

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 中嶋 明子

本論文は2章からなり、IL-1レセプターアンタゴニスト(IL-1Ra)遺伝子欠損マウスで発症する炎症性疾患について、第1章では、TNF $\alpha$ 、IL-6のサイトカイン遺伝子欠損マウスならびにSCIDなど免疫不全モデルマウスを用いて、関節リウマチ様の慢性関節炎の発症機構に關与するサイトカインの役割と発症を惹起する細胞種について述べ、第2章では、同じく各種遺伝子欠損マウスを用いて、尋常性乾癬様の慢性皮膚炎の発症機構に關与するサイトカインの役割と発症を惹起する細胞種について述べている。また、その前後に緒言および参考論文の記載がなされている。

論文申請者はまず、IL-1Ra遺伝子欠損マウス(IL-1Ra KO)における慢性関節炎と自己免疫について検討した。その結果、IL-1Ra KOマウスで発症した慢性関節炎の発症惹起細胞は、骨髓細胞移植とT細胞移植の結果からCD4陽性T細胞であり、CD8陽性T細胞やT細胞を除去した脾臓細胞などの關与は認められなかった。また、骨髓細胞移植の結果から、ドナー細胞におけるIL-1Raの欠損が病態惹起に重要であることを明らかにした。さらに、IL-1Ra欠損SCIDマウスを作製し、関節炎が発症しないことを見出した。参考論文でIL-1Ra KOマウスの末梢CD4陽性T細胞が恒常的に活性化していることを示し、慢性関節炎の発症機構にはIL-1Raの欠損により、IL-1シグナルが亢進することでT細胞の活性化を促進し、四肢関節に炎症と骨破壊を惹起することがわかった。

次に、IL-1Ra KOマウスにおける慢性関節炎発症に關与するサイトカインについて、TNF $\alpha$ 、IL-6遺伝子欠損マウスとIL-1Ra KOマウスを交雑してそれぞれの二重遺伝子欠損マウス(IL-1Ra x TNF $\alpha$  KO、IL-1Ra x IL-6 KO)を作製し、関節炎発症について検討している。その結果、IL-1Ra x IL-6 KOマウスでは発症時期や初期の重症度には、有意差が認められなかったが、最終発症率や加齢後の重症度は増悪化していた。これに対し、IL-1Ra x TNF $\alpha$  KOマウスでは関節炎は全く発症しなかった。この結果、TNF $\alpha$ が関節炎発症に必須であることがわかった。さらに、骨髓細胞移植・T細胞移植の結果からT細胞におけるTNF $\alpha$ 産生が重要であることがわかった。

以上の結果から、IL-1Ra KOマウスにおける関節炎発症は、CD4陽性T細胞を原因細胞としてTNF $\alpha$ を介した自己免疫である可能性を示唆している。

さらに論文申請者は、IL-1Ra KOマウスにおける慢性皮膚炎の発症機構について検討している。まず、外観所見と耳介ならびに尾部の罹患部位の病理切片からヒト尋常性乾癬ならびに膿疱性乾癬との類似点を見出した。そこで、前章の関節炎と同様に細胞移植、

サイトカイン欠損マウスとの交雑による原因細胞と疾患関連サイトカインの解析を試みた。その結果、IL-1Ra x IL-6 マウスでは、発症時期、重症度ともに増悪化していた。これに対し、IL-1Ra x TNF\_ KOマウスでは、完全に抑制された。したがって、関節炎の発症パターンと類似性があることがわかった。また、慢性皮膚炎の発症にもTNF\_が必須であることが示された。

次に、細胞移植から原因細胞の割り出しを試みた結果、IL-1Ra KOマウスで発症した皮膚炎の発症惹起細胞は、レシピエント表皮角化細胞におけるIL-1Ra遺伝子の欠損が重要であり、血球系細胞の関与は認められなかった。また、骨髄細胞移植の結果から、ドナー細胞がIL-1Ra とTNF\_ を欠損していてもレシピエントにIL-1Ra KOマウスを用いると重症病態が惹起されることから、TNF\_の供給源もレシピエント皮膚の細胞であることを明らかにした。さらに、IL-1Ra欠損SCIDマウスを作製し、皮膚炎がIL-1Ra KOマウスと同程度に発症することを見出した。この結果から、慢性皮膚炎ではIL-1Raの欠損により、IL-1シグナルが亢進することで角化細胞の活性化を促進し、増殖と分化異常をもたらし、T細胞非依存的な発症機構を有することを示した。

尋常性乾癬の発症機構は未だ解明されていないため、他の乾癬モデルとヒトの乾癬病態における知見との比較を行うために、IL-1Ra KOマウスの罹患部位の表皮ならびに初代培養角化細胞におけるIL-1 刺激後の疾患関連サイトカイン・ケモカインの発現を解析した。その結果、ヒト乾癬病態と同様、TNF\_、IL-1\_、IL-1\_、CXCL1、CXCL2、CXCL10、CCL20 などの発現が亢進していることがわかった。さらに、STAT3 の活性化が乾癬病態の形成に関与していることが知られているので、IL-1Ra KOマウス罹患部位のSTAT3 の発現と活性化について、免疫組織化学により評価した。その結果、IL-1Ra KO、IL-1Ra x IL-6 KOマウスの罹患部角化細胞で、活性化型STAT3 の核内移行が認められた。

以上、本研究により、関節リウマチ様病態と乾癬様病態の形成にはIL-1 シグナルが重要な役割を担っており最終局面でTNF\_が必須となっていること、その原因細胞が病態によって異なることが初めて明らかとなり、一遺伝子欠損による病態モデルに様々な可能性が示された。今後、このマウスがこれらの疾患の治療の標的細胞探索ならびに創薬開発に大きく貢献することが期待される。

尚、本論文において関節炎の研究は宝来玲子らとの共同研究で、乾癬様皮膚炎の研究は松木大造、小宮根真弓、朝比奈昭彦、須藤カツ子、宝来玲子、岩倉洋一郎との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断した。

したがって、博士（獣医学）の学位を授与できると認める。