

## 審査の結果の要旨

氏名 山口 優美

本研究は、IL-17 ファミリーの自己免疫性関節炎に対する影響を明らかにするため、レトロウイルスベクターシステムによる遺伝子導入法を用いて IL-17 ファミリー骨髄キメラマウスを作製し、これらにコラーゲン誘発性関節炎 (CIA) を誘導することで、関節炎進展効果を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 関節リウマチ (RA) のモデルマウスとして、CIA マウスを用いた。まず、定量的 PCR にてマウスの炎症肢での IL-17 ファミリーおよび IL-17 レセプター発現を測定したところ、IL-17 ファミリー (IL-17A、IL-17B、IL-17C、および IL-17F) の mRNA 発現がコントロールに比し約 100 倍高く、IL-17 レセプター (IL-17AR、IL-17Rh1) も同様に高かった。これらより、関節炎において IL-17 ファミリーがある種の正のフィードバック機構に関与することが示唆された。

2. CIA マウスの炎症肢に集積した各種細胞群での IL-17 ファミリーの発現を定量的 PCR にて検討した。CD4 陽性 T 細胞においては IL-17A および IL-17F の発現が有意に高く、IL-17B は CIA マウスの炎症軟骨組織にのみ強く発現を認め、一方で、IL-17C は CD4 陽性 T 細胞、マクロファージおよび樹状細胞といった、幅広い細胞群において発現を認めた。これらの結果より、関節炎の炎症局所において CD4 陽性 T 細胞が IL-17 ファミリー、特に IL-17A、IL-17C、および IL-17F を発現することが示唆された。

3. 次に、*in vitro* でマウス線維芽細胞株 (3T3) およびマウス腹腔マクロファージ (PECs) に対する IL-17 ファミリーの影響を調べた。3T3 では、IL-17A は IL-1 $\beta$  および IL-6 の mRNA レベルでの発現を有意に亢進させ、IL-17B、IL-17C、および IL-17F もまた、IL-1 $\beta$  の発現を亢進させた。PECs においては、IL-17A は IL-1 $\beta$ 、IL-6、および IL-23 の mRNA レベルでの発現を有意に亢進させ、興味深いことに、IL-17B もまた IL-1 $\beta$ 、IL-6、および IL-23 の発現を、IL-17C は IL-1 $\beta$  および IL-23 の発現を有意に亢進させた。さらに、PECs 上清では、IL-17A および IL-17B を添加した場合に IL-6 蛋白産生が有意に増加し、TNF- $\alpha$  蛋白産生においては IL-17A、IL-17B、IL-17C、および IL-17F いずれを添加した場合

でもコントロールに比し有意に高値を示した。これらの結果より、*in vitro*において IL-17A、IL-17B、IL-17C、および IL-17F は線維芽細胞やマクロファージに作用して、炎症性サイトカインの産生を亢進させることが示唆された。

4. *In vivo*でレトロウイルスベクターシステムを用いた遺伝子導入により IL-17 ファミリーを過剰発現させた脾臓由来の CD4 陽性 T 細胞を、ウシⅡ型コラーゲンで免疫したマウスに関節炎発症前に養子移入した結果、関節炎スコアおよび病理組織学所見からも明らかな症状増悪を認めた。また、これらのマウスの血清で抗Ⅱ型コラーゲン抗体価を測定したところ、いずれもコントロールと同程度に上昇しており、IL-17 ファミリーによる関節炎の増悪は、抗Ⅱ型コラーゲン抗体を介さない反応であることが示唆された。

5. 同システムを用いて、マウス骨髄前駆細胞に IL-17 ファミリー (IL-17A、IL-17B、IL-17C、および IL-17F) を遺伝子導入し、これらの細胞を放射線照射したレシピエントマウスに静脈注射することで、骨髄キメラマウスを作製した。これらのマウスに CIA を誘導し、その発症率および関節炎スコアを評価した。IL-17A および IL-17F の骨髄キメラマウスに CIA を誘導したところ、コントロールに比し関節炎の早期発症と関節炎スコアの悪化を認めた。また、IL-17B および IL-17C の骨髄キメラマウスに CIA を誘導したところ、興味深いことに、関節炎発症率に有意な差は見られなかったものの、関節炎の悪化を有意に認めた。このことより、IL-17B および IL-17C は関節炎を発症する *induction phase* よりも、むしろ滑膜増殖、炎症細胞浸潤および骨破壊を来たす *effector phase* に働いていることが示唆された。さらに、これらのマウスにおける血清 TNF- $\alpha$  および IL-6 の蛋白産生を ELISA 法にて測定したところ、TNF- $\alpha$  産生は IL-17B、IL-17C、および IL-17F 骨髄キメラマウスにおいてコントロールに比し有意な増加を認め、IL-6 産生は IL-17A および IL-17B 骨髄キメラマウスで有意な増加を認めた。以上の結果より、IL-17B および IL-17C は過剰発現によりマクロファージなどからの TNF- $\alpha$  産生を誘導することで、関節炎の悪化に対して影響を及ぼしている可能性が示唆された。

以上、本論文は、IL-17 ファミリーの自己免疫性関節炎に対する影響を明らかにした。本研究は、これまで知られていなかった、IL-17A 以外の IL-17 ファミリー (IL-17B、IL-17C、および IL-17F) も関節炎の悪化に関与することを示し、今後の RA 治療における抗サイトカイン療法などの分子標的治療の研究・開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。