

中原 麻美 論文内容の要旨

主 論 文

Enhanced response to mouse thyroid-stimulating hormone (TSH) receptor immunization in TSH receptor-knockout mice.

TSHレセプターノックアウトマウスにおける
TSHレセプターに対する免疫反応の増強

中原麻美、光武範史、坂本光、Chun-Rong Chen、
Basil Rapoport、Sandra M. McLachlan、永山雄二

(Endocrinology. 151 巻 8 号 4047-4054, 2010 年)

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 放射線医療科学 専攻
(主任指導教員：永山雄二 教授)

【背景】

当研究室では、自己抗原であるTSHレセプター(TSHR)を発現するアデノウイルスでBALB/cマウスを免疫することにより、抗TSHR抗体価やfree T4値が上昇するバセドウ病モデルを作製して病態解析研究を行ってきた。しかし免疫に使用してきたのはヒト由来のTSHRであり、ヒト(h)TSHRとマウス(m)TSHRの相同性は約87%であるため、hTSHRによって誘発された免疫現象が完全に「自己」免疫であるかどうか疑問であった。そこで今回、野生型(wt) BALB/c・C57BL/6 (B6)マウス及びTSHRノックアウト(KO) BALB/cマウスをhTSHRまたはmTSHRで免疫することにより、その免疫反応性を比較検討した。

【方法】

hTSHR A-subunitを発現するアデノウイルス(Ad-hTSHR289)は以前作製した(JCI. 111:1897, 2003)。mTSHR A-subunitを発現するアデノウイルス(Ad-mTSHR289)は既報に従い作製した。TSHR KO BALB/cマウスは、TSHR KO B6マウス(PNAS. 99:15776, 2002)をwt BALB/cマウスに6回戻し交配して作製した。wt BALB/cマウス、wt B6マウス及びTSHR KO BALB/cマウスにAd-hTSHR289もしくは Ad-mTSHR289を用いて2回免疫を行った。抗CD25抗体(PC61)は、1回目の免疫の4日前に1匹あたり500 µg腹腔内投与した。バセドウ病の評価は2回目免疫2週間後に採血し、TSHRに対する抗体、free T4を測定することにより行った。Free T4値の測定はラジオイムノアッセイにより行った。TSHRに対する抗体は2種類の方法で測定した。1つは、TSHRを発現するCHO

細胞にマウス血清を加え、FITC標識抗マウスIgG 抗体を添加してフローサイトメトリーにて抗体価を測定する方法 (TRAb) で、もう 1 つは、TSHRを発現するCHO細胞をマウス血清で刺激し、血清中の抗体による刺激により産生されたcAMPをラジオイムノアッセイにて測定する方法 (刺激型抗体 (TSAb)) である。

【結果】

wt BALB/cマウスをAd-hTSHR289で免疫すると、従来の報告通りTRAbやTSAb、free T4値の上昇を認めた。一方、wt BALB/cマウス及びwt B6マウスをAd-mTSHR289で免疫すると、TRAb及びFree T4値の上昇を認めなかった。組織学的にはwt B6マウスに非常に軽度のリンパ球浸潤を認めたのみであった。そこで制御性T細胞を除去する目的でPC61を投与して免疫を行ったが、やはりTRAb及びFree T4値の上昇を認めなかった。以上より、wtマウスではmTSHRに対する非常に強い免疫寛容の存在により免疫反応を誘発できなかったと考えられた。そこでTSHR KO BALB/cマウスに対して、同様にAd-mTSHR289もしくはAd-hTSHR289で免疫を行った。その結果Ad-mTSHR289で免疫したマウスにおいては、マウス及びヒトTSHRに対するTRAb価、TSAbの上昇が確認された。またAd-hTSHR289免疫マウスにおいては、wtマウスに比較して免疫反応の増強が認められた。このことから、自己抗原を持たないTSHR KO BALB/cマウスでは免疫寛容が回避され、免疫反応が誘発できたと考えられた。

また、Ad-hTSHR289でwt BALB/c マウスを免疫することで誘導された抗体は、mTSHRを発現するCHO細胞を用いてTRAb測定の結果、mTSHR に対して有意な結合を認めなかった。しかし、TSAb測定においてはhTSHRのみならずmTSHRも刺激した。

【結論】

- (1) hTSHR とmTSHRの相同性は87%と高いが、Ad-hTSHR289でマウスを免疫する従来のモデルは、「自己」免疫という意味では不完全だったと考えられる。自己抗原を持たないTSHR KOマウスをAd-mTSHR289で免疫することでよりバセドウ病患者に近い自己免疫反応が誘導されたと考えられる。
- (2) wt BALB/c マウスをAd-hTSHR289免疫することにより誘導された抗体は、そのうちのごく一部がmTSHRに交叉反応し、甲状腺機能亢進を誘発していたことが示唆される。