内服投与した場合でも、同様の消炎効果が得られた。その作用機序について解析を行ったところ、EAU の発症・進展に重要なサイトカインである IL-12/23 p40 の血清濃度が STA-5326 投与群において有意に抑制されていた。以上の結果から低分子 NF- κ B 阻害剤である STA-5326 のぶどう膜炎に対する有効性が確認され、難治性ぶどう膜炎に対する新たな治療薬となる可能性が示された。(日眼会誌 114: 944-954, 2010)

キーワード：実験的自己免疫性ぶどう膜炎，サイトカイン，低分子化合物，NF- κ B，Th 17

A Review

Therapeutic Effect of the Low Molecular Weight Inhibitor of the NF- κ B Signaling Pathway on Experimental Autoimmune Uveoretinitis

Hiroshi Keino

Department of Ophthalmology, Kyorin University School of Medicine

Abstract

The nuclear factor- κ B (NF- κ B) proteins are a family of ubiquitously expressed transcriptional proteins in most immune and inflammatory responses. Understanding the precise regulation of the NF- κ B family can lead to the development of effective new drugs for the treatment of autoimmune and inflammatory disorders. STA-5326 is a low molecular weight compound developed through highthroughput IL-12/IL-23 p40 inhibitor screening. STA-5326 suppresses IL-12/23 p40 production through suppression of the NF- κ B family (c-Rel) nuclear accumulation. Experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) is an animal model that shares many clinical and histological

features with human uveitic disorders. In the current study, we investigated whether oral administration of STA-5326 is effective in influencing experimental autoimmune uveoretinitis (EAU). Clinical and histopathological analysis of our results show that oral administration of STA-5326 during the entire phase reduced the severity of EAU. Furthermore, oral administration of STA-5326 during the effector phase of EAU ameliorated the severity of inflammation. Furthermore, the serum levels of IL-12/23 p40 significantly decreased in STA-5326 treated mice. These results indicate that oral administration of STA-5326 is effective in suppressing inflammation in

別刷請求先：181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2 杏林大学医学部眼科学教室 慶野 博

(平成 22 年 3 月 4 日受付，平成 22 年 6 月 21 日改訂受理) E-mail address: keino@eye-center.org

Reprint requests to: Hiroshi Keino, M. D. Department of Ophthalmology, Kyorin University School of Medicine, 6-20-2 Shinkawa, Mitaka-shi, Tokyo 181-8611, Japan

(Received March 4, 2010 and accepted in revised form June 21, 2010)

the EAU model. The new NF- κ B inhibitor, STA-5326 represents a promising therapeutic modality for refractory uveitis in humans. Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 114 : 944—954, 2010)

Key words : Experimental autoimmune uveoretinitis (EAU), Cytokine, Low molecular weight compound, NF- κ B, Th 17

I はじめに

今日、多くの自己免疫性疾患が知られているが、その根本的な治療法は未だ確立されていない。眼科領域における Behçet 病に代表される内因性ぶどう膜炎もその一つである。これに対して近年、tumor necrosis factor (TNF)- α などの炎症性サイトカインを治療標的とした生物学的製剤が導入され、良好な治療効果が数多く報告されている¹⁾²⁾。特に 2007 年 1 月に難治性 Behçet 病網膜ぶどう膜炎に対して保険適用となった抗 TNF- α 抗体であるインフリキシマブは眼炎症発作を顕著に抑制し、Behçet 病に対する治療体系のパラダイムシフトをもたらしている。その一方で生物学的製剤の導入を行ってもすべての難治性 Behçet 病患者において十分な炎症コントロールの達成には至っておらず、また長期投与による効果減弱例や有害事象も一定の頻度で認められることから、生物学的製剤とは異なった新薬開発の需要は大きいと考えられる。

このような現状をふまえ、現在関節リウマチなどの自己免疫疾患の病態に関与する標的分子に対する低分子化合物の開発が進行している。これらの化合物は炎症性サイトカインやその受容体、細胞内のシグナル伝達分子を標的とした分子量 1 kD 以下の低分子製剤である。経口摂取が可能で、かつ費用対効果、利便性に優れており高い生物学的利用率を有していることから、今後は生物学的製剤と同等以上の有効性が期待される。

今回我々は米国 Synta 社によって発見され、nuclear factor-kappa B (NF- κ B) 分子阻害剤として知られる低分子化合物 STA-5326 を用いてヒト難治性ぶどう膜炎の動物モデルとして知られる実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (experimental autoimmune uveoretinitis, 以下 EAU) に対する有効性について評価を行い、強力な炎症抑制効果を有することが確認された³⁾。

本総説では EAU を中心としたぶどう膜炎の病態において重要な役割を担うサイトカインネットワークについて概説し、さらに STA-5326 の作用部位である NF- κ B 分子群について紹介した後、STA-5326 を用いた EAU の抑制効果についてのデータを呈示する。

II 実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (EAU) におけるサイトカインネットワーク (IL-12/IL-23 を中心として)

EAU は視細胞間レチノイド結合蛋白質 (interphoto

receptor retinoid-binding protein : IRBP) や S 抗原などの網膜由来抗原をマウスやラットなどの疾患感受性の高い動物に免疫することによって誘導される^{4)~6)}。EAU は血管炎を主体とした病理組織所見、網膜抗原に対する抗体の存在、ヘルパー T 細胞タイプ I (Th 1 細胞) 優位な免疫反応を呈するなど Behçet 病に代表されるヒトぶどう膜炎の病態にさまざまな点できわめて近似しており、ヒトぶどう膜炎の病態解明、新規治療戦略を構築するうえで非常に有用な動物モデルである⁷⁾⁸⁾。

EAU は網膜抗原特異的 T 細胞、特に interferon (IFN)- γ や interleukin (IL)-2 などを主に産生し遅延型過敏反応に関与する Th 1 細胞により惹起される (図 1)。実際に、Th 1 細胞の誘導に不可欠なサイトカインである IL-12 遺伝子欠損マウスでは EAU が発症しないことから、Th 1 細胞が EAU の病態の進行に中心的な役割を果たしていると考えられていた⁹⁾¹⁰⁾。その一方で、IFN- γ 遺伝子欠損マウスでは EAU が増悪することなどが以前から知られており、Th 1 仮説に矛盾する研究成果も呈示されていた¹¹⁾。そして現在では、EAU の病態の進行に最も重要な T 細胞は IL-17 を産生するヘルパー T 細胞 (Th 17) であると考えられている¹²⁾ (図 1)。これは Th 1 細胞やアレルギー反応に関与する Th 2 細胞に属さない別の系統に属するヘルパー T 細胞であり、転写因子として retinoic acid receptor-related orphan receptor (ROR)- γ t を発現し、IL-23 の存在下で増殖、ナイーブな T 細胞からの分化には IL-6 と transforming growth factor (TGF)- β の存在が必要となる¹³⁾。実際に Th 17 細胞の増殖・維持にかかわる IL-23 を欠損したマウスでは EAU の炎症が抑制されること、また IL-17 欠損マウスでは EAU の発症率、重症度が低下することが示され¹⁴⁾、Th 17 細胞が EAU の病態の形成・進行に重要であることが明らかとなってきた。さらに興味深いことに、図 2 のように Th 1 細胞の誘導に重要なサイトカインである IL-12 は p35 と p40、Th 17 細胞の増殖分化に重要なサイトカインである IL-23 は p19 と p40 のヘテロダイマーから構成されており、ともに p40 サブユニットを共有している¹²⁾。そして IL-12 遺伝子欠損マウスで EAU の発症が抑制されるのは p40 サブユニットの抑制効果によるものであり、これまでの矛盾が解消された。

網膜抗原を免疫することによって EAU が誘導される流れを図 3 に示す。結核菌を含んだ完全アジュバンドとともに網膜抗原をマウス皮下に接種すると、末梢リンパ節組織にて網膜抗原を取り込んだ樹状細胞が T 細胞へ

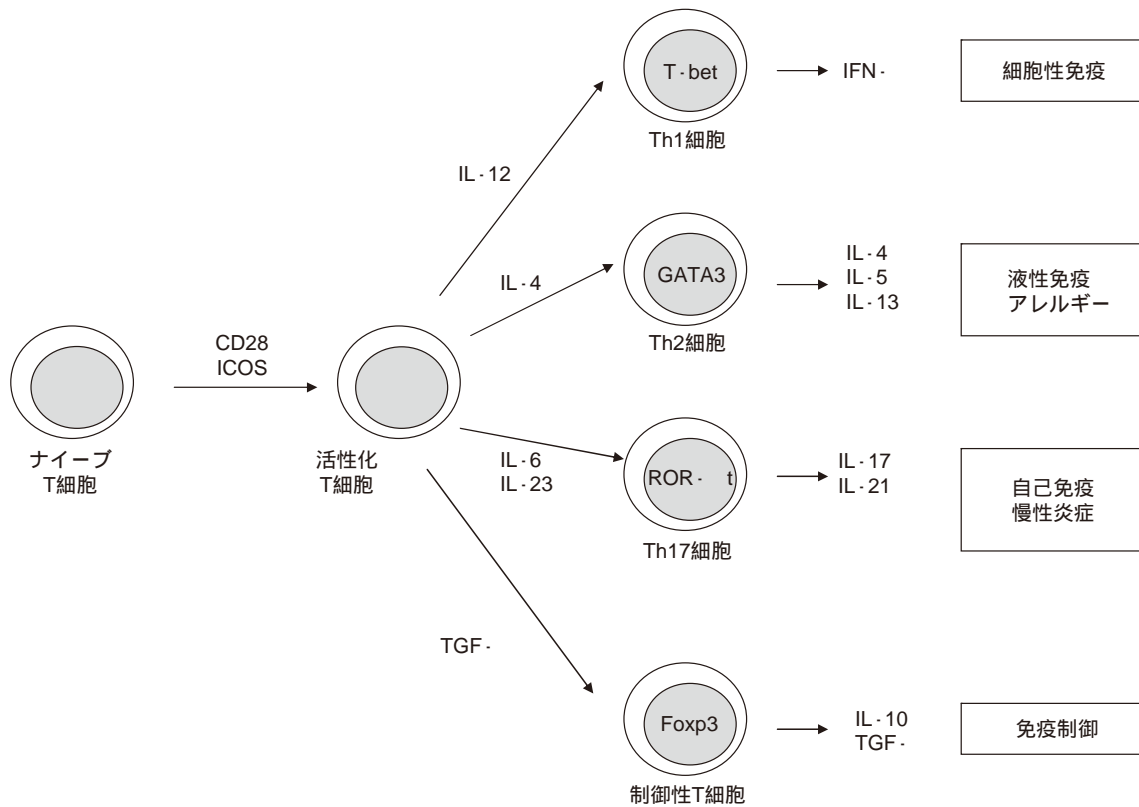


図 1 ヘルパー T 細胞 (Th) の分化経路.

T 細胞はナイーブな状態から活性化された後、interleukin (IL)-12 の存在下で主に細胞性免疫に関与する Th 1 細胞, IL-4 の存在下ではアレルギー反応にかかわる Th 2 細胞, IL-6, IL-23 の存在下では慢性炎症を誘導する Th 17 細胞, transforming growth factor (TGF)- β との培養により制御性 T 細胞へと各々分化する. 特に Th 17 細胞から産生される IL-17 は好中球の活性化や組織細胞での IL-6, tumor necrosis factor (TNF)- α などの産生を誘導し, 組織破壊を促進させる.

ICOS : inducible costimulator, T-bet : T-box-containing protein expressed in T cells, ROR- γ t : retinoic acid receptor-related orphan receptor gamma t, Foxp 3 : forkhead box p3.

と抗原提示を行い, 網膜抗原に反応する活性化 T 細胞を誘導する¹²⁾. これら活性化 T 細胞は上記の炎症性サイトカイン (IL-6, IL-12, IL-23) の存在下で各々 Th 1 細胞, Th 17 細胞へと分化した後, 眼内組織 (網膜, 脈絡膜) へと浸潤する. 特に Th 17 細胞から産生される IL-17 は好中球の活性化や組織細胞からの IL-6 の産生を誘導する¹⁵⁾. これら Th 1, Th 17 細胞の effector 作用による眼内バリアー機構の破綻, 接着分子やケモカインの発現が上昇することで抗原非特異的な炎症性細胞である好中球やマクローファージもさらに浸潤し組織破壊を促進する^{16)~18)}. 一方で, 炎症反応を制御するために胸腺由来の制御性 T 細胞 (natural T regulatory cells : n T regs), または脾臓にて誘導された制御性 T 細胞 (induced T regulatory cells : induced T regs) が存在し, EAU を誘導, 促進させる炎症細胞に対して抑制的に作用することで眼炎症がコントロールされると考えられる^{19)~22)}.

最近のヒトぶどう膜炎に関する報告では, 眼炎症発作期の Behçet 病患者において血清中の IL-23 が寛解期に比較して上昇していること²³⁾, また Vogt-小柳-原田病患者から採取した CD 4 陽性 T 細胞からの IL-17 産生が

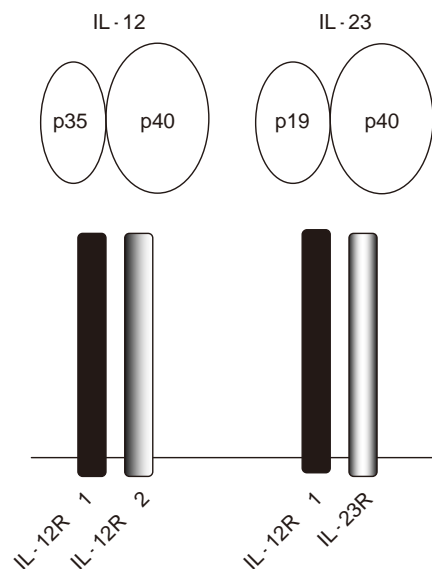


図 2 IL-12 と IL-23 の構成分子と受容体.

Th 1 細胞の誘導に重要なサイトカインである IL-12 は p 35 と p40, Th 17 細胞の増殖分化に重要なサイトカインである IL-23 は p40 と p19 のヘテロダイマーから構成されており, とともに p40 サブユニットを共有している.

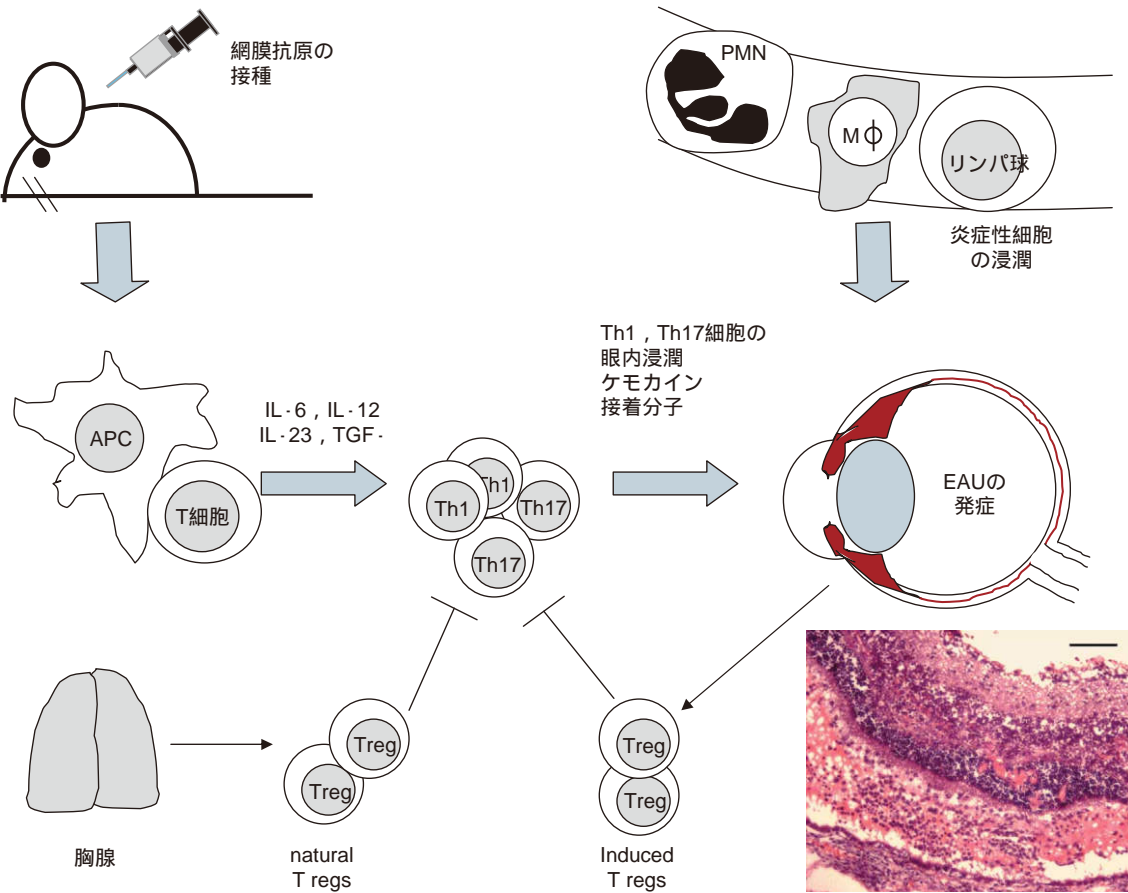


図 3 実験的ぶどう膜網膜炎の発症機構。

網膜抗原をマウス皮下に接種すると、末梢リンパ節組織にて網膜抗原を取り込んだ樹状細胞 (antigen presenting cells : APC) が T 細胞へと抗原提示を行い、網膜抗原に反応する活性化 T 細胞を誘導する。これら活性化 T 細胞は炎症性サイトカイン (IL-6, IL-12, IL-23) の存在下で各々 Th 1 細胞, Th 17 細胞へと分化し、眼内組織 (網膜, 脈絡膜) に浸潤する。Th 1, Th 17 細胞の effector 作用によって眼内バリアー機構が破綻, さらに接着分子やケモカインの発現が上昇し, 抗原非特異的な炎症性細胞である多形核白血球 (PMN) やマクロファージ (Mφ) も浸潤し組織破壊を促進する。一方で, 炎症反応を制御するために胸腺由来の制御性 T 細胞 (natural T regulatory cells : n T regs), または脾臓にて誘導された制御性 T 細胞 (induced T regulatory cells : induced T regs) が存在し, EAU を誘導, 促進させる炎症性細胞に対して抑制的に作用することで眼炎症がコントロールされると考えられる。

(文献 12 より許可を得て転載)

亢進していること²⁴⁾, さらに活動性ぶどう膜炎, 強膜炎患者の末梢血単核球中の IL-17 の発現が健常人に比べて上昇していることなどが報告されており²⁵⁾, IL-23/IL-17 を軸とした炎症性サイトカインがヒトのぶどう膜炎, 強膜炎においても関与している可能性が示唆されている。

III NF- κ B family

NF- κ B は種々の炎症刺激により活性化されて核内に移行する転写因子であり, サイトカイン, ケモカイン, 成長因子, 接着分子などの炎症関連遺伝子群の発現を誘導する²⁶⁾。NF- κ B は 5 つの分子 (p65, Rel-B, c-Rel, p50/p105, p52/p100) から構成される²⁷⁾。これらの分子は各々ヘテロダイマーやホモダイマーを形成するが, その中でも p65/p50 のヘテロダイマーは主要な NF- κ B 転

写因子である。通常未刺激の状態では, NF- κ B 転写因子は NF- κ B inhibitor (I- κ B) と結合することにより細胞質内に留まり核内への移行が抑制されている。細胞に TNF- α や IL-1 β などのサイトカインの刺激が加わると三量体からなる I- κ B kinase (IKK) が活性化される。活性化された IKK によって I- κ B のリン酸化, ユビキチン化が進行し, それにより I- κ B が分解され, I- κ B より遊離した NF- κ B (p65/p50) が核内へと移行して DNA 上の κ B 部位へと結合する²⁸⁾。その結果, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α などのサイトカイン, RANTES (regulated on activation, normal, T cell expressed, and secreted) などのケモカイン, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), E-selectin などの接着分子, 抗アポトーシス因子 (Bcl-2, Bcl-XL) の転写が活性化される²⁹⁾。さらに最近では, 癌や白血病においても NF- κ B が恒常

的に活性化されていることが報告されており³⁰⁾、転写因子 NF- κ B の作用は炎症、免疫、悪性腫瘍など生体内のさまざまな病態において重要な役割を担っている。

IV NF- κ B 転写因子 c-Rel と IL-12/IL-23 とのかかわり

c-Rel は上記のように NF- κ B 転写因子を構成する分子の一つである。Sanjabi らはマクロファージを用いた実験系で c-Rel が IL-12 の構成分子の一つである p40 遺伝子 (図 4) の発現誘導に必須の分子であることを報告した³¹⁾。また、Carmody らは樹状細胞を用いて c-Rel が IL-23 の構成分子である p19 の発現を制御していることを明らかにした³²⁾。さらに多発性硬化症、I 型糖尿病、関節リウマチなどの動物モデルを用いた実験系において c-Rel を欠損させたマウス (c-Rel KO マウス) では、これらの自己免疫病が発症しないことも報告されている^{33)~35)}。c-Rel の特徴の一つとして、その発現が造血細胞に限定されているため c-Rel のブロックングを行っても、造血細胞以外の組織に対する毒性が低い点が挙げられる³⁶⁾。以上の知見より、c-Rel の発現が IL-12/IL-23 を中心とする炎症性サイトカインの産生を促進させ自己免疫疾患の発症に関与することから c-Rel を標的分子とした新たな治療戦略の発展が期待されている。

V STA-5326 とは？

「EAU におけるサイトカインネットワーク」の項で述べたように、さまざまな自己免疫疾患の病態の進行に Th1 細胞、Th17 細胞が関与しており、これら effector 細胞の分化・増殖には IL-12/IL-23 分子の発現が必須となる。実際に IL-12/IL-23 を標的分子とした生物学的製剤 (抗 IL-12/23 p40 抗体) が乾癬や Crohn 病に臨床応用され、高い有効性が示されている³⁷⁾³⁸⁾。これらの報告を踏まえ、米国マサチューセッツ州に拠点を置く Synta 社は従来の生物学的製剤 (抗体製剤) を用いずに IL-12/IL-23 の発現を選択的に制御できる新規低分子化合物の探索を進めていた。彼らは IL-12/IL-23 の選択的阻害薬の探索のためヒト末梢血単核球 (PBMC) を用いて interferon (IFN)- γ と lipopolysaccharide (LPS) で刺激培養する際に 8 万種の低分子合成物質を添加して PBMC から IL-12 p40 産生を抑制する化合物のスクリーニングを行い、その結果、STA-5326 (図 5) が選択された³⁹⁾。STA-5326 は 1, 3, 5-triazine 系の低分子化合物である。Synta 社の Wada らは PBMC を用いて STA-5326 が IL-12 p40 の産生を選択的に抑制し、その他のサイトカイン (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, IL-18) の産生能には影響しないこと、STA-5326 が NF- κ B 転写因子の一つである c-Rel に特異的に作用し、c-Rel の核内移行を阻害すること、さらに STA-5326 を内服投与することによって Th1 細胞がその病態の進行に重要な役割を果た

す自己免疫性腸炎マウス (Crohn 病の動物モデル) の疾患活動性を抑制できることを報告した³⁹⁾⁴⁰⁾。これらの実験結果を踏まえ、今回我々は IL-12/IL-23 が病態の進行に重要な役割を果たす EAU における STA-5326 の有効性について検討を行った。

VI STA-5326 を用いた実験的ぶどう膜網膜炎の抑制機構

1. STA-5326 投与による血清中の IL-12/IL-23 濃度の抑制効果

最初に STA-5326 の投与によるマウスへの影響を評価するために網膜抗原 (本研究では human interphotoreceptor retinoid-binding protein 合成ペプチド: hIRBP peptide を使用) を免疫し、14 日目まで週 6 回、連日で内服投与を行った。投与量については Wada らの報告を参考にし、高用量群 (20 mg/kg)、低用量群 (5 mg/kg) の 2 群を設定した³⁹⁾。その結果、高用量、低用量の両群ともに基剤投与群と比較して有意な体重の変動は認められなかった (図 6)。

上述したように STA-5326 はヒト末梢血単核球を用いた *in vitro* の実験系において IFN- γ 刺激による IL-12/23 p40 の産生を抑制することが報告されている³⁹⁾。また、IL-12/IL-23 は EAU の発症と進展に重要とされる Th1 細胞および Th17 細胞の誘導に必須のサイトカインであることが知られている¹²⁾。そこで EAU を誘導したマウスに STA-5326 を内服投与し、血清中の IL-12/23 p40 濃度に変動があるか検討を行った。その結果、STA-5326 投与群では、基剤群に比べて IL-12/23 p40 の濃度が有意に低下していた (図 7)。この結果から、STA-5326 が *in vitro* だけでなくマウスの生体内においても IL-12/IL-23 の産生抑制能を有することが明らかとなった。

2. STA-5326 投与による EAU の抑制効果

次に我々は STA-5326 が実際に難治性ぶどう膜炎の動物モデルである EAU において臨床的、病理組織学的に炎症抑制効果を有するか検討を行った。EAU を誘導するために hIRBP peptide をマウス皮下に接種、免疫後 14 日目まで週 6 回、連日で内服投与 (高用量群: 20 mg/kg、低用量群: 5 mg/kg) を行い、免疫後 14 日目と 18 日目に散瞳下で眼底検査を施行し網膜炎をスコア化した⁴¹⁾。さらに 18 日目の眼底検査後に屠殺し、眼球を摘出、組織標本を作成し、病理組織学的な検討も行った。その結果、図 8 A に示すように STA-5326 投与群では基剤群に比べて免疫後 14 日目、18 日目の両日で臨床スコアの有意な低下が確認された。さらに病理組織標本をみると、基剤群では血管炎、硝子体中や網膜内、網膜下への炎症細胞の浸潤、さらに網膜組織の folding などがみられるのに対して、STA-5326 投与群では軽度の血管炎や細胞浸潤があるものの、網膜の層構造は比較的保たれ

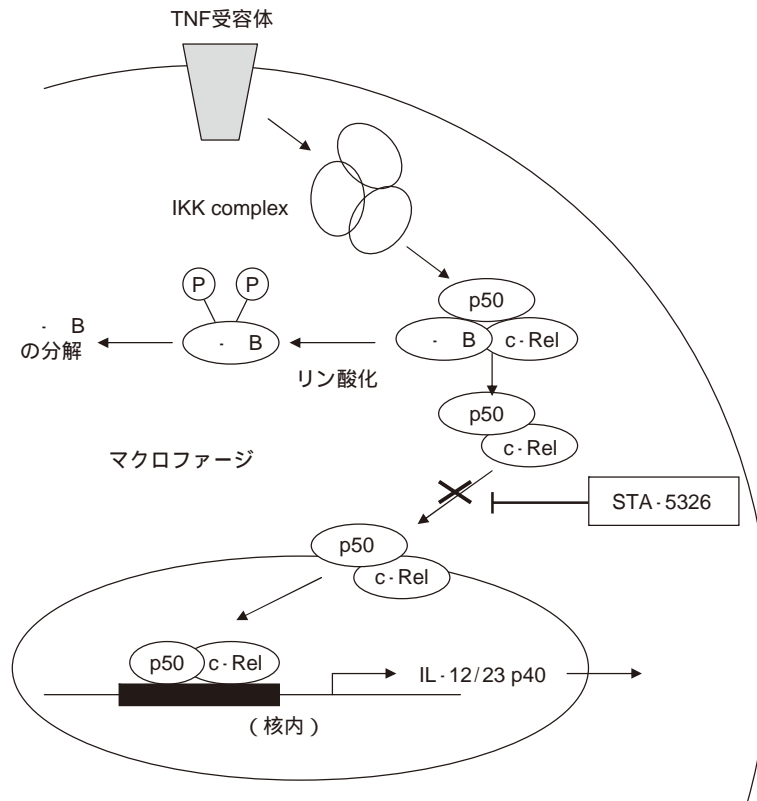
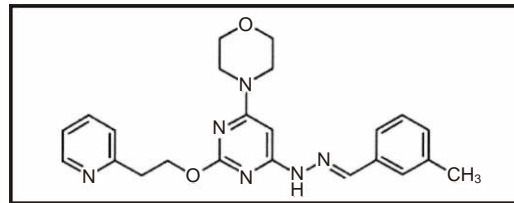
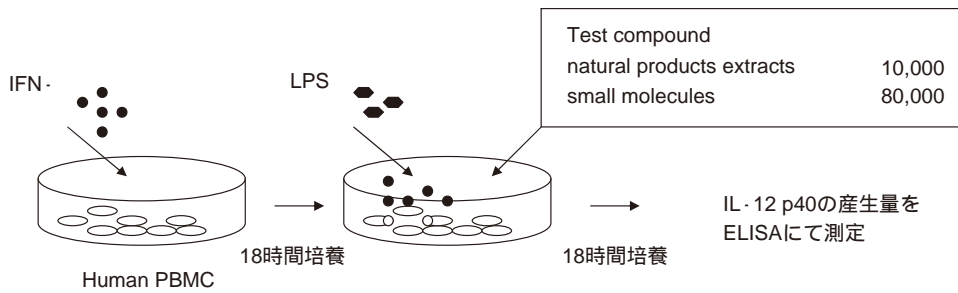


図 4 NF-κB (p50/c-Rel) の活性化経路.

細胞に TNF-α などのサイトカインの刺激が加わると三量体からなる I-κB kinase (IKK) が活性化される。活性化された IKK によって I-κB のリン酸化、ユビキチン化が進行し、それにより I-κB が分解され NF-κB (p50/c-Rel) から解離することにより NF-κB (p50/c-Rel) が核内へと移行して DNA 上の κB 部位へと結合する。その結果、IL-12/23 p40 の転写が開始される。STA-5326 は p50/c-Rel の核内移行を選択的に阻害する。



STA-5326

図 5 低分子阻害剤のスクリーニング法.

ヒト末梢血単核球 (PBMC) を用いて interferon (IFN)-γ と lipopolysaccharide (LPS) で刺激培養する際に 8 万種の低分子合成物質を添加して PBMC からの IL-12 p40 産生抑制能を有する化合物として STA-5326 が選択された。

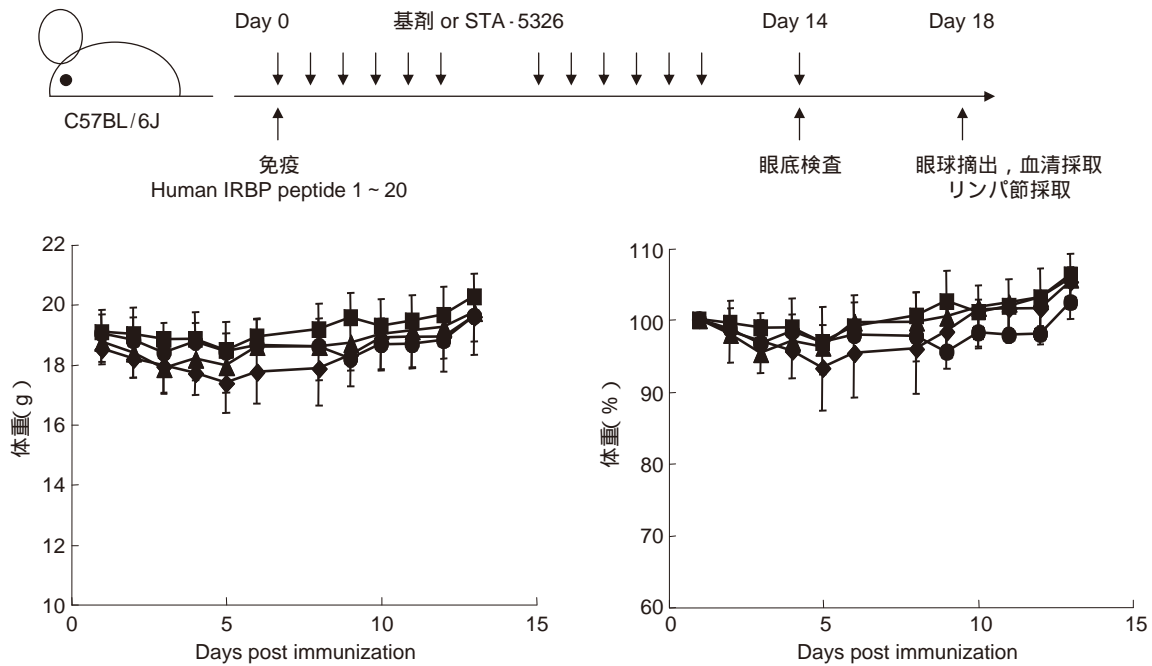


図 6 STA-5326 投与スケジュールと投与開始後の体重変動。

基剤および STA-5326 (5 mg/kg or 20 mg/kg) の経口投与 (免疫後 0 日目から 14 日目まで) を行ったが、3 群間に有意な体重変動はみられなかった。

◆ : PBS, ■ : 基剤, ▲ : STA-5326 (5 mg/kg), ● : STA-5326 (20 mg/kg).
(文献 3 より許可を得て転載, 一部改変)

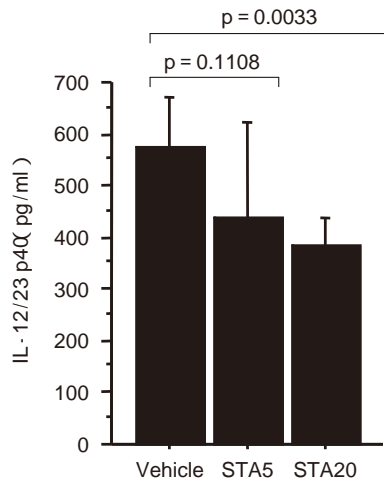


図 7 STA-5326 投与による血清中 IL-12/23 p40 の低下。

STA-5326 投与 (5 mg/kg or 20 mg/kg) により血清中 IL-12/23 p40 の発現が低下した。Vehicle : 基剤群, STA 5 : STA-5326 (5 mg/kg) 投与群, STA 20 : STA-5326 (20 mg/kg) 投与群。

(文献 3 より許可を得て転載, 一部改変)

ていた。また組織標本を用いて炎症の程度をスコア化したところ、臨床スコアでの結果と同様に STA-5326 投与群で有意にスコアが低下していた (図 8 B)。以上の結果から、STA-5326 の継続的な投与によってぶどう膜網膜炎を軽症化させることが可能であることが判明した。

3. STA-5326 投与による Th 1 細胞, Th 17 細胞の増殖抑制効果

STA-5326 投与によって血清中の IL-12/23 p40 が抑制されること、さらに EAU が軽症化することから、STA-5326 が生体内において EAU の effector 細胞として重要な役割を担う Th 1 細胞, Th 17 細胞の増殖を抑制している可能性を検討するために以下の実験を行った。

免疫後 14 日目に基剤群, STA-5326 投与群の両群から所属リンパ節を採取、免疫に用いた hIRBP peptide の存在下で培養を行い、リンパ球増殖反応, Th 1 細胞から主に分泌される IFN- γ , Th 17 細胞から分泌される IL-17 の産生能について ELISA 法とフローサイトメーターを用いた蛍光染色法にて測定を行った。図 9 A に示すようにリンパ球増殖反応は両群間に有意差はみられず、IFN- γ の産生能は STA-5326 投与群において上昇を示した。一方で IL-17 の産生は STA-5326 投与群で有意な低下がみられた。フローサイトメーターを用いた実験系においても CD 4 陽性 IFN- γ 陽性細胞 (Th 1 細胞) 数は両群間に大きな変化はなかったものの、CD 4 陽性 IL-17 陽性細胞 (Th 17 細胞) 数は STA-5326 投与群では約 1/2 まで低下していた (図 9 B)。このように STA-5326 投与により生体内の抗原特異的な Th 17 細胞の増殖が抑制されたことからぶどう膜網膜炎の軽症化が誘導されたと考えられた。

STA-5326 は Th 1 細胞, Th 17 細胞の誘導に必須である IL-12/IL-23 の産生抑制能を有していることから、

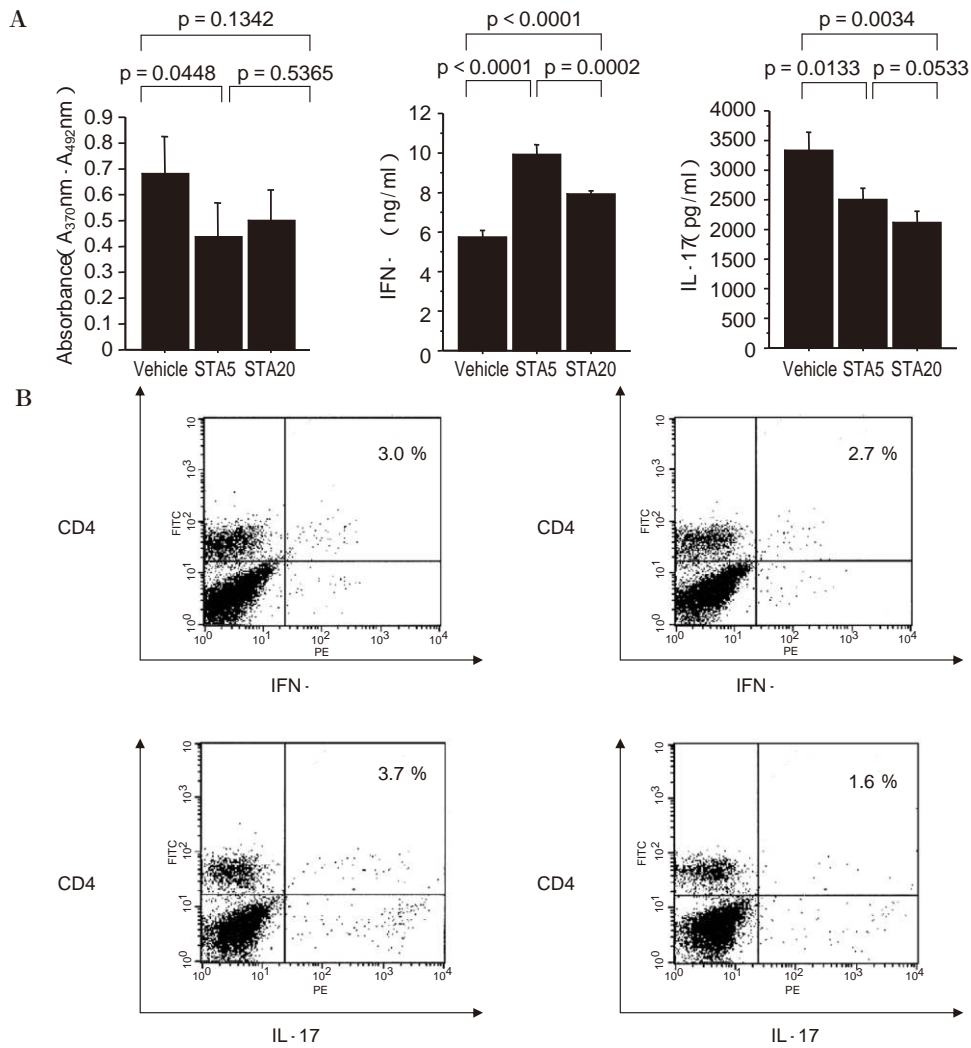


図 9 STA-5326 投与による所属リンパ節細胞への影響。

A : 所属リンパ節細胞を interphotoreceptor retinoid-binding protein 合成ペプチド (IRBP peptide) で刺激後、リンパ球増殖反応(左)、培養上清中の IFN- γ (中央)、IL-17(右)を測定し、STA-5326 投与にて IL-17 の産生が有意に低下した。B : 基剤(左)と STA-5326 20 mg/kg(右)投与後のフローサイトメトリー解析。所属リンパ節細胞を IRBP peptide で刺激し、IFN- γ 産生細胞数(Th 1 細胞)を測定するも STA-5326 の投与により変動はみられなかった。IL-17 産生細胞数(Th 17 細胞)は STA-5326 の投与により低下がみられた。

(文献 3 より許可を得て転載、一部改変)

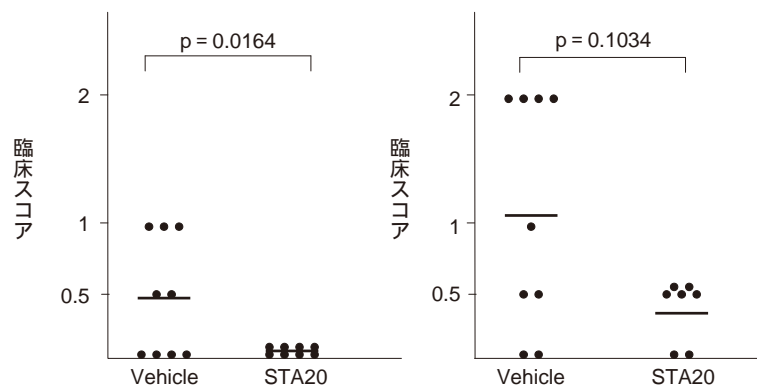


図 10 EAU 発症期投与によるぶどう膜網膜炎の抑制。

免疫後 15 日目(左)と 18 日目(右)の臨床スコア。STA-5326(20 mg/kg)の経口投与(免疫後 9 日目から 14 日目まで)により EAU の軽症化がみられた。

Vehicle : 基剤群, STA 20 : STA-5326(20 mg/kg)投与群。

(文献 3 より許可を得て転載、一部改変)

ることはぶどう膜炎の進展を制御するためにも重要となる。上述したように、Behçet 病ぶどう膜網膜炎患者では炎症発作期において血清中の IL-23, IL-17 の濃度が上昇することが報告されており、疾患活動性との関連が指摘されている。今後は IL-23 や IL-17 などの分子制御を基盤とした新たな治療戦略が展開していくことが予想され、これらの発現制御作用をもつ STA-5326 は難治性ぶどう膜炎に対する有効な薬剤となることが期待される。

Ⅶ 結 語

本研究において、NF- κ B 分子特異的阻害剤 STA-5326 の投与により血清中の IL-12/23 p40 が低下すること、EAU に対して強い抑制効果を有すること、さらにぶどう膜炎の発症期に STA-5326 を投与しても EAU が抑制されることが確認された。近年、Behçet 病ぶどう膜網膜炎に対する生物学的製剤(抗 TNF α 抗体)による優れた臨床効果が報告されているが、一方で抗 TNF α 療法にも抵抗性を示す症例の存在、重篤な感染症の問題も指摘されており、生物学的製剤に加えて、新たな治療戦略の登場が待たれる。現在、米国において Crohn 病、関節リウマチに対して STA-5326 を用いた第 2 相臨床治験が進行中である。また尋常性乾癬のバイオマーカースタディにおいて、STA-5326 の投与群では皮膚の病変部位において IL-12/23 p40、さらにはその下流のサイトカインの発現が低下していることが報告されている⁴⁰⁾。Behçet 病に代表される難治性網膜ぶどう膜炎に対して STA-5326 が現在の免疫抑制剤、生物学的製剤を凌駕する次世代の新規治療薬となる可能性が考えられる。

文 献

- Ohno S, Nakamura S, Hori S, Shimakawa M, Kawashima H, Mochizuki M, et al : Efficacy, safety, and pharmacokinetics of multiple administration of infliximab in Behçet's disease with refractory uveoretinitis. *J Rheumatol* 31 : 1362—1368, 2004.
- Tugal-Tutkun I, Mudun A, Urgancioglu M, Kamali S, Kasapoglu E, Inanc M, et al : Efficacy of infliximab in the treatment of uveitis that is resistant to treatment with the combination of azathioprine, cyclosporine, and corticosteroids in Behçet's disease. *Arthritis Rheum* 52 : 2478—2484, 2005.
- Keino H, Watanabe T, Sato Y, Niikura M, Wada Y, Okada AA : Therapeutic effect of the potent IL-12/23 inhibitor STA-5326 on experimental autoimmune uveoretinitis. *Arthritis Res Ther* 10 : R122, 2008.
- Wacker WB, Lipton MM : Experimental allergic uveitis : homologous retina as uveitogenic antigen. *Nature* 206 : 253—254, 1965.
- Caspi RR, Roberge FG, Chan CC, Wiggert B, Chader GJ, Rozenszajn LA, et al : A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens. *J Immunol* 140 : 1490—1495, 1988.
- Gregerson DS, Obritsch WF, Fling SP, Cameron JD : S-antigen-specific rat T cell lines recognize peptide fragments of S-antigen and mediate experimental autoimmune uveoretinitis and pinealitis. *J Immunol* 136 : 2875—2882, 1986.
- 臼井正彦 : 実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎 (EAU) のトランスレーショナルリサーチ. *日眼会誌* 111 : 137—159, 2007.
- Caspi RR : Th 1 and Th 2 responses in pathogenesis and regulation of experimental autoimmune uveoretinitis. *Int Rev Immunol* 21 : 197—208, 2002.
- Tarrant TK, Silver PB, Chan CC, Wiggert B, Caspi RR : Endogenous IL-12 is required for induction and expression of experimental autoimmune uveitis. *J Immunol* 161 : 122—127, 1998.
- Yokoi H, Kato K, Kezuka T, Sakai J, Usui M, Yagita H, et al : Prevention of experimental autoimmune uveoretinitis by monoclonal antibody to interleukin-12. *Eur J Immunol* 27 : 641—646, 1997.
- Jones LS, Rizzo LV, Agarwal RK, Tarrant TK, Chan CC, Wiggert B, et al : IFN- γ -deficient mice develop experimental autoimmune uveitis in the context of a deviant effector response. *J Immunol* 158 : 5997—6005, 1997.
- Caspi RR : Autoimmunity in the immune privileged eye : pathogenic and regulatory T cells. *Immunol Res* 42 : 41—50, 2008.
- Dong C : TH 17 cells in development : an updated view of their molecular identity and genetic programming. *Nature Review Immunol* 8 : 337—348, 2008.
- Luger D, Silver PB, Tang J, Cua D, Chen Z, Iwakura Y, et al : Either a Th 17 or a Th 1 effector response can drive autoimmunity : conditions of disease induction affect dominant effector category. *J Exp Med* 205 : 799—810, 2008.
- Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK, et al : Human IL-17 : a novel cytokine derived from T cells. *J Immunol* 155 : 5483—5486, 1995.
- Su SB, Grajewski RS, Luger D, Agarwal RK, Tang J, Tuo J, et al : Altered chemokine profile associated with exacerbated autoimmune pathology under conditions of genetic interferon- γ deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48 : 4616—4625, 2007.
- Forrester JV, Huitinga I, Lumsden L, Dijkstra CD : Marrow-derived activated macrophages are required during the effector phase of experimental autoimmune uveoretinitis in rats. *Curr Eye Res* 17 : 426—437, 1998.
- Keino H, Takeuchi M, Kezuka T, Yamakawa N, Tsukahara R, Usui M : Chemokine and chemokine receptor expression during experimental autoim-

- mune uveoretinitis in mice. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 241 : 111—115, 2003.
- 19) **Avichezer D, Grajewski RS, Chan CC, Mattapallil MJ, Silver PB, Raber JA, et al** : An immunologically privileged retinal antigen elicits tolerance : major role for central selection mechanisms. *J Exp Med* 198 : 1665—1676, 2003.
 - 20) **Takeuchi M, Keino H, Kezuka T, Usui M, Taguchi O** : Immune responses to retinal self-antigens in CD 25 (+) CD 4 (+) regulatory T-cell-depleted mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 1879—1886, 2004.
 - 21) **Keino H, Takeuchi M, Usui Y, Hattori T, Yamakawa N, Oh-i K, et al** : Supplementation of CD 4⁺CD 25⁺ regulatory T cells suppresses experimental autoimmune uveoretinitis. *Br J Ophthalmol* 91 : 105—110, 2007.
 - 22) **Kitaichi N, Namba K, Taylor AW** : Inducible immune regulation following autoimmune disease in the immune-privileged eye. *J Leukoc Biol* 77 : 496—502, 2005.
 - 23) **Chi W, Zhu X, Yang P, Liu X, Lin X, Zhou H, et al** : IL-23 and IL-17 are upregulated in Behçet's patients with active uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 3058—3064, 2008.
 - 24) **Chi W, Yang P, Li B, Wu C, Jin H, Zhu X, et al** : IL-23 promotes CD 4⁺ T cells to produce IL-17 in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *J Allergy Clin Immunol* 119 : 1218—1224, 2007.
 - 25) **Amadi-Obi A, Yu CR, Liu X, Mahdi RM, Clarke GL, Nussenblatt RB, et al** : TH 17 cells contribute to uveitis and scleritis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT 1. *Nat Med* 13 : 711—718, 2007.
 - 26) **Vallabhapurapu S, Karin M** : Regulation and function of NF- κ B transcription factors in the immune system. *Annu Rev Immunol* 27 : 693—733, 2009.
 - 27) **Ghosh S, Hayden MS** : New regulators of NF- κ B in inflammation. *Nat Rev Immunol* 8 : 837—848, 2008.
 - 28) **Mercurio F, Zhu H, Murray BW, Shevchenko A, Bennett BL, Li J, et al** : IKK-1 and IKK-2 : cytokine-activated I κ B kinases essential for NF- κ B activation. *Science* 278 : 860—866, 1997.
 - 29) **Okamoto H, Cujec TP, Yamanaka H, Kamatani N** : Molecular aspects of rheumatoid arthritis : role of transcription factors. *FEBS J* 275 : 4463—4470, 2008.
 - 30) **Vega MI, Martinez-Paniagua M, Jazirehi AR, Huerta-Yapez S, Umezawa K, Martinez-Maza O, et al** : The NF- κ B inhibitors (bortezomib and DHMEQ) sensitise rituximab-resistant AIDS-B-non-Hodgkin lymphoma to apoptosis by various chemotherapeutic drugs. *Leuk Lymphoma* 49 : 1982—1994, 2008.
 - 31) **Sanjabi S, Hoffmann A, Liou HC, Baltimore D, Smale ST** : Selective requirement for c-Rel during IL-12 P40 gene induction in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 12705—12710, 2000.
 - 32) **Carmody RJ, Ruan Q, Liou HC, Chen YH** : Essential roles of c-Rel in TLR-induced IL-23 p19 gene expression in dendritic cells. *J Immunol* 178 : 186—191, 2007.
 - 33) **Lamhamedi-Cherradi SE, Zheng S, Hiliard BA, Xu L, Sun J, Alsheadat S, et al** : Transcriptional regulation of type 1 diabetes by NF- κ B. *J Immunol* 171 : 4886—4892, 2003.
 - 34) **Hilliard BA, Mason N, Xu L, Sun J, Lamhamedi-Cherradi SE, Liou H-C, et al** : Critical role of c-Rel in autoimmune inflammation and helper T cell differentiation. *J Clin Invest* 110 : 843—850, 2002.
 - 35) **Campbell IK, Gerondakis S, O'Donnell K, Wicks IP** : Distinct roles for the NF- κ B 1 (p50) and c-Rel transcription factors in inflammatory arthritis. *J Clin Invest* 105 : 1799—1806, 2000.
 - 36) **Tian W, Liou H-C** : RNAi-mediated c-Rel silencing leads to apoptosis of B cell tumor cells and suppresses antigenic immune response *in vivo*. *PLoS One* 4 : e5028. Doi : 10.1371/journal.pone.0005028, 2009.
 - 37) **Sandborn WJ, Feagan BG, Fedorak RN, Scherl E, Fleisher MR, Katz S, et al** : A randomized trial of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with moderate-to-severe Crohn's disease. *Gastroenterology* 135 : 1130—1141, 2008.
 - 38) **Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, Yeilding N, Guzzo C, Wang Y, et al** : A human interleukin-12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. *N Engl J Med* 356 : 580—592, 2007.
 - 39) **Wada Y, Lu R, Zhou D, Chu J, Przewlaka T, Zhang S, et al** : Selective abrogation of Th 1 response by STA-5326, a potent IL-12/IL-23 inhibitor. *Blood* 109 : 1156—1164, 2007.
 - 40) **Wada Y** : IL-12/IL-23 inhibitors : a promising approach to the treatment of inflammatory disorders. *Drugs of the Future* 33 : 49—63, 2008.
 - 41) **Thurau SR, Chan CC, Nussenblatt RB, Caspi RR** : Oral tolerance in a murine model of relapsing experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) : induction of protective tolerance in primed animals. *Clin Exp Immunol* 109 : 370—376, 1997.
 - 42) **Yoshimura T, Sonoda KH, Miyazaki Y, Iwakura Y, Ishibashi T, Yoshimura A, et al** : Differential roles for IFN- γ and IL-17 in experimental autoimmune uveoretinitis. *Int Immunol* 20 : 209—214, 2008.