



Title	Impairment of antigen-specific antibody production in transgenic mice expressing a dominant-negative form of gp130.
Author(s)	熊ノ郷, 淳
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40020">https://hdl.handle.net/11094/40020</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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	熊ノ郷 淳
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13022 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学位論文名	Impairment of antigen-specific antibody production in transgenic mice expressing a dominant-negative form of gp130. (Dominant-negative gp130を発現したtransgenicマウスでは抗原特異的な抗体産生が障害されている。)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三
	(副査) 教授 菊谷 仁 教授 吉崎 和幸

## 論文内容の要旨

## 【目的】

共通の信号伝達分子であるgp130によって、IL-6 family cytokine (IL-6, LIF, CNTF, OM, IL-11, CT-1) の持つ多彩な生物学的活性は担われている。これまでの研究によって我々は、gp130ノックアウトマウスが胎生期において死亡し、心筋壁の薄化、造血機能の低下など種々の異常を呈することを明らかにしてきた。しかしながら、胎生期において致死的であるために、成体におけるgp130の生理的機能解析は不可能であった。そこで、gp130の生理的機能をより幅広く解析する目的で、同分子の生物学的活性に重要な細胞内機能ドメインであるbox 3 motif からC末端までを持たないtruncated formのgp130分子を過剰発現したtransgenicマウスを作成した。この変異分子がin vivoで dominant-negative効果を発揮することを期待してgp130分子の機能抑制を行い成体での免疫学的解析を試みた。

## 【方法ならびに成績】

1. dominant-negative form gp130を過剰発現したtransgenicマウスの作成。ubiquitousに発現を誘導するpCAGGSベクターにmouse gp130のwild-typeあるいは、細胞内機能ドメインであるbox 3 motifを含むC末端を除いたtruncated form gp130のcDNAを組み込んだfragmentをC57BL/6マウスの受精卵にmicroinjectionすることにより、それぞれの遺伝子が過剰に発現したtransgenicマウスを作成した。truncated formのgp130を過剰に発現したマウスの脾細胞を取り出しIL-6と可溶性のIL-6レセプターで刺激したところ、gp130およびその下流の重要な信号伝達分子であるSTAT3のチロシンリン酸化は著しく傷害されており、このtruncated form gp130は、dominant-negative効果を発揮していると考えられた。
2. dominant-negative form gp130を過剰発現したtransgenicマウスにおけるリンパ球の分化。gp130分子の機能抑制によるリンパ球分化への影響を検討した。胸腺細胞数および脾細胞数は、いずれも20-30%減少していたがCD4/CD8, Thy-1/IgM, IgM/B220といった表面マーカー陽性細胞比には異常は認めなかった。
3. dominant-negative form gp130を過剰発現したtransgenicマウスのin vitroにおけるリンパ球の反応性。羊赤血球免疫4日後の脾細胞を取り出し、IL-6存在下で羊赤血球と3日間培養した後、PFCassayによって羊赤血球に対する抗体産生能を検討したところ、IL-6による抗体産生増強効果は完全にブロックされていた。また、胸腺細胞に対するIL-1存在下のIL-6の増殖促進作用もほぼ完全にブロックされていた。しかしながら、LPSによるin

vitro での抗体産生能および、ConA 刺激による T cell への増殖促進作用はいずれも正常であった。

4. in vivo における dominant - negative form gp130を過剰発現した transgenic マウスの抗原特異的抗体産生能。DNP - OVA をフルインド完全アジュバントとともに免疫した後、21日後に再び免疫し、最初の免疫から 0 日後、7 日後、14日後、28日後の血清を用いて ELISA により各イムノグロブリンアイソタイプの DNP 特異的抗体価を測定したところ、IgM クラス以外の IgG および IgA クラスの抗体産生能が著しく障害されていることが明らかとなつた。

#### 【総括】

IL - 6 family cytokine の共通の信号伝達分子である gp130 の dominant - negative form を過剰に発現した transgenic マウスを作成した。このマウスによりこれまで不可能であった gp130 分子の成体での機能解析が可能となつた。特に本研究においては、gp130 分子の機能抑制が顕著な抗体産生障害を引き起こすことから、その免疫系における重要な機能が証明された。gp130 分子は免疫系だけでなくあらゆる組織でもその発現が確認されており、本研究によって作成された transgenic マウスも ubiquitous に発現を誘導するベクターである pCAGGS よって作成されている。そういう意味からも、免疫系以外の組織における gp130 の機能の解析にとっても、このマウスはきわめて重要なモデルとなりうると考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、Interleukin - 6 (IL - 6) family cytokine (IL - 6, LIF, CNTF, OM, IL - 11, CT - 1) に共通に用いられる信号伝達分子である gp130 に関して、その機能を抑制する dominant - negative form の gp130 を過剰に発現させた transgenic マウスを作成し免疫系における gp130 の機能解析をおこなつたものである。本研究から、gp130 が抗原特異的抗体産生において必須の分子であることが、in vivo の系において証明された。申請者らのグループが gene targeting の手法を用いて作成した gp130 ノックアウトマウスは心臓、造血系など多彩な異常を呈するが、胎生期において死亡してしまうため本研究において作成された transgenic マウスが、今までのところ唯一その機能抑制の効果を in vivo において解析できるシステムとなっている。またこのマウスでは、dominant - negative form gp130 が免疫系以外の組織においても発現されるよう設計されており、幅広い組織において gp130 の機能が抑制されていると予想されている。そういう意味からも、今後このマウスは、免疫系にとどまらず広範な組織における gp130 機能解析を可能とする重要なモデルとなりえる。よって、本研究は学位論文に値するものと認められる。