



Title	亜鉛による自己免疫疾患の抑制機構の解析
Author(s)	北林, 知佳
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/58519
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【76】

氏 名	北 林 知 佳
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学 位 記 番 号	第 24680 号
学位 授 与 年 月 日	平成 23 年 3 月 25 日
学位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学 位 論 文 名	亜鉛による自己免疫疾患の抑制機構の解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 平野 俊夫 (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 審良 静男 准教授 村上 正晃

論 文 内 容 の 要 旨

亜鉛は、微量必須ミネラルの一つであり、さまざまな酵素や転写因子の活性や構造を維持するのに必要な金属である。亜鉛は、免疫系や神経系にとって重要な働きを担っていて、亜鉛欠乏により免疫

能が低下することや味覚障害が起こる。亜鉛欠乏症のマウスモデルにおいて、末梢におけるTh1細胞とTh2細胞のバランスが崩れる。また、亜鉛は自己免疫疾患の発症に関与する。例えば、DSS誘導性腸炎モデルやStreptozotocin誘導性糖尿病モデルにて、亜鉛投与にて症状が軽減される。しかし、亜鉛が自己免疫疾患を抑制するメカニズムについて、その詳細な報告はされていない。このような背景のもと、私は、亜鉛とT細胞の関係に着目して、亜鉛が自己免疫疾患を抑制するメカニズムを解析した。

自己免疫疾患のモデルとして、コラーゲン誘導性関節炎 (CIA: collagen-induced arthritis) と実験的脳脊髄炎 (EAE: Experimental autoimmune encephalomyelitis) を用いて、以下の解析を行った。亜鉛を飲料水に添加し投与したマウスにCIAとEAEを誘導したところ、両自己免疫疾患ともその発症が軽減した。これらの疾患は、抗原特異的なTh17細胞に依存していることがわかっている。Th17細胞は、IL-17Aをはじめとするさまざまな炎症性サイトカインを産生し、自己免疫疾患の発症に関与する。EAEを抗原特異的なTh17細胞の移入により誘導する実験系では、亜鉛投与マウスでもコントロールマウスと同様に自己免疫疾患が発症した。そのため、亜鉛依存性に自己免疫疾患が抑制されるポイントは抗原特異的Th17細胞が出来上がる前の段階であることが示唆された。そこで、自己免疫疾患誘導後のヘルパーT細胞の各サブセットへの分化に対する亜鉛の影響を検討した。血清中のサイトカイン濃度や所属リンパ節でのT細胞の細胞内染色の結果から、亜鉛投与によりTh17細胞の分化のみが有意に減少した。これらの結果から、亜鉛はヘルパーT細胞のサブセットのうち、Th17細胞の分化を抑制することが示唆された。

Th17細胞への分化には、TGF-βとIL-6刺激がT細胞受容体の刺激とともに導入される必要がある。試験管内で、ナイーブCD4⁺T細胞をTh17細胞に分化誘導する培養系に亜鉛を添加して検討した。その結果、亜鉛処理により、Th17細胞への分化が抑制された。さらに、IL-6刺激によるSTAT3のリン酸化を検討したところ、亜鉛処理により、STAT3のリン酸化が阻害されることが明らかになった。IL-6が受容体に結合すると、gp130がJAKによりリン酸化され活性化する。STAT3は、SH2ドメインを介して、gp130にリクルートされ、JAKによるリン酸化を受ける。そこで、gp130およびJAKとSTAT3の結合に対する亜鉛の影響を検討した。その結果、亜鉛処理にてSTAT3のgp130への結合が阻害された。同様に、JAK2とSTAT3の結合も阻害された。しかし、gp130やJAK自身のリン酸化は、亜鉛処理を行っても抑制されなかった。これらのことから、亜鉛によりSTAT3とJAKやgp130との相互作用が阻害されることが明らかになった。

この亜鉛によるSTAT3の活性化阻害は、亜鉛がSTAT3に直接作用することを証明するために、ネイティプPAGEと円二色性偏光 (CD) スペクトルの測定を行い、STAT3の立体構造の変化を調べた。亜鉛を処理した細胞の溶解液をネイティプPAGEで泳動し、ウエスタンブロッティングで検出したところ、STAT3の泳動速度が亜鉛未処理のものに比べて速くなっていた。このことから、亜鉛の直接的な結合により、STAT3の立体構造が変化していることが示唆された。さらに、タンパク質の2次構造をより詳細に調べるためにCDスペクトルを測定したところ、亜鉛未処理の組換えSTAT3にてα-ヘリックス構造が減少した。以上の実験事実から、亜鉛はSTAT3に直接作用し、その立体構造を変化させていることが示唆された。

以上の結果から、亜鉛はSTAT3に直接結合して立体構造を変化させることにより、STAT3の活性化を阻害していることが分かった。IL-6によるSTAT3の活性化は、Th17細胞への分化に重要なステップであるため、Th17細胞依存的な自己免疫疾患の発症が抑制されることが明らかになった。このことから本研究により、亜鉛を介した自己免疫疾患の治療の可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者は、亜鉛が自己免疫疾患を抑制する機構を、亜鉛とT細胞の関係に着目して解析を行った。

まず、自己免疫疾患の動物モデルとしてコラーゲン誘導性関節炎を誘導し、それが亜鉛投与によって抑制されることを明らかにした。さらに、亜鉛投与マウスにおいて、Th17細胞の分化が抑制されていることを示した。そして、試験管内の実験からも、亜鉛によりTh17細胞の分化が抑制され、さらにIL-6刺激によるSTAT3のリン酸化が抑制されることを明らかにした。また、CDスペクトルの解析から、亜鉛によりSTAT3のαヘリックス構造が変化することを示した。

以上の実験結果から、申請者は、亜鉛がSTAT3の立体構造を変化させ、STAT3の活性化を阻害していることを示した。さらにIL-6によるSTAT3の活性化は、Th17細胞への分化に重要なステップであるため、Th17細胞依存的な自己免疫疾患の発症が抑制されることを明らかにした。このことから、亜鉛を介した自己免疫疾患の治療の可能性が示唆された。申請者は、本論文により自己免疫疾患の治療に有用な知見を提供し、審査の結果、学位に値するものと認める。