The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Autoimmune arthritis associated with mutated interleukin(IL)-6 receptor gp130 is driven by STAT3/IL-7-dependent homeostatic proliferation of CD4+T cells
Author(s)	澤, 新一郎
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47404
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

【10】

氏　　名	澤　　新一郎（さわ　しんいちろう）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２０６２４　号
学位授与年月日	平成 18 年 7 月 20 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	Autoimmune arthritis associated with mutated interleukin (IL)-6 receptor gp 130 is driven by STAT3/IL-7-dependent homeostatic proliferation of $CD4^+$ T cells （IL-6 受容体 gp130 の変異マウスにおける自己免疫性関節炎は STAT3/IL-7 依存的な CD4+T 細胞のホメオスタティック増殖により誘発される）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　平野　俊夫 （副査） 教　授　宮坂　昌之　　教　授　菊谷　　仁

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

IL-6 ファミリーサイトカイン受容体 gp130 の細胞内領域に点変異を持ち SHP2-ERK1/2-MAP キナーゼ経路が特異的に遮断され、gp130 刺激により JAK1/2-STAT3 経路のみが過剰に活性化する F759 マウスはリンパ球依存的な自己免疫性関節炎を生後 1 年以降に自然発症する。しかし、詳細な免疫学的発症機序は不明である。本研究は F759 関節炎発症に必須の細胞群を同定し、発症機序について分子レベルで解明することを目的とした。

〔　方法ならびに成績　〕

F759 マウスを CD4 遺伝子欠損マウスと交配、作成した CD4KO/F759 マウスは関節炎発症率、重症度ともに低下したが、CD8 欠損、B 細胞欠損 F759 マウスは関節炎が軽症化しなかった。また、野生型マウス骨髄細胞を致死量放射線照射した F759 マウスに移入し、作成したキメラマウスは関節炎を発症したが、F759 骨髄細胞を野生型マウスに移入したものは関節炎を発症しなかった。さらに、IL-6 欠損 F759 マウスは関節炎が軽症化した。以上から 1)CD4＋T 細胞、2)非造血系細胞における F759 変異、3)IL-6 が F759 関節炎発症に必須の要素であることが明らかとなった。

また、CD4+T 細胞が関節炎発症に果たす役割を検討した。新生仔期に胸腺摘出術（NTx）を施行したマウスでは T 細胞のホメオスタティック増殖（HP）が亢進し、分裂した T 細胞は $CD44^{high}$ の表現型を示す。F759 マウス末梢リンパ組織には $CD44^{high}$ のメモリー/活性化 CD4＋T 細胞が関節炎発症前より蓄積しており、F759 マウスにおける CD4＋T 細胞の HP は NTx により有為に亢進することが明らかとなった。さらに、NTx 施行 F759 マウスは関節炎発症早期化が認められた。逆に、NTx 施行 F759 マウスに多量の CD4+CD25-T 細胞を移入したところ、CD4＋T 細胞の HP が抑制され、関節炎発症も遅延した。以上から、F759 マウスにおける CD4＋T 細胞の HP 亢進が関節炎発症に関与することが明らかとなった。

さらに、F759 マウスにおける CD4＋T 細胞 HP 亢進について検討した。IL-7 は線維芽細胞等の非造血系細胞より産生され、CD4＋T 細胞の HP に必須の分子である。リンパ球減少状態の F759 において IL-7 の発現量は mRNA、

蛋白ともに野生型マウスよりも多く産生されていることが明らかとなった。また、IL-6 をマウス生体に投与するとリンパ節中の IL-7 発現量が増加した。

一方、MEF（mouse embryonic fibroblast）を野生型および gp130-Jak-STAT 経路が特異的に遮断された FxxQ 胎児より調成し、in vitro において IL-6 ファミリーサイトカインで刺激したところ、野生型マウス由来 MEF では IL-7 発現が誘導されたが、FxxQ 由来 MEF では発現が誘導されなかった。さらに、末梢リンパ節の結合組織のみに STAT3 を欠損した Type1 collagen-Cre/STAT3$^{flox/flox}$（Col1a-ΔSTAT3）マウスよりリンパ節を調成し、in vitro で IL-6 刺激を行ったところ、対照群マウス由来リンパ節では IL-7 発現が増加したが、Col1a-ΔSTAT3 マウス由来リンパ節では増加が認められなかった。以上から、非造血細胞において gp130-STAT3-IL-7 カスケードが存在し、F759 マウスにおける IL-7 の過剰産生が CD4+T 細胞の HP を亢進していることが明らかとなった。

最後に、関節炎発症と IL-7 の関与を調べた。NTx 施行 F759 マウスにおける CD4＋T 細胞の HP は IL-7 中和抗体により抑制され、生後２週目まで IL-7 中和抗体を投与した NTx 施行 F759 マウスは関節炎を発症しなかった。さらに、IL-7 受容体欠損 F759 マウスでは関節炎発症率が有意に低下した。以上より、IL-7 が F759 関節炎発症に関与していることが明らかとなった。

〔　総　括　〕

F759 マウスは非造血系細胞において gp130-STAT3 経路依存的に IL-7 発現が増加した結果、CD4＋T 細胞のホメオスタティック増殖が亢進し、自己免疫性関節炎を発症することが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

関節リウマチの病態にインターロイキン（IL)-6 が深く関与しているとの臨床的知見が近年得られてきたが、関節炎の病態形成における IL-6 の免疫学的役割は不明であった。IL-6 ファミリーサイトカイン受容体 gp130 の細胞内領域に点変異を持ち SHP2-ERK1/2-MAP キナーゼ経路が特異的に遮断され、gp130 刺激により JAK1/2-STAT3 経路のみが過剰に活性化する F759 マウスは関節リウマチに病態が極似した関節炎を自然発症する。本研究では、F759 マウスを用い、関節炎発症における IL-6 の役割を免疫学的に解析し、以下の点を解明した。

①F759 マウス関節炎は、1)CD4＋T 細胞、2)非造血系細胞における F759 変異、3)IL-6 依存的に発症する。

②F759 マウスにおける CD4＋T 細胞の HP 亢進が関節炎発症に関与する。

新生仔期に胸腺摘出術（NTx）を施行したマウスでは T 細胞のホメオスタティック増殖（HP）が亢進し、分裂した T 細胞は CD44^{high} の表現型を示す。F759 マウス末梢リンパ組織には CD44^{high} のメモリー/活性化 CD4＋T 細胞が関節炎発症前より蓄積しており、NTx は F759 マウス CD4＋T 細胞の HP を亢進、関節炎発症を早期化するが、NTx 施行 F759 マウスに多量の CD4＋CD25-T 細胞を移入すると、CD4＋T 細胞の HP が抑制され、関節炎発症も遅延した。

③F759 マウスの非造血細胞において gp130-STAT3 経路依存的に IL-7 産生が増加する。

IL-7 は線維芽細胞等の非造血系細胞より産生され、CD4＋T 細胞の HP に必須の分子である。リンパ球減少状態の F759 において IL-7 の発現量は mRNA、蛋白ともに野生型マウスよりも多く産生されていることが明らかとなった。また、IL-6 をマウス生体に投与するとリンパ節中の IL-7 発現量が増加した。一方、MEF（mouse embryonic fibroblast）を野生型および gp130-Jak-STAT 経路が特異的に遮断された FxxQ 胎児より調成し、in vitro において IL-6 ファミリーサイトカインで刺激したところ、野生型マウス由来 MEF では IL-7 発現が誘導されたが、FxxQ 由来 MEF では発現が誘導されなかった。さらに、末梢リンパ節の結合組織のみに STAT3 を欠損した Type1 collagen-Cre/STAT3$^{flox/flox}$（Col1a-ΔSTAT3）マウスよりリンパ節を調成し、in vitro で IL-6 刺激を行ったところ、対照群マウス由来リンパ節では IL-7 発現が増加したが、Col1a-ΔSTAT3 マウス由来リンパ節では増加が認められなかった。

④F759 マウス関節炎は IL-7 依存的に発症する。

NTx 施行 F759 マウスにおける CD4＋T 細胞の HP は IL-7 中和抗体により抑制され、生後２週目まで IL-7 中和抗体を投与した NTx 施行 F759 マウスは関節炎を発症しなかった。また、IL-7 受容体欠損 F759 マウスでは関節炎発症率が有意に低下していた。

以上から、F759 マウスは非造血系細胞において gp130-STAT3 経路依存的に IL-7 発現量が増加、CD4＋T 細胞の HP が亢進することにより、関節炎が発症することが明らかとなった。

このように、本研究は関節炎モデルマウスを用いて関節炎発症に果たす IL-6 の役割を解析し、免疫学的な新知見を得られたため、博士論文に値する。