

氏名	横澤 将宏		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 8274 号		
学位授与年月	平成 29年 3月 24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Analysis for the regulation of the expression of aryl hydrocarbon receptor by T-bet overexpression independently of IFN $\gamma$ under Th-17 polarized condition (Th17 細胞分化誘導下における T-bet 過剰発現による IFN $\gamma$ 非依存的な aryl hydrocarbon receptor の発現制御の検討)		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	藤本 学
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	渋谷 和子
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	森島 祐子
副査	筑波大学講師	博士（医学）	栗田 尚樹

## 論文の内容の要旨

横澤将宏氏の博士学位論文は、Th1 細胞の主要転写因子である T-bet の過剰発現による Th17 細胞の転写因子発現制御について検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

### （目的）

著者は本論文の研究背景として同研究室で行われた先行研究を挙げ、CD2 プロモーター下に T-bet を強制発現させた T-bet トランスジェニック (Tg) マウスにおける関節リウマチ (RA) の動物モデルであるコラーゲン誘導関節炎 (CIA) が、抗原特異的な Th17 細胞分化制御を介して抑制されることを示し、その詳細なメカニズムが不明である点に着目している。また T-bet による Th17 細胞分化制御機構について先行研究に基づいてまとめている。これらの背景を踏まえ、T-bet の過剰発現下における Th17 細胞分化の制御機構の詳細について明らかにすることを目的として本研究を行っている。

### （方法）

著者は、IFN $\gamma$  の関与も考慮して T-bet Tg マウスと IFN $\gamma$  欠損マウスを交配させた T-bet Tg/IFN $\gamma$ <sup>-/-</sup> マウスを作成し、野生型 (WT)、T-bet Tg、T-bet Tg/IFN $\gamma$ <sup>-/-</sup> マウスの脾臓 CD4<sup>+</sup> 細胞を単離し、in vitro における Th17 細胞分化誘導実験でのサイトカイン産生や転写因子発現の評価、CD4<sup>+</sup> 細胞の IL-6 受容体 (IL-6R) 発現ならびに STAT3 のリン酸化評価の比較検討を行っている。続いて T-bet Tg マウスの発生段階における T-bet 以外の因子への影響を考慮し、レトロウイルスベクターを用いた T-bet 遺伝子導入系を構築して同様の検討を行っている。著者はこれら 2 系統の検討から得られた結果より、IL-6-STAT3 シグナル経路に着目して IL-6R 発現に関連する転写因子である Smad2 と Bcl-6 の発現検討を行い、また aryl hydrocarbon receptor (AHR) の発現制御に着目して AHR リガンドを用いた追加検討によって AHR 発現が抑制されることを証明しようとしている。著者は先行研究でみられた T-bet

Tg マウスの CIA が抑制される点への AHR の関与について調べるために、II 型コラーゲン (CII) で免疫をした T-bet Tg マウスのリンパ節細胞における CII 反応性サイトカイン産生や AHR 発現の評価を行っている。

#### (結果)

著者は、T-bet Tg マウスの CD4<sup>+</sup>細胞の Th17 細胞分化誘導において IL-17 産生や ROR $\gamma$ t 発現が IFN $\gamma$  非依存的に抑制されることを示している。そのメカニズムとして、IL-6R 発現低下に伴う STAT3 のリン酸化抑制が関与する可能性や T-bet 過剰発現下における AHR の mRNA 発現低下が関与する可能性を挙げている。T-bet 遺伝子導入系での Th17 細胞分化誘導においても IL-17 産生や ROR $\gamma$ t 発現が IFN $\gamma$  非依存的に抑制されることを示し、この系においては IL-6R 発現や STAT3 のリン酸化に影響していない点を T-bet マウスの実験結果との違いとして、AHR の mRNA 発現について低下することを共通点として明らかにしている。著者は、T-bet Tg マウスと T-bet 遺伝子導入系の実験結果の違いについて T-bet Tg マウスの CD4<sup>+</sup>細胞で Smad2 の mRNA 発現が低下していることを示し、IL-6R 発現が低下している理由として、T-bet 発現後の時間経過が Smad2 発現に影響を与えて IL-6R 発現に関与する可能性を挙げている。T-bet マウスの実験系と T-bet 遺伝子導入系において共通していた AHR 発現抑制について、AHR リガンドを加えた Th17 細胞分化誘導の検討で、IL-17 産生促進効果や *cyp11a1* 発現増強が T-bet 過剰発現下に IFN $\gamma$  非依存的に制御されることを示し、AHR 発現の抑制を証明している。CIA モデルの検討では、CII 免疫をした T-bet Tg マウスの細胞における CII 反応性の IL-17 産生抑制を示し、ROR $\gamma$ t の mRNA 発現と同様に AHR の mRNA 発現が低下することも明らかにしている。

#### (考察)

著者は、T-bet Tg マウスと T-bet 遺伝子導入系という 2 系統の T-bet 過剰発現系を比較検討することで、T-bet による Th17 細胞分化制御のメカニズムについて検討を試み、T-bet 過剰発現によって IFN $\gamma$  非依存的に AHR 発現が抑制されることを示している。AHR は Th17 細胞において発現が強く認められ、IL-17 や IL-22 の産生に寄与することが知られており、IL-17 欠損マウス、IL-22 欠損マウス、AHR 欠損マウスにおける CIA が同様に抑制されるという報告からも、関節炎病態に AHR が大きな影響を与える可能性があるとして述べている。T-bet による AHR 発現制御メカニズムはこれまでに報告されていない興味深い点であり、その詳細な制御メカニズムは今後さらなる検討の余地があるとしている。一方で、T-bet Tg マウスにおける CIA モデルの検討で AHR の mRNA 発現が抑制されることを確認しているが、この結果のみで T-bet Tg マウスにおける CIA の制御に AHR の抑制がどの程度影響しているか証明はできず、T-bet と AHR の転写因子間の制御メカニズムが Th17 細胞分化ならびに CIA の病態にどこまで影響を与えるかは今後の検討課題としている。

## 審査の結果の要旨

#### (批評)

本研究は、Th1 細胞の主要転写因子 T-bet による Th17 細胞分化制御機構の中で、aryl hydrocarbon receptor の IFN $\gamma$  非依存的な発現制御という、これまでに報告されていない新たな制御経路の可能性を示唆したもので大変興味深いものである。自己免疫性関節炎の動物モデルやヒトの関節リウマチにおける検討を進めることで、関節炎病態における転写因子による制御メカニズムの解明が期待できる。

平成 29 年 1 月 13 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。