

Title	Interleukin 6 plays a key role in the development of antigen-induced arthritis
Author(s)	大島, 至郎
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41277">https://hdl.handle.net/11094/41277</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名	おおしましろう 大 島 至 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 2 5 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 2 月 12 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Interleukin 6 plays a key role in the development of antigen-induced arthritis (インターロイキン6は抗原誘導関節炎の進展に中心的役割を果たす)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 澤 佑 次 (副査) 教 授 平 野 俊 夫 教 授 吉 崎 和 幸

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】 慢性関節リウマチ (RA) は、骨破壊を伴う多関節炎を主徴とする原因不明の慢性炎症性疾患である。その病態形成には IL-6, TNF, IL-1 といった、いわゆる炎症性サイトカインが重要な役割を果たしているものと考えられているが、*in vivo* での個々のサイトカインの役割については十分に明らかにはなっていない。今回、我々は RA の病態形成における IL-6 の役割を検討するために IL-6 ノックアウトマウスにおいて実験的関節炎 (Antigen-induced arthritis; AIA) を誘導し、その病理学的、免疫学的解析を行った。

【方法】 IL-6 ノックアウトマウス (IL-6<sup>-/-</sup>) を AIA に感受性をもつ C57BL/6 の系統に 8 世代バッククロスした。コントロールとしては、同世代の wild type マウス (IL-6<sup>+/+</sup>) を用いた。各群 10 匹の雄 10-12 週齢を用いて比較検討した。AIA は従来の報告に従って誘導し、100  $\mu$ l の CFA (complete Freund adjuvant) にエマルジョン化した 100  $\mu$ g の methylated bovine serum albumin (mBSA) を尾根、四肢の足底部に分注し、同時に  $2 \times 10^9$  の *B. pertussis Organism* を腹腔内に注入した。Day7 に同様の処置を行い、Day21 に左後肢膝関節腔内に 10  $\mu$ l の生理食塩水に溶かした 100  $\mu$ g の mBSA を注入した。コントロールとして対側の膝関節腔に 10  $\mu$ l の生理食塩水を注入した。mBSA を関注後 14 日目に頸椎脱臼により屠殺し、両側の後肢膝関節を分離し、4%パラホルムアルデヒドで固定、EDTA で脱灰後 paraffin に包埋し連続切片を作製した。これを用いて各種染色を行い、HE 染色により病理組織像を、Safranin O 染色により軟骨の評価を、TRAP で染色により破骨細胞を比較検討した。さらに、関節局所の炎症性サイトカイン (IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ) の発現を RT/PCR 法により半定量した。一方、免疫学的解析として、Day0, Day7, Day14 の血清中の mBSA に対する IgG の値を ELISA により測定し、抗体産生を比較した。また、*in vitro* におけるリンパ節細胞の増殖反応を検討した。さらに抗原特異的、非特異的刺激下のリンパ節細胞の培養上清中の Th1 (IFN $\gamma$ , IL-2), Th2 (IL-4, IL-10) サイトカインの産生を、ELISA で測定することにより比較検討した。

【成績】 HE 染色において、IL-6<sup>+/+</sup> では顕著な滑膜細胞の増殖、さらに表層下の単核球を主とした炎症性細胞の著明な浸潤、パンス形成を認めた。一方、IL-6<sup>-/-</sup> ではこれらの所見は強く抑制され、数層にとどまる滑膜表層細胞の

増殖と、軽微な炎症性細胞の浸潤を認めるのみであった。また、Safranin O 染色において、IL-6+/+では軟骨は殆ど消失したがIL-6-/-では、生食を注入したコントロールの膝関節とほぼ同程度に保持された。さらにRT/PCR法による解析では、IL-6+/+で関節局所のIL-6の発現が認められたのに対して、IL-6-/-ではIL-6の発現がないことが確認され、一方、関節局所のIL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$ の発現は、IL-6-/-とIL-6+/+で同程度に認められた。免疫学的解析としては、IL-6-/-において抗体産生、リンパ節細胞の増殖反応は認められたが、その値はIL-6+/+の50%以下に低下していた。またIL-6-/-において、抗原刺激によるリンパ節細胞のIL-2の産生は、IL-6+/+に比べて低下しており、逆にIL-4、IL-10の産生は共に上昇していた。

【総括】 以上の結果から、IL-6はAIAにおける関節炎の進展に中心的な役割を有するサイトカインであり、その作用は、effector phaseだけではなく、induction phaseにおいても認められることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

当論文は、IL-6ノックアウトマウスに、抗原誘導関節炎という免疫学的な実験的関節炎を誘導することによって、関節炎におけるIL-6の役割を検討したものである。結果、病理組織学的にIL-6ノックアウトマウスでは抗原誘導関節炎は強く抑制され、IL-6が関節炎の進展に中心的役割を果たすことが明らかになった。またその役割は、炎症性サイトカインの関節局所での発現、免疫学的な解析によって、effector phaseだけでなく、inductionにも認められることが示唆された。この結果は、抗原誘導関節炎の進展にIL-6が中心的役割を果たすことを示しただけでなく、慢性関節リウマチにおいてIL-6を阻害することが有益であることを示唆する点においても重要であり、学位に値するものと考えられる。