

笹井（水鳥）有美子 論文内容の要旨

主 論 文

Adenovirus encoding the thyrotropin receptor A-subunit improves the efficacy of dendritic cell-induced Graves' hyperthyroidism in mice.

(TSH 受容体 A サブユニットをコードしたアデノウイルスによる樹状細胞マウスバセドウ病モデルの改善)

水鳥有美子、斎藤巨樹、江口勝美、永山雄二

(Journal of Autoimmunity・26 巻 1 号 32 - 36 2006 年)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻

(主任指導教員：江口勝美教授)

緒 言

全長の甲状腺刺激ホルモン受容体 (thyrotropin receptor, TSHR) をコードしたアデノウイルス (AdTSHR) を感染させた、樹状細胞 (dendritic cells, DC) によるバセドウ病モデルマウスについては喜多・古山らが以前に報告している (Clin Exp Immunol. 131: 234, 2003) が、発症率は 37% と低率であった。TSHR の細胞外領域である、A サブユニットをコードしたアデノウイルス (AdTSHR289) を用いて、樹状細胞によるバセドウ病モデルの発症率を改善できるかを検討した。

対象と方法

BALB/c マウスの骨髄細胞を granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), interleukin (IL)-4 存在下にて 7 日間培養し、得られた未熟な樹状細胞 (CD11c 陽性、CD86 低値) に AdTSHR を感染させた。感染 24 時間後に BALB/C マウスに同樹状細胞 (DC-TSHR289) 1×10^5 又は 1×10^6 個を腹腔内投与した。同様に 3 週間間隔で合計 3 回の投与を行った。3 回目の腹腔内投与 2 週間後に採血、安楽死させた。又その際、甲状腺を摘出し H&E 染色にて観察した。

血清 thyroxine (T_4) を radioimmunoassay (RIA) にて測定し、コントロール群の平均値 + 3SD 以上をバセドウ病発症と判断した。FRTL5 細胞からの cAMP を RIA にて測定し血清 thyroid stimulating antibody (TSAb) を求めた。血清抗 TSHR 抗体は、TSH-binding inhibiting antibody (TBIAb) assay、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)、TSHR 発現 Chinese hamster ovary (CHO) 細胞を用いた FACS にて測定した。

結 果

DC-TSHR289 を 1×10^6 投与した BALB/c マウスのうち、10 匹中 7 匹 (70%) がバセドウ病を発症した。 1×10^5 投与した群では発症は見られなかった。血清 TSAb の値と T_4 の値には正の相関が見られた ($r = 0.80$, $p = 0.004$)。他の TSHR 抗体では T_4 との相関は明らかではなかったが、免疫したマウスの多くで抗体価の高値を認めた。抗 TSHR 抗体は IgG1 と IgG2a のサブクラスが共に検出され、同モデルにおいて T

helper type 1 (Th1), Th2 の両方の免疫反応の関与が考えられた。バセドウ病を発症していたマウスの甲状腺は、肉眼的に腫大しており、組織学的には甲状腺濾胞細胞の肥厚と乳頭状増殖が見られたがリンパ球の浸潤は見られなかった。

考 察

TSHR をコードしたアデノウイルスを筋注するマウスバセドウ病モデルにおいて、発症率は全長の TSHR (AdTSHR) を用いた場合 50~60%、細胞外領域の A サブユニット (AdTSHR289) を用いた場合 60~80%であった。また、前者は発症までに 3 回の免疫が必要で 8 週間かかるのに対し、後者は 2 回の免疫で 5 週間ですむという利点が見られた。このことは、全長の TSHR と比べ A サブユニットの方がより抗原性が高く、TSAb を誘導しやすいという報告(J. Clin. Invest. 110, 2002)とも一致する。

また、樹状細胞バセドウ病モデルにおいて、樹状細胞を LPS 処理したところ発症率に変化は見られなかった (未発表データ)。これは、アデノウイルス感染自体が樹状細胞の成熟を促す為、LPS によるそれ以上の効果が期待できない為と推察された。

強力な抗原提示細胞である樹状細胞を免疫調節性分子等で直接操作できるという点で、樹状細胞によるバセドウ病モデルは秀でていますが、従来 AdTSHR を用いた方法ではバセドウ病発症率は 37%と低率であった。今回、同モデルにおいても AdTSHR289 を用い 70%と非常に高い発症率で改善を得られたことは、今後のバセドウ病発症機構の解明の為に役立つものと思われた。