



Title	Tyrosine 759 of the cytokine receptor gp130 is involved in Listeria monocytogenes susceptibility
Author(s)	上村, 大輔
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45206">https://hdl.handle.net/11094/45206</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">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	上村大輔
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第18483号
学位授与年月日	平成16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	<i>Tyrosine 759 of the cytokine receptor gp130 is involved in Listeria monocytogenes susceptibility</i> (サイトカイン受容体 gp130 のチロシン 759 はリストリア感受性に関与する)
論文審査委員	(主査) 教授 平野俊夫 (副査) 教授 審良静男 教授 宮坂昌之

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

インターロイキン(IL)-6 ファミリーサイトカインに共通のシグナル伝達受容体である gp130 は、細胞質ドメインのチロシン残基のリン酸化依存的に STAT3 経路の活性化と SHP-2/ERK MAP キナーゼ経路の活性化を引き起す。

gp130 細胞質ドメイン中の SHP2 結合部位(チロシン 759)に点変異を導入したノックインマウス (*gp130<sup>F759/F759</sup>* マウス)は、gp130 を介するシグナル伝達のうち SHP-2/ERK MAP キナーゼ経路の活性化を欠如している。またこの gp130 の SHP2 結合部位は、同時にシグナル伝達を負に制御する SOCS3 分子の結合部位としても機能するため、*gp130<sup>F759/F759</sup>* マウスでは gp130 を介する STAT3 活性化が遷延化している。これらのシグナル伝達異常により、*gp130<sup>F759/F759</sup>* マウスは、脾臓・リンパ節腫大の誘発、胸腺依存性抗原反応の亢進などを示し、さらに関節リウマチ様の関節炎を自然発症する。

IL-6 および gp130 はまた、細菌感染に対する抵抗性を発揮するために重要な遺伝子であることが知られている。本研究では、この *gp130<sup>F759/F759</sup>* マウスを用いて、シグナル伝達異常を誘発する gp130 の点変異が細菌感染に与える影響を検討した。

## 〔方法ならびに成績〕

細胞内寄生グラム陽性細菌である *Listeria monocytogenes* (LM) を野生型マウスおよび *gp130<sup>F759/F759</sup>* マウスに感染させ、感染マウスの生存率および臓器内の LM 生菌数を調べた。その結果、適応免疫系が亢進している *gp130<sup>F759/F759</sup>* マウスの表現型からは細菌感染においても抵抗性が増強していることが予測されたが、*gp130<sup>F759/F759</sup>* マウスでは感染後 3~4 日目から死亡する個体が出現し、野生型マウスに比べ高い致死率を示した。これと相関して、感染 3 日後における *gp130<sup>F759/F759</sup>* マウスの腹腔内、脾臓、肝臓中の LM 生菌数は野生型マウスと比べて有意に高かった。本研究では LM 菌を腹腔感染させたことから感染抵抗性減弱の原因として *gp130<sup>F759/F759</sup>* マウスの腹腔マクロファージの機能不全を疑ったが、*gp130<sup>F759/F759</sup>* マウス腹腔マクロファージによる *in vitro* での一酸化窒素産生能、サイトカイン mRNA 産生能、LM 殺菌能に野生型腹腔マクロファージとの差は観察されなかった。

LM 感染時には血中に急性期蛋白質や様々なサイトカイン産生が誘導される。このことから LM 感染後の血清サイトカイン量を ELISA 法により測定した。感染 1 日後の血清中 IL-6、IL-12 や急性期蛋白質の一つである血清アミロイド A の産生量に *gp130*<sup>F759/F759</sup> マウスと野生型マウスの間に大きな差は見られなかった。しかしながら、血清中のインターフェロン・ガンマ (IFN  $\gamma$ ) 産生量は *gp130*<sup>F759/F759</sup> マウスにおいて有意に低下していた。一方、腹腔マクロファージの IFN  $\gamma$  前処理による LM 殺菌能の増強は野生型マウスと *gp130*<sup>F759/F759</sup> マウスとの間で差が見られないことから、*gp130*<sup>F759/F759</sup> マウスの IFN  $\gamma$  反応性は正常であることが示された。また、リコンビナント IFN- $\gamma$  投与によって *gp130*<sup>F759/F759</sup> マウスの臓器内 LM 菌数が減少した。IFN  $\gamma$  が LM 感染初期に重要であることは、IFN  $\gamma$  ノックアウトマウスや IFN  $\gamma$  受容体ノックアウトマウスが LM 感染に極めて感受性であることが報告されていることから、*gp130*<sup>F759/F759</sup> マウスにおける LM 感染抵抗性の減弱は IFN  $\gamma$  産生不全に起因していることが示唆された。

さらに、*gp130* 遺伝子が位置することが想定されていたマウス 13 番染色体上に LM 感受性遺伝子座が存在することが報告されていたか、実際に *gp130* 遺伝子座を FISH 解析により同定し、さらにサテライトマッピング法によって解析した結果、報告された遺伝子座と *gp130* 遺伝子座は遠位であることが判明した。

#### [総括]

以上の結果から、*gp130* の SHP2 結合部位 (チロシン 759) 由来のシグナル伝達が、LM 感染初期抵抗性に重要であることが示された。*gp130* 遺伝子の点変異によって LM 感受性が変化することは、*gp130* が LM 感受性遺伝子の候補であることを示唆している。

#### 論文審査の結果の要旨

リストリア症は、発症率こそ低いもののその死亡率は約 30% にものぼり、もっとも重篤な食中毒のひとつである。この原因細菌であるリストリア菌は、グラム陽性細胞内寄生性の常在細菌であり、加工肉製品や乳製品を介して食中毒を引き起こす。リストリア菌は通常の食中毒を引き起こす細菌と異なり、4 °C 以下の温度や 5 % 以上の塩分濃度中でも生育可能なことから、食物流通に関して問題となる病原性細菌である。リストリア感染抵抗性に関する機序については、マウスを用いた感染実験において、マウスの系統間でリストリア感染に対する抵抗性が大きく異なることから、その感受性を規定する遺伝子の存在およびその関与が示唆されている。この遺伝子の同定は、リストリア感染抵抗性のメカニズムを探るうえで重要な発見となると考えられる。

申請者は、IL-6 ファミリーサイトカインに共通のシグナル伝達受容体である *gp130* に点変異を導入したノックインマウスである F759 マウスを用いて、*gp130* がリストリア感染に対する感受性遺伝子の候補であることを示した。F759 マウスは *gp130* 遺伝子の F759 点変異により、*gp130* を介した ERK/MAPK 経路の遮断および STAT3 活性化の遅延といった *gp130* シグナル伝達異常が認められるマウスである。この F759 マウスにリストリア菌を腹腔感染させると、野生型マウスにくらべ高い死亡率を示し、感染 3 日後の臓器中のリストリア菌数も有意に増加することを明らかにした。また *gp130* F759 変異により、細菌感染排除に重要であるインターフェロン- $\gamma$  の産生が減少することを見出し、その産生不全が F759 マウスの抵抗性減弱の原因のひとつであることを示した。

さらに申請者は、リストリア感受性領域として報告されていたマウス 13 番染色体上に *gp130* 遺伝子が存在することを実験的に証明した。その結果、マウス *gp130* 遺伝子は、報告されている感受性領域とは約 20 cM 離れていることが明らかとなった。これに続いて行ったマイクロサテライト・タイピングにより、*gp130* 遺伝子は報告されているリストリア感受性領域とは分離されることを明らかにした。このことから、*gp130* 遺伝子が新たなリストリア感受性遺伝子の候補であることの可能性を示した。

マウス個体表現型の差異から遺伝子を同定する方法がとられるなか、点変異を人為的に導入したマウスを用い、目的遺伝子を絞った解析を行うことによって感受性を規定する候補遺伝子を明らかにした点で、申請者の研究を学位に値するものと認める。