

## Th17 / Th1 / Th2細胞優位発現マウスを用いた免疫複合体腎炎の病態解析

著者	楊 景堯
著者別名	Yoh Keigyou
発行年	2013
その他のタイトル	Analysis of T helper (Th) cell responses in immune complex nephritis with Th1/Th2/Th17 dominant mice
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/120958">http://hdl.handle.net/2241/120958</a>

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 1 日現在

機関番号：12102

研究種目：基礎研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590876

研究課題名（和文）Th17/Th1/Th2細胞優位発現マウスを用いた免疫複合体腎炎の病態解析

研究課題名（英文）Analysis of T helper (Th) cell responses in immune complex nephritis with Th1/Th2/Th17 dominant mice

研究代表者

楊 景堯 (YOH KEIGYOU)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：90323302

研究成果の概要（和文）：

本研究は、免疫複合体腎炎におけるヘルパーT細胞の役割を解明することを目的に、研究代表者がすでに作製したTh1細胞優位発現マウス、Th2細胞優位発現マウスと新たに作製したTh17細胞優位発現マウスを用いて免疫複合体腎炎を誘導し検討した。免疫複合体腎炎モデルのbovine serum albumin腎炎をそれぞれのマウスに誘導した結果、Th17細胞優位発現マウスは他のマウスと比較し、重篤な腎炎所見を呈し、免疫複合体腎炎に病態形成におけるTh17細胞の重要性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

To clarify the roles of helper T cell in immune complex glomerulonephritis, we induced experimental immune complex glomerulonephritis in Th1/2/17 dominant transgenic mice. Th17 dominant transgenic mice showed higher volume of proteinuria than other mice, and developed crescentic glomerulonephritis. These results suggested that Th17 might play an important role in the development of immune complex glomerulonephritis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：腎臓内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：腎臓学・Th17細胞

## 1. 研究開始当初の背景

自己免疫疾患などにおける免疫複合体腎炎の発症メカニズムについて、ヘルパーT細胞の役割は、まだ不明な点が多く、特にTh17細胞に関する知見はまだ乏しい。ヘルパーT細胞はTh1細胞、Th2細胞、Th17細胞に分類されている。90年代よりTh1/Th2に関する研

究が盛んに行われ、免疫複合体腎炎におけるTh1/Th2の関わりも多くの方面から進められてきた。2005年ごろより、Th17細胞の概念が認知されるとともに、Th17に関連する研究は急激に増加した。しかし、腎疾患に関連する研究は少なく、自己免疫疾患に関するTh17関連研究も疾患病態の解明につながるよう

な研究は、まだ少ない。研究代表者は、これまで、Th1、Th2 細胞優位発現マウスをすでに作製済みであったが、本研究では、あらたに Th17 細胞優位発現マウスを作製し、Th1、Th2 細胞優位発現マウスの 3 系統同時に免疫複合体腎炎を誘導し、検討する研究を試みた。

## 2. 研究の目的

本研究では、Th1 細胞、Th2 細胞、および Th17 細胞優位発現マウスを用いて免疫複合体腎炎の発症におけるヘルパー T 細胞の役割について、解明することを目的とする。本研究は Th17/Th1/Th2 細胞と腎炎についての検討だけでなく、Th17/Th1/Th2 関連研究に新たな知見を提供することが期待されるほか、転写制御と疾病発症の関わりを解明する研究としても、意義ある研究である。

## 3. 研究の方法

研究代表者は所有する C57BL/6 系の Th1 細胞優位発現マウス (T-bet マウス)、Th2 細胞優位発現マウス (GATA-3 マウス)、および新たに作製に成功した Th17 細胞優位発現マウス

(ROR $\gamma$ t マウス) と野生型 (WT) マウスに免疫複合体腎炎モデルの BSA 腎炎を誘導し、腎炎の発症・進展におけるヘルパー T 細胞の関与を検討した。

腎炎誘導方法：

1) 0.2mgBSA (アジュバンド) を 2 週ごとに皮下注射し、合計 4 回施行し、前感作を行った。

2) 最終前感作 2 週間後、連日腹腔内 BSA 注射を 4 週間行った (50mg/kg)。実験期間は通算 12 週間。

評価項目：

腎炎の重症度および T 細胞の機能評価のため、以下の検討を行った。

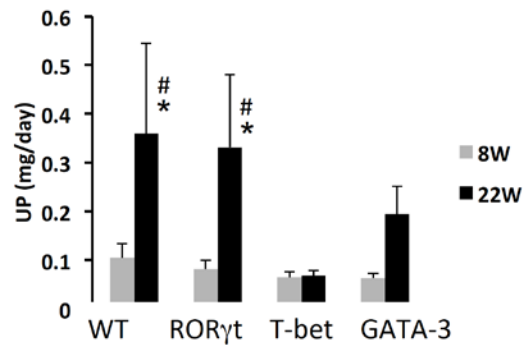
1) 蛋白尿、尿中 Cre (クレアチニン) の測定、腎機能、抗 BSA 抗体 (ELISA) の評価を行った。

2) 腎障害の組織学的評価

3) 実験終了時の腎組織のリンパ球分画を検討した。

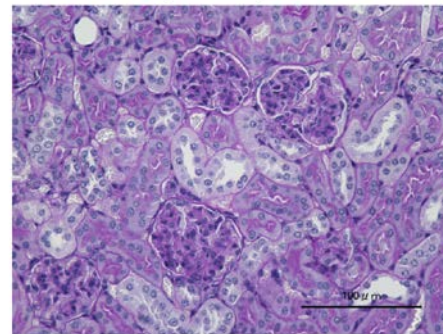
## 4. 研究成果

(1) BSA 腎炎を誘導した ROR $\gamma$ t マウス、WT マウスの尿蛋白は増加し、BSA 腎炎の発症が認められた。尿蛋白量を腎炎誘導開始前の 8W と誘導終了時の 22W で比較し、ROR $\gamma$ t マウスでは  $0.08 \pm 0.02$  mg/day (8W) から  $0.33 \pm 0.15$  mg/day (22W) と有意に増加した。WT マウスでも  $0.11 \pm 0.03$  mg/day (8W) から  $0.36 \pm 0.19$  mg/day (22W) と増加した。T-bet マウス、GATA-3 マウスは有意な変化は認めなかった。

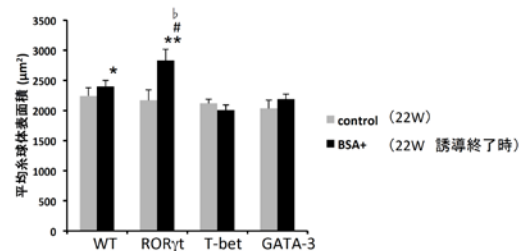
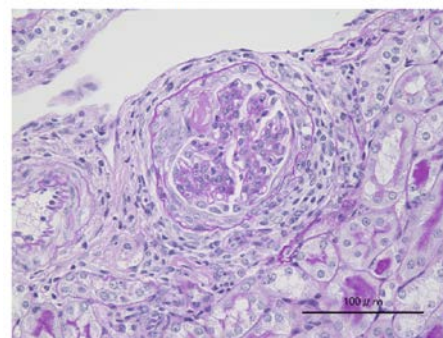


(2) ROR $\gamma$ t マウスと WT マウスでは腎糸球体肥大とメサンギウム基質領域の拡大を呈した。特に、ROR $\gamma$ t マウスでは糸球体表面積が有意に拡大しており、腎炎の組織型としては最も重篤であった。

### WT (BSA+)

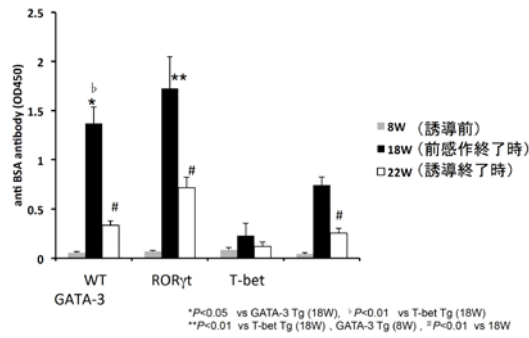


### ROR $\gamma$ t (BSA+)

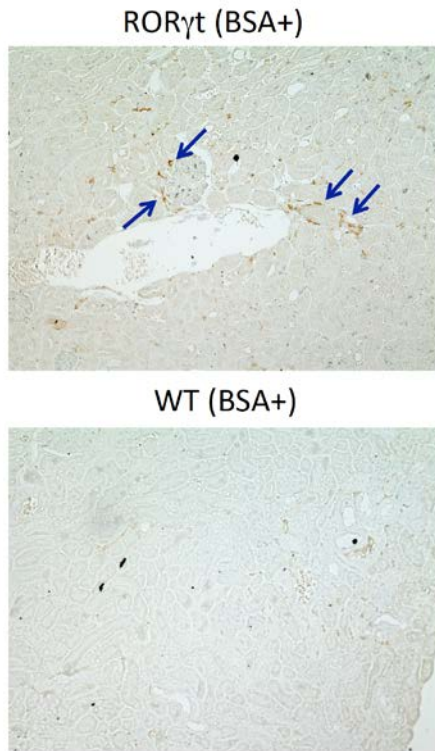


\*\*P<0.01 (vs ROR $\gamma$ t Tg control), \*P<0.05 (vs WT BSA+)  
<sup>#</sup>P<0.01 (vs T-bet Tg BSA+, GATA-3 Tg BSA+), \*P<0.05 (vs T-bet Tg BSA+)

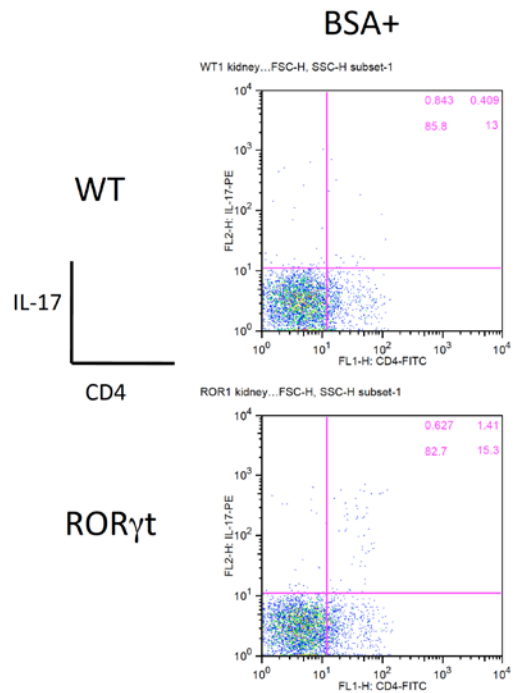
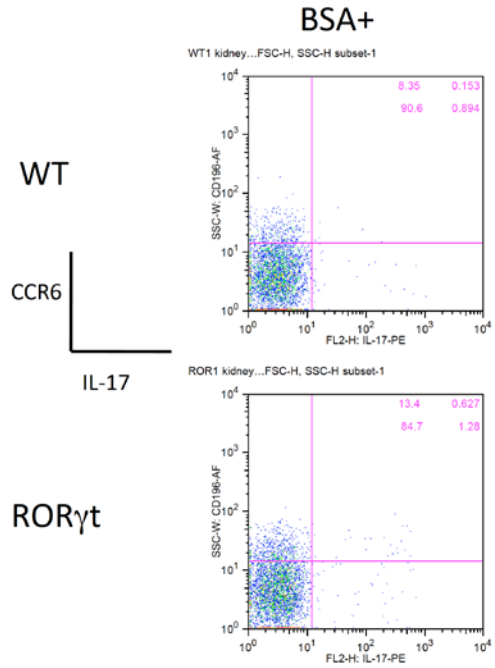
(3) ROR $\gamma$ t マウスは T-bet マウス、GATA-3 マウスと比較し、前感作終了時の抗 BSA 抗体価が有意に高値であった。ROR $\gamma$ t マウス  $1.725 \pm 0.323$  U、WT マウス  $1.371 \pm 0.165$  U、T-bet マウス  $0.227 \pm 0.130$  U、GATA-3 マウス  $0.741 \pm 0.084$  U であった。



(4) BSA 腎炎を誘導した ROR $\gamma$ tTg マウスの腎臓では最も多くマクロファージ浸潤が認められた。



(5) ROR $\gamma$ t マウスの腎臓では、CD4+IL-17+ 細胞、CCR6+IL-17+細胞の割合が高値であった。



考察・結論：自己免疫腎炎モデルである BSA 免疫複合体腎炎を Th1/Th2/Th17 細胞優位発現マウスに誘導した結果、Th17 細胞優位発現マウスにおいて、尿蛋白、腎炎組織像の重篤化が見られ、抗 BSA 抗体の上昇、腎組織におけるマクロファージの浸潤増加、腎組織における CCR6 陽性細胞の増加が認められた。これらの結果より、BSA 腎炎の病態形成では、Th17 細胞の関与が重要であると考えられた

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

1. K. Yoh, N. Morito, M. Ojima, K. Shibuya, Y. Yamashita, Y. Morishima, Y. Ishii, M. Kusakabe, H. Nishikii, A. Fujita, E. Matsunaga, M. Okamura, M. Hamada, A. Suto, H. Nakajima, A. Shibuya, K. Yamagata, S. Takahashi. Overexpression of ROR $\gamma$ t under control of the CD2 promoter induces polyclonal plasmacytosis and autoantibody production in transgenic mice. European Journal of Immunology, 42(8), 1999-2009, 2012 (査読あり)  
DOI: 10.1002/eji.201142250

〔学会発表〕(計1件)

1. 藤田亜紀子、楊 景堯、森戸直記、甲斐平康、山縣邦弘: Th17 細胞優位発現トランスジェニックマウスではBSA腎炎が重症化する、第53回日本腎臓学会学術総会、2010年6月16日、神戸

6. 研究組織

(1) 研究代表者

楊 景堯 (YOH KEIGYOU)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号: 90323302