

氏 名	さい じょう み さ 西 條 美 佐
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2679 号
学位授与の日付	平 成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Generation of a transgenic animal model of hyperthyroid Graves' disease (甲状腺機能亢進を呈するグレーブス病モデル動物の作製とその研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 清 野 裕 教 授 北 徹 教 授 中 尾 一 和

論 文 内 容 の 要 旨

Graves' disease (GD) は、抗 TSH レセプター刺激抗体 (anti-TSH receptor stimulating autoantibody) (TSAb) が、TSH receptor に対してアゴニスト作用を有することによって誘因される組織特異的な自己免疫疾患であるが、その TSAb の産生機序、発症にいたる機序は明らかにされていない。

既に、GD 患者血清由来 TSAb 産生 clone が、*in vivo*, *in vitro* での TSAb 活性を有することが検証され、さらに genomic DNA から、免疫グロブリン遺伝子の H 鎖、L 鎖を単離、解析し、塩基配列が決定されている。本研究では、GD の発症機序を解明するため、この免疫グロブリンの promoter, enhancer 領域をふくむ H 鎖の VDJ (3.7kb), C μ (4.7kb) と L 鎖 (5.7kb) を tandem に連結し、C57B/6NCrj mouse に導入した TSAb-transgenic mouse (TSAb-Tg マウス) を作製、内分泌学的及び免疫学的検討を行った。以下の検討は conventional condition 下で維持した TSAb-Tg マウスを用いて検討した。

I. 内容内分泌学的検討

TSAb-Tg マウスと非 Tg マウスの血清中の free thyroxine [FT4] と thyrotropin [TSH] を測定し、TSAb-Tg マウスにおいて有意な FT4 の上昇、TSH の抑制もしくは低下を認めた。TSAb-Tg マウスでは TSAb と FT4 の有意な相関を認めた ($P < 0.001$)。 ^{99m}Tc pertechnetate シンチグラフィーにおいて、TSAb-Tg マウスは非 Tg マウスに比較して、有意に高い取り込みを示した ($P < 0.01$)。さらに、TSAb-Tg マウスでは、甲状腺濾胞細胞の過形成、血管の増生が見られた。また、基礎体温においても、TSAb-Tg マウスは非 Tg マウスに比較して、有意な上昇を示した ($P < 0.05$)。以上、TSAb-Tg マウスが甲状腺ホルモンの産生増加による甲状腺機能亢進症を発症していることが示された。

II. 免疫学的検討

全リンパ球数における B 細胞数の割合の末梢血中での著明な減少、腹腔内での著明な増加を認め、マウス腹腔内の B 細胞数の増加に平行して、腹腔内 B1 細胞数の増加が認められた。さらに、正常甲状腺機能を呈する TSAb-Tg マウスへのリボポリサッカライドの経口投与によって、甲状腺機能の亢進、末梢 B 細胞数の増加、腹腔内 B 細胞数の減少を認めた。

以上、GD のモデル動物としての TSAb-Tg マウスの妥当性が強く示唆された。さらに、TSAb-Tg マウスにおいて、自己免疫疾患における自己寛容の特徴の一つである自己反応性 B 細胞の除去 (clonal deletion) が部分的に起こっている可能性、腹腔内の B (B1) 細胞と自己抗体の産生の関連性が示唆された。また、甲状腺機能亢進の程度が個体によって様々であり、specific pathogen free で獲得した TSAb-Tg マウスでは TSAb が存在するものの、甲状腺機能亢進が認められなかった。以上の結果より、TSAb-Tg マウスは自己抗体の産生以外に、感染などによる環境因子によって発症が引き起こされる可能性が考えられ、腹腔内に存在する B1 細胞が、自己抗体産生と関連が深いことが示唆された。

本研究で作製した TSAb-Tg マウスは、GD の発症機序や環境因子との関連を解明するために極めて有用なモデル動物になると考えられる。

論文審査の結果の要旨

Graves' disease (GD) は、抗 TSH レセプター刺激抗体 (anti-TSH receptor stimulating autoantibody) (TSAb) が、TSH receptor に対してアゴニスト作用を有することによって誘因される組織特異的な自己免疫疾患であるが、その TSAb の産生機序、発症にいたる機序は明らかにされていない。

本研究では、GD の発症機序を解明するため、GD 患者由来 TSAb 産生由来の promoter, enhancer 領域をふくむ H 鎖と L 鎖を連結し、C57B/6NCrj mouse に導入した TSAb-transgenic mouse (TSAb-Tg マウス) の作製が行われた。

内容分泌学的検討には、TSAb-Tg マウスと非 Tg マウスと較べて、血清中の free thyroxine [FT4] の上昇, thyrotropin [TSH] の抑制、もしくは低下、^{99m}Tc pertechnetate シンチグラフィーにおける有意に高い取り込みを認め、さらに、甲状腺濾胞細胞の過形成、血管の増生が見られた。以上、TSAb-Tg マウスが甲状腺ホルモンの産生増加による甲状腺機能亢進症を発症していることが示された。

免疫学的検討では、全リンパ球数における B 細胞数の割合の末梢血中での著明な減少、腹腔内での著明な増加を認め、マウス腹腔内の B 細胞数の増加に平行して、腹腔内 B1 細胞数の増加が認められた。さらに、正常甲状腺機能を呈する TSAb-Tg マウスへのリボポリサッカライドの経口投与によって、甲状腺機能の亢進、末梢 B 細胞数の増加、腹腔内 B 細胞数の減少を認めた。

以上、GD のモデル動物としての TSAb-Tg マウスの妥当性が強く示唆された。さらに、TSAb-Tg マウスにおいて、自己免疫疾患における自己寛容の特徴の一つである自己反応性 B 細胞数の除去 (clonal deletion) が部分的に起こっている可能性、腹腔内の B (B1) 細胞と自己抗体の産生の関連性が示唆された。以上の研究は GD の発症機序や環境因子の解明に貢献し、ひいては治療薬の発展に寄与するところが多い。従って、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、平成16年1月7日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められた者である。