



Title	T細胞におけるサイトカイン共通信号伝達鎖gp130の発現の解析
Author(s)	王, 学傑
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40024
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	わん 王 しいえ 学 傑
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 0 2 1 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	T細胞におけるサイトカイン共通信号伝達鎖 gp130の発現の解析
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】

gp130はIL-6ファミリーサイトカイン(IL-6, IL-11, LIF, OM, CNTF, CT-1)の共通の信号伝達分子であり、免疫系、造血系、肝臓、心臓及び神経などの幅広い組織におけるこれらのサイトカインの多彩な作用を担っている。gp130は調べた全ての臓器においてRNAレベルで発現しているが、マウスのgp130を特異的に認識するモノクローナル抗体がこれまで作製されていないこともあり、in vivoでの発現制御については不明な点が多い。本研究ではマウスgp130を特異的に認識する抗体RX19を用いて、特にT細胞系におけるgp130の発現及びその制御について検討した。さらに自己免疫疾患モデルであるMRL/lprマウスT細胞系におけるgp130の発現についても調べた。

【方法】

実験動物としてC57BL/6(B6), MLR/lprとMRL/n系雌マウス12週齢と20週齢のものを使用した。CD4陽性またはCD8陽性脾臓細胞はマウスの脾臓細胞を抗CD4あるいは抗CD8磁気ビーズを用いてMACSシステムにより調製した。マウスgp130を特異的に認識するモノクローナル抗体RX19は可溶性マウスgp130を免疫したラットより常法に従いハイブリドーマを作り、培養上清をマウスgp130発現細胞株BAF-m130を用いたFACS解析でスクリーニングして得た。本研究ではRX19をFITCで標識して用いた。

【結果】

1) モノクローナル抗体RX19によるマウスgp130の特異的認識。

まずモノクローナル抗体RX19のマウスgp130に対する特異性については、ラットグリオーマC6G細胞を認識しないが、そのマウスgp130 cDNA導入株C6Gm130細胞を認識することで確認した。ここで、マウスより取り出したT細胞を解析するにあたり、in vivoで存在するIL-6とsIL-6Rがgp130へ結合していた場合、RX19による認識が阻害される可能性がある。そこで、この可能性を否定するために、IL-6とsIL-6Rを胸腺細胞に添加して1時間後FACS解析を行ったが、gp130の染色は全く影響を受けなかった。

2) 各T細胞サブセットにおけるgp130の発現。

正常マウスの胸腺細胞をCD4とCD8の発現で区別した4つの各サブセット上におけるgp130の発現をFACS解析で調べたところ、いずれもgp130の発現が確認され、その発現レベルはCD4-/CD8-T細胞に比べ他の3つの

T細胞サブセットで高い傾向にあった。脾臓T細胞ではCD4+T細胞もCD8+T細胞もgp130の発現が見られた。脾臓B細胞におけるgp130の発現も調べたが、検出できなかった。

3) MRL/lpr マウスの脾臓T細胞における gp130の発現の減少。

自己免疫疾患モデルマウス MRL/lpr は、加齢と共に血中の IL-6 と sIL-6 R 濃度が著しく上昇していることが知られており、病態への gp130刺激の何らかの関わりが示唆されている。老齢 MRL/lpr マウスの脾臓T細胞上における gp130の発現を調べたところ、同週齢 MRL/n マウスに比べると有意に減少していた。尚、MRL/lpr マウスにおいて異常なリンパ球 Thy1.2+/B220+細胞の存在が知られており、この細胞上にも gp130が発現していた。

4) IL-6 刺激によるマウス脾臓T細胞における gp130の発現低下。

IL-6 による持続的な gp130刺激がT細胞における gp130の発現にどう影響するかを検討するために、MACS システムにより単離された B6 マウスの脾臓由来 CD4 あるいは CD8 陽性 T 細胞を IL-6 の存在下に 2 日間培養し、FACS 解析を行なった。刺激しない対照群と比べるとこれら 2 つの T 細胞集団いずれにおいても刺激後の gp130 の発現低下が認められた。

【総括】

以上、本研究ではマウス gp130を認識する抗体 RX19によりマウスでの gp130発現の FACS 解析が可能となった。胸腺 CD4-/CD8-T細胞において gp130発現量が他の 3 つのサブセットに比べ低いものの、いずれの細胞においても gp130の発現が見られた。自己免疫疾患モデル MRL/lpr マウスの脾臓T細胞における gp130の発現は正常マウスに比べて低下していた。IL-6 刺激による脾臓T細胞における gp130の発現低下は、gp130の発現が恒常的刺激に応じて抑制される可能性を示唆した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、IL-6 ファミリーサイトカイン (IL-6, IL-11, LIF, OM, CNTF, CT-1) の共通の信号伝達分子である gp130に関して、マウス gp130を特異的に認識するモノクローナル抗体 RX19を用いて、蛋白レベルでT細胞における発現及びその発現制御について解析したものである。本研究から、マウス gp130を特異的に認識する抗体 RX19によりマウス生体由来細胞の gp130発現の FACS 解析が可能となった。gp130はT細胞において発現されたが、CD4とCD8の発現で区別した各サブセットによって発現レベルが異なったことが明らかになった。自己免疫疾患モデルである MRL/lpr マウスでは、脾臓 CD4+及び CD8+T細胞における gp130の発現が加齢時に正常マウスに比べて低下していたことを示し、この gp130の発現の低下は自己免疫疾患の病態を反映している可能性を示唆している。さらに、in vitro で gp130の発現が IL-6 の刺激によって減少したことを示し、gp130の発現が恒常的刺激に応じて抑制されることが推測できる。老齢 MRL/lpr マウスのT細胞上の gp130の低下はIL-6, sIL-6 Rにより down-regulation された結果である可能性も考えられる。よって、本研究は学位論文に値するものと認められる。