

Title	Co-activation of macrophages and T cells contribute to chronic GVHD in human IL-6 transgenic humanised mouse model( Abstract_要旨 )
Author(s)	Ono, Rintaro
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2020-01-23
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k22147">https://doi.org/10.14989/doctor.k22147</a>
Right	DOI : 10.1016/j.ebiom.2019.02.001
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医学）	氏名	小野 林太郎
論文題目	Co-activation of macrophages and T cells contribute to chronic GVHD in human IL-6 transgenic humanised mouse model マクロファージと T 細胞の活性化により慢性 GVHD を発症した、hIL-6 遺伝子導入ヒト化マウスモデル		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】移植片対宿主病 (GVHD) は移植成績の向上した現在でもなお重要な合併症であり、その病態生理は未だ不明な点が多く、ステロイド抵抗例への治療法も定まっていない。【方法】高度免疫不全マウスである NSG マウスにヒト IL-6 遺伝子を BAC トランスジェニックマウス法により遺伝子導入することにより、ヒト IL-6 を過剰発現させた hIL-6 Tg NSG マウスを作成した。これらの新生仔マウスに純化したヒト造血幹細胞を移植し、ヒト化マウスを作成した。【結果】ヒト造血幹細胞を移植した hIL-6 Tg NSG マウスでは、B 細胞、T 細胞、NK 細胞、Myeloid 細胞をはじめとした様々なヒト免疫細胞の分化を認めた。しかしこれらのマウスを長期間観察すると、脱毛、活動量低下といった症状が見られるようになり、最終的には致死的となった。これらのマウスの皮膚組織を観察したところ、HE 染色では表皮の肥厚や、表皮真皮境界に interface dermatitis を認めた。また、毛包の減少や、真皮における脂肪細胞の減少も認められた。免疫染色では皮膚炎症部位における T 細胞の浸潤が観察された。一部のマウスでは、真皮の線維性・硬化性変化を認めた。次に肺・肝臓を調べたところ、これらの臓器においても T 細胞ならびにマクロファージの浸潤を認め、炎症性変化を呈していた。一部マウスでは細気管支の閉塞や門脈域の線維化といった慢性炎症性変化を示唆する所見も認められた。経過、ならびに組織学的所見より、これらのマウスは慢性 GVHD に類似した症状を呈していると考えられた。次に、以前の報告をもとに急性 GVHD モデルヒト化マウスを作成し、慢性 GVHD マウスと比較したところ、両者ともに病変組織では T 細胞の浸潤を認めた一方、慢性 GVHD マウスではマクロファージの浸潤が特徴的であった。血漿中のサイトカインの解析では、急性 GVHD マウスが IFN-<math>\gamma</math>、IL-17A、IL-2Ra といった T 細胞関連のサイトカイン高値が主であったのに対し、慢性 GVHD マウスはそれらに加え、IL-12p40 や IL-18、M-CSF といったマクロファージやミエロイド系細胞が主に産生するサイトカインの上昇も認めていた。次に急性 GVHD マウスと慢性 GVHD マウスから得られたヒト T 細胞と、マウスケラチノサイトにおける遺伝子発現の比較を RNA sequencing により施行した。その結果、宿主側のマウスケラチノサイトにおける遺伝子発現は急性 GVHD と慢性 GVHD で大きな違いは見られなかったが、T 細胞における遺伝子発現パターンは大きく異なっていた。具体的に、慢性 GVHD ヒト化マウスでは、TGF-<math>\beta</math> や SMAD3 関連シグナルの発</p>			

現亢進が特徴的であった。また、TCR レパトアの比較検討を行ったところ、急性 GVHD マウスでは多様性が低く、数種類の T 細胞クローンが増加していた。一方慢性 GVHD マウスでは正常人と比べて TCR レパトアに偏りを認める傾向であるものの、急性 GVHD マウスと比べ多様性を認めた。【結論】この新しいモデルにより、急性 GVHD と慢性 GVHD では、浸潤する免疫担当細胞の種類や組織所見が大きく異なることが示された。慢性 GVHD 発症には IL-6 の過剰産生を起点とした Treg の減少とマクロファージの活性化が重要な役割を担っている可能性がある。これらの慢性 GVHD ヒト化マウスモデルの活用により、病態理解のさらなる向上が期待される。

(論文審査の結果の要旨)

移植片対宿主病 (GVHD) の病態は不明な点が多く残されており、ステロイド抵抗例への治療法も定まっていない。本研究では、免疫不全マウスにヒト IL-6 遺伝子を過剰発現させた hIL-6 Tg NSG マウスを作成し、ヒト造血幹細胞を移植することで、慢性 GVHD に類似した病態が再現されることを示した。次に、既報を参考に急性 GVHD ヒト化マウスを作成し、これらの慢性 GVHD マウスと比較した。急性 GVHD では浸潤細胞の大部分が T 細胞であり、血漿中のサイトカインも T 細胞に関連するものが上昇しており、TCR レパトアは高度に偏っていた。一方慢性 GVHD では、T 細胞に加え、マクロファージの浸潤が特徴的であった。サイトカインは、T 細胞関連のものだけでなく、マクロファージやミエロイド系細胞が主に産生するサイトカインも高値であった。TCR レパトアは急性 GVHD と比べ、多様性が保たれていた。T 細胞の遺伝子発現では、慢性 GVHD では T 細胞の活性化のみならず、TGF- $\beta$  や SMAD3 関連シグナルも発現が亢進していた。

本研究結果は、hIL-6 Tg NSG マウスが慢性 GVHD のモデルとして有用である可能性、ならびに、慢性 GVHD の発症に IL-6 を起点とした炎症シグナルが重要である可能性を示した。

以上の研究は慢性 GVHD の発生機序・病態の解明に貢献し、今後の慢性 GVHD 治療の向上に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和元年 11 月 15 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降