



Title	A point Mutation of Tyr-759 in Interleukin 6 Family Cytokine Receptor Subunit gp130 Causes Autoimmune Arthritis
Author(s)	熱海, 徹
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43977
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	あつみと 熱海徹
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 17638 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	A point Mutation of Tyr-759 in Interleukin 6 Family Cytokine Receptor Subunit gp130 Causes Autoimmune Arthritis. (インターロイキン 6 ファミリーサイトカイン受容体 gp130 の Tyr-759 点変異は自己免疫性関節炎の発症を引き起こす)
論文審査委員	(主査) 教授 平野 俊夫 (副査) 教授 長田 重一 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

[目的]

B 細胞の分化因子として単離された IL-6 は免疫応答、造血、急性期応答、炎症反応といった生体反応を制御する多機能サイトカインである。これまでの研究で、リウマチを始めとする自己免疫疾患の病態における IL-6 の重要性が示唆されてきたが、IL-6、並びにその情報伝達経路が疾患の発症、病態にどのように関与しているかは明らかになっていない。

IL-6 ファミリーサイトカインの受容体である gp130 は、リン酸化チロシン残基依存性に STAT3 と SHP-2 を活性化する。チロシン残基 Y759 に変異を導入して SHP-2 を介する情報伝達経路を選択的に遮断したノックインマウス *gp130^{F759/F759}* では、STAT3 の活性化が遷延化し、脾臓・リンパ節の腫大と急性期タンパク、Th1 型サイトカイン、および胸腺依存性抗原に対する抗体の産生亢進が認められた。さらに、*gp130^{F759/F759}* マウスは末梢リンパ組織腫大を呈し、加齢に伴って高γグロブリン血症、自己抗体産生、活性化 T 細胞の蓄積等の免疫異常を伴うリウマチ様関節炎を自然発症したのでその病態を解析した。

[方法ならびに成績]

関節炎：44 匹の経過観察によって、*gp130^{F759/F759}* マウスは生後約 8-10 ケ月齢から関節炎の発症が観察され、生後 16 ケ月齢で発症率はほぼ 100% となり、関節炎は四肢の近位指関節の腫脹、可動域制限に始まり、徐々に大関節にも波及し強直性変化を来した。

組織学的解析：関節腔の組織を HE 染色によって解析したところ、関節腔におけるフィブリン析出、好中球主体の細胞浸潤、滑膜の線維芽細胞増生を伴う著明な関節構造の破壊が確認された。また、胸腺、脾臓、リンパ節等に好中球と形質細胞の浸潤を認めた。

血液・免疫学的解析：生後 12 ケ月齢の *gp130^{F759/F759}* マウスにおける血清中の各種抗体産生量を ELISA 法により測定したところ、血清免疫グロブリン濃度の上昇、また抗 ssDNA、抗 dsDNA 抗体、リウマチ因子などの自己抗体の産生が認められた。フローサイトメトリーを用いた解析から、生後約 10 週齢以降のマウスの末梢リンパ組織において、CD44、CD25、CD69 などを高発現する活性化 CD4⁺ T 細胞の蓄積が観察された。胸腺の正、負の選択の異常の有無

を検討するために、雄特異的抗原である HY 抗原を認識する TCR トランスジェニック (Tg) マウスとの交配実験を行った。その結果、胸腺の負の選択の異常が HY-TCR Tg・*gp130^{F759/F759}* マウスにおいて観察された。また末梢のトレランスを検討するためにスーパー抗原 SEB を投与した後の V β 8+T 細胞のクローン除去を検討したところ、*gp130^{F759/F759}* マウスにおいて、クローン除去の減弱が観察された。以上2つの実験結果から、*gp130^{F759/F759}* マウスにおいて T 細胞の中核、末梢トレランスの機能異常が示唆された。

細胞生物学的解析:関節炎発症前の *gp130^{F759/F759}* T 細胞の *in vitro* における機能を検討したところ、リンパ節、脾臓、胸腺において抗 CD3 抗体による増殖反応の亢進が認められた。さらに、IL-6 添加によって、STAT3 活性化依存的な Fas リガンドの発現の抑制と活性化 CD4⁺ T 細胞の TCR 依存性のアポトーシス誘導能の減弱が認められた。これらの結果から、自己反応性 T リンパ球の除去機構の異常と関節炎の発症との関連が示唆された。そこでリンパ球を欠損する *Rag2* 欠損マウスとの交配により *Rag2^{-/-}gp130^{F759/F759}* 二重変異マウスを作成した。*Rag2^{-/-}gp130^{F759/F759}* では関節炎が発症しなかったことから、*gp130^{F759/F759}* マウスの関節炎にはリンパ球が必須であることが明らかになった。

[総括]

本研究はサイトカイン受容体の点変異によるシグナル伝達の異常がリンパ球依存性の自己免疫疾患を誘導し得ることを世界で初めて示したものである。*gp130^{F759/F759}* マウスは、関節リウマチを始めとする、自己免疫疾患の発症、病態の分子レベルでの理解に役立つモデルマウスであると考えられる。

論文審査の結果の要旨

IL-6 ファミリーサイトカインの受容体 *gp130* はチロシン残基のリン酸化依存的に、チロシン脱リン酸化酵素 SHP-2 を介するシグナル伝達経路と転写因子 STAT3 を介するシグナル伝達経路を活性化する。申請者は、IL-6 ファミリーサイトカイン受容体 *gp130* のチロシン残基 Y759 に変異を導入し、SHP-2 依存性の情報伝達経路を特異的に遮断したノックインマウスが加齢により自己抗体の産生を伴う関節炎を自然発症することを新たに見いだした。その病態を詳細に解析することによって、この関節炎はヒトの関節リウマチに酷似したものであること、またリンパ球欠損マウスとの交配から、関節炎発症にリンパ球が必須であることを明らかにした。また関節炎発症前から、T リンパ球の増殖反応性の亢進、胸腺における負の選択異常、末梢のクローン除去の低下などの T 細胞の機能異常があることを示した。これらの T 細胞の異常は自己寛容の破綻に関与することが考えられる。

これまで、自己免疫疾患の発症、病態における IL-6 を始めとする、サイトカインの重要性が示唆されてきたが、その情報伝達経路が疾患の発症、病態にどのように関与しているかは明らかになっていなかった。本研究はサイトカイン受容体の点変異によるシグナル伝達の異常がリンパ球依存性の自己免疫疾患を誘導し得ることを世界で初めて示した非常に独創的なものであり、関節リウマチを始めとした自己免疫疾患の発症、病態の分子レベルでの原因解明に大いに貢献することが期待できるものである。以上の点から総合的に判断して、申請者の遂行した本研究は学位の授与に値すると考えられる。