

Title	IFN- $\gamma$ expression in CD8+ T cells regulated by IL-6 signal is involved in super antigen-mediated CD4+ T cell death
Author(s)	佐藤, 優江
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49982">https://hdl.handle.net/11094/49982</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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	佐 藤 優 江
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 2 7 2 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 21 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学 位 論 文 名	IFN- $\gamma$ expression in CD8 <sup>+</sup> T cells regulated by IL-6 signal is involved in super antigen-mediated CD4 <sup>+</sup> T cell death (CD8 <sup>+</sup> T 細胞における IL-6 シグナルによる IFN- $\gamma$ 発現制御はスーパー抗原による活性化 CD4 <sup>+</sup> T 細胞死に関与する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 平野 俊夫 (副査) 教 授 宮坂 昌之 教 授 竹田 潔

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

スーパー抗原は、T細胞抗原受容体 (TCR) のV $\beta$ 鎖に結合することにより、全CD4<sup>+</sup>T細胞の5-20%を活性化させる。活性化CD4<sup>+</sup>T細胞はIL-2、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ などのサイトカインを産生したのち、アポトーシスにより死滅する。スーパー抗原を含む細菌に感染した場合、毒素性ショックや食中毒、クローン病やI型糖尿病などの自己免疫疾患が生ずる可能性があることが報告されている。

我々の研究室では、IL-6のシグナル伝達分子gp130のノックインマウス (gp130F759マウス) を作成し、生後1年で関節リウマチを自然発症することを報告している。このgp130F759マウスは正常マウスと比較して、IL-6シグナルの恒常的な活性化と、顕著な活性化CD4<sup>+</sup>T細胞の蓄積が認められる。この活性化CD4<sup>+</sup>T細胞の蓄積の詳細なメカニズムは明らかでない。

本研究では、IL-6シグナルの恒常的な活性化により誘導される分子が活性化CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死を抑制しているのではないかと考え、スーパー抗原の1つであるStaphylococcal Enterotoxin B (SEB) による活性化CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死を指標にそのメカニズムの検討をおこなった。

〔 方法ならびに成績 〕

① 活性化CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死について、gp130F759、IL-6KO、野生型 (WT) マウスにSEBを投与し、CD4<sup>+</sup>細胞に占めるV $\beta$ 8CD4<sup>+</sup>細胞の割合の経時変化をFacsにて解析した結果、gp130F759マウスにおいてV $\beta$ 8CD4<sup>+</sup>細胞の細胞死の抑制が、IL-6KOマウスにおいてV $\beta$ 8CD4<sup>+</sup>細胞の細胞死の亢進が認められた。 ② IL-6シグナルによって制御されるV $\beta$ 8CD4<sup>+</sup>細

胞の細胞死に関与するエフェクター分子を同定するために、gp130F759、IL-6KO、WTマウスにSEB投与し、血清中の様々なサイトカイン量をELISAで測定した。その結果、WTと比較して、gp130F759マウスにおいて著しくIFN- $\gamma$ の産生が低下が認められ、逆にIL-6KOマウスにおいてIFN- $\gamma$ 産生が上昇していた。IFN- $\gamma$  KOマウスにSEBを投与した場合、WTマウスに比べてV $\beta$ 8CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死が抑制されていた。以上により、SEB投与後の血清中のIFN- $\gamma$ はIL-6シグナルの強度に反比例してその産生量が低下し、このIFN- $\gamma$ 産生低下により活性化V $\beta$ 8CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死が抑制されている可能性が示唆された。

③ MHC class-I KOマウスではSEBによるV $\beta$ 8CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死が抑制されていた。このことから、SEB刺激によってCD8<sup>+</sup>T細胞がIFN- $\gamma$ を産生しているのではないかと考え、gp130F759、IL-6KO、WTマウスにSEB投与後、CD8<sup>+</sup>T細胞を単離し、IFN- $\gamma$ のmRNAの発現をリアルタイムPCRにて比較した。その結果、WTマウス由来活性化CD8<sup>+</sup>T細胞に比べて、gp130F759マウス由来の活性化CD8<sup>+</sup>T細胞ではIFN- $\gamma$  mRNA発現が顕著に低下しており、逆にIL-6KOマウスにおいてはそれが上昇していた。次に、抗Gr-1抗体を投与によって活性化CD8<sup>+</sup>T細胞を除去し、その後SEB投与してV $\beta$ 8CD4<sup>+</sup>T細胞の割合を経時的に調べた。その結果、活性化CD8<sup>+</sup>T細胞除去により血清IFN- $\gamma$ 量が低下し、WTマウスとIL-6KOマウスではV $\beta$ 8CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死の抑制が認められた。以上により、SEB投与後、IL-6シグナルによる活性化CD8<sup>+</sup>T細胞からのIFN- $\gamma$ 産生の低下が活性化CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死を抑制していることが示唆された。④ IL-6がCD8<sup>+</sup>T細胞に作用してIFN- $\gamma$ 産生を制御するか検討するために、脾臓細胞をSEBとともにin vitroで培養し、IL-6存在下、非存在下においてCD8<sup>+</sup>T細胞からのIFN- $\gamma$ 産生を調べた。その結果、IL-6添加によりCD8<sup>+</sup>T細胞からのIFN- $\gamma$ 産生は顕著に抑制された。Lck-Cre トランスジェニックマウスと gp130<sup>fl $\alpha$</sup> マウスの組み合わせによってT細胞特異的にIL-6シグナルを欠損させた脾臓細胞を用いた場合には、このIL-6のIFN- $\gamma$ 産生における抑制効果は認められなかった。このことからIL-6はCD8<sup>+</sup>T細胞に作用してIFN- $\gamma$ 産生を抑制していることが示唆された。このin vitroの結果と一致して、T細胞特異的にIL-6シグナルを欠損させたLck-Cre gp130<sup>fl $\alpha$</sup> マウスにSEBを投与すると、WTマウスに比べて活性化CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死の亢進が認められた。

〔 総 括 〕

本研究により、In vivoにおいて、IL-6シグナルが活性化CD8<sup>+</sup>T細胞からのIFN- $\gamma$ 産生を抑制することにより、SEB刺激による活性化CD4<sup>+</sup>T細胞死を抑制していることを明らかにした。SEB刺激によるCD8<sup>+</sup>T細胞からのIFN- $\gamma$ 産生をIL-6が抑制する分子メカニズムについては、TCRシグナルの下流にあるシグナル伝達分子であるNFATあるいは副刺激分子CD28などが、IL-6シグナルによって発現誘導されるSOCS3によって阻害されるという報告があることから、TCRシグナル減弱によりIFN- $\gamma$ 産生が減少する可能性が考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

スーパー抗原は免疫学的な特異性と関係なく、T細胞レセプター (TCR) のV $\beta$ 8鎖に結合することによりT細胞を活性化することが知られている。スーパー抗原を有する細菌に感染した場合、異常なCD4<sup>+</sup>T細胞の活性化と細胞死が生じ、毒素性ショックや食中毒、自己免疫疾患が生ずることが知られている。

本研究では、IL-6シグナルがCD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死を制御する機序の解明をおこない、活性化CD8<sup>+</sup>T細胞におけるIL-6シグナルの亢進がIFN- $\gamma$ 産生を低下させ、IFN- $\gamma$ を介したSEB誘導性CD4<sup>+</sup>T細胞の細胞死を抑制している可能性を示した。

マウス生体内における、CD8<sup>+</sup>T細胞によるIL-6シグナルを介したIFN- $\gamma$ 制御によるCD4<sup>+</sup>T細胞死抑制機構を明らかにしたことにより、スーパー抗原に関連する症例や自己免疫疾患発症機序の解明につながる研究であり、これにより博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。