



Title	Age-associated Increase in IL-6 in MRL/1pr Mice
Author(s)	唐, 波
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37201
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	唐	波
学位の種類	医 学 博 士	
学位記番号	第 9679	号
学位授与の日付	平成3年3月26日	
学位授与の要件	医学研究科 病理系専攻	
	学位規則第5条第1項該当	
学位論文題目	Age-associated Increase in IL-6 in MRL/lpr Mice (自己免疫疾患自然発症MRL/lprマウスにおけるIL-6の異常産生とその意義)	
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三	
	(副査) 教授 谷口 維紹 教授 平野 俊夫	

論文内容の要旨

(目的)

インターロイキン6 (IL-6) は、免疫応答、急性期反応及び血液幹細胞や神経細胞の増殖分化を制御しているサイトカインであるが、その異常産生或いはその遺伝子の異常発現は、自己免疫疾患、骨髄腫/形質細胞腫などのB細胞異常症、メサンギウム増殖性腎炎など、多くの疾患の病因と密接な関連のあることが明らかにされつつある。一方、自己免疫疾患自然発症モデルであるMRL/lprマウスには、リンパ節腫大、多量の自己抗体産生、急性期蛋白高値、増殖性腎炎、Sjogren's症候群など種々の免疫異常が知られている。本研究はMRL/lprマウス実験モデルとして、自己免疫疾患の発症機構におけるIL-6の役割を解析することを目的とした。

(方法ならびに成績)

- 1) 動物: 自己免疫疾患自然発症マウスとしてはMRL/lprマウス (NZBxNZW) F1マウスと (BxSBxNZB) F1マウスを使用した。コントロールマウスとして、MRL/+、C3H/HeN、BALB/cマウスを使用した。
- 2) マウス血清中のIL-6活性の測定: IL-6の活性はIL-6依存性ハイブリドーマ、MH60、BSF2細胞で測定した。 $5 \times 10^4 / \text{ml}$ のMH60、BSF2を種々の濃度の被検試料と共に48時間培養し、 $^3\text{H}-\text{TdR}$ の取り込みを測定した。IL-6の濃度は同時に測定したrIL-6の標準曲線より計算した。BALB/c、C3H/HeN、MRL/+、(BxSBxNZB) F1、(NZBxNZW) F1マウスの血清には、いずれも40~120pg/ml IL-6相当量のIL-6活性を認めたが、加齢(3~40週齢)とともにIL-6濃度の上昇は認められなかった。一方、MRL/lpr

マウスでは、3週齢より血清中のIL-6濃度は正常マウスに比較して有意に高く（3～6週齢： $170 \pm 97 \text{ pg/ml}$ $N=19$ ）加齢に伴い上昇した（7～13週齢： $230 \pm 150 \text{ pg/ml}$ $N=21$ ；14～20週齢： $320 \pm 180 \text{ pg/ml}$ $N=25$ ；21～30週齢： $410 \pm 260 \text{ pg/ml}$ $N=17$ ）。血清中のIL-6活性は抗マウスIL-6抗体で中和された。血清中のIL-6濃度とマウスの年齢の相関性について検討した結果、MRL/1prマウスのみ強い正相関を示した（ $r=0.441$, $p<0.001$, $N=82$ ）。他のマウス対照群では、その相関性を示さなかった。

- 3) MRL/1prマウスにおけるIL-6遺伝子の異常発現：Northern Blot分析を行うため、種々の臓器からtotal RNAをGuanidinium/Cesium Chloride法で抽出し、さらに01igo-dTカラムにてPoly(A)⁺RNAを精製した。特異的なプローブとしては637bpのマウスIL-6cDNAを使用した。自己免疫疾患を自然発症したMRL/1prマウスの脾臓と腫大リンパ節にIL-6遺伝子の異常発現を認めた。その発現は8週齢より見い出され、加齢と共に増強し、24週齢にはMaximumに達した。しかしMRL/+マウスとBALB/cマウスにおいてはIL-6の発現が認められなかった。さらに、1pr遺伝子以外のMRL背景遺伝子がIL-6遺伝子の発現にどのような影響を与えるかを明らかにするため、1pr遺伝子を正常マウスに導入したC57BL/6-1pr/1pr(B6/1pr)マウスを用いて検討を加えた。その結果、B6/1prマウスの脾臓においてもMRL/1prマウスの脾臓と同程度の強いIL-6遺伝子の発現が認められた。
- 4) MRL/1prマウスgenomicの遺伝子の分析：マウスの肝臓より高分子DNAを抽出し、これを6種類の制限酵素で切断し、Southern Blot解析を行った。マウスIL-6のpromoter領域を含む1.8kbのfragmentを5'-側プローブ、第5exonを3'-側のプローブとして使用した。その結果、MRL/1prマウスのIL-6genomic遺伝子には、正常のBALB/cマウスに比較して有意なrearrangementを認めなかった。

（総括）

- (1) MRL/1prマウスの血清中には、生後3週齢より正常マウスに比較して高濃度のIL-6が認められ、加齢と共に増加する事を示した。正常のBALB/c, C3H/HeNマウス、他の自己免疫疾患自然発症マウスである(NZBxNZW)F1, (BxSBxNZB)F1マウス、コントロールマウスであるMRL/+マウスでは、血清中にIL-6濃度の上昇を認めなかった。
- (2) MRL/1prマウスにおけるIL-6遺伝子の異常発現は血清中のIL-6異常産生に一致した。また、その異常発現は1pr遺伝子と関連することが明かとなった。
- (3) 本実験においてIL-6のgenomic遺伝子rearrangementは認められなかった。これはIL-6の異常産生或いはIL-6遺伝子の異常発現はIL-6の転写レベルでの異常に原因があることを示唆する。

以上の結果より、IL-6遺伝子の異常発現及びIL-6の異常産生は1pr遺伝子と関連しており、自己免疫疾患発症或いは増悪に密接な関連性があると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は自己免疫疾患自然発症モデルMRL/1prマウスを用いて、自己免疫疾患の発症機構におけるIL-6の役割の解析を行った。MRL/1prマウスの血清中には生後3週齢より正常マウスに比較して高濃度のIL-6が認められ、加齢と共に増加することを明らかにした。さらに、IL-6の異常産生はIL-6の遺伝子の発現レベルに異常のあること、又IL-6の異常産生は1pr遺伝子と関連することを示した。MRL/1prマウスに見られた急性期蛋白高値、多量の自己抗体産生、関節炎、増殖性腎炎などの発症機序にIL-6異常産生が関与している可能性と考えられる。本研究は自己免疫疾患の発症機構の解明に関して有益な示唆を与えるものであり、医学博士論文に値するものと考えられる。