Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Tofacitinib facilitates the expansion of myeloid-derived suppressor cells and ameliorates arthritis in SKG mice

Nishimura, Keisuke

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
2015-03-25

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲第6370号

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006370

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

（課程博士関係）

学位論文の内容要旨

Tofacitinib facilitates the expansion of myeloid-derived suppressor cells and ameliorates arthritis in SKG mice

Tofacitinib は Myeloid-derived suppressor cell を誘導し, SKG マウス関節炎を抑制する

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
免疫内科学
（指導教員：森信　暁雄　准教授）

西村　啓佑

【はじめに】Myeloid-derived suppressor cell (MDSC) はがんや炎症性疾患, 感染症などで誘導される骨髄由来の heterogenous な細胞集団である. MDSC は誘導型一酸化窒素合成酵素 (inducible nitric oxide synthase; iNOS), アルギナーゼ 1 (arginase1; Arg1), 活性酸素などを産生し, effector T 細胞を抑制する. マウス MDSC は $Gr1^{+}CD11b^{+}$で定義される. フェノタイプから MDSC は 2 つのサブセット, polymorphonuclear MDSC (PMN-MDSC) と monocytic MDSC (M-MDSC) に分類することができる. PMN-MDSC は $CD11b^{+}Ly6G^{high}Ly6C^{low}$, M-MDSC は $CD11b^{+}Ly6G^{-}Ly6C^{high}$でそれぞれ定義される.

【目的】本研究の目的の第 1 は関節リウマチモデルマウスである SKG マウスにおける MDSC の役割を解明することである. 第 2 の目的は近年関節リウマチ治療薬として認可された, ヤヌスキナーゼ (Janus kinase; JAK) 1,3 阻害剤である tofacitinib の MDSC に対する作用を明らかにすることである.

【方法】SKG マウスにザイモサン A を投与し, 関節炎を誘導した. 関節炎マウスの骨髄から抽出した MDSC を関節炎マウスに養子移入し, 関節炎の評価を行った. また浸透圧ポンプで tofacitinib を持続投与し, 骨髄や脾臓の MDSC の比率を検討した. さらに MDSC 除去のため tofacitinib 群に anti-Gr1 抗体を投与した. また *in vitro* で MDSC の分化誘導時にマウスの骨髄細胞に tofacitinib や選択的 JAK 阻害剤を添加し, その影響を検討した.

【結果】関節炎マウスの骨髄や脾臓ではコントロールマウスと比較して, MDSC が上昇し, さらに脾臓ではそのサブセットの 1 つである PMN-MDSC が上昇していた. もう 1 つのサブセットである M-MDSC の比率は骨髄, 脾臓ともに少数であった. また関節炎マウスの骨髄では iNOS や Arg1 が高発現していた. 以上から SKG マウスに関節炎を誘導させると, 骨髄の MDSC が増加し, iNOS や Arg1 が亢進することが示された. 次に MDSC が関節炎を抑制させる作用を有するかを検討するため, 関節炎マウスに MDSC の養子移入を行った. 関節炎マウスの骨髄から自動磁気細胞分離装置を使用し, 99%以上の純度をもった MDSC が分離された. 分離された MDSC は主として PMN-MDSC であった. 抽出した MDSC をドナーの関節炎マウスに 10 日毎 3 回, 養子移入すると関節炎スコアは有意に軽減した. さらに足関節標本で検討すると, MDSC 投与群では滑膜増殖が低下し, 関節炎の組織学的スコアは有意に低下していた.

次に関節炎マウスに tofacitinib を浸透圧ポンプを用いて 28 日間持続投与すると, 関節炎スコアは有意に低下した. Tofacitinib 投与をされた関節炎マウスの骨髄では MDSC と PMN-MDSC が増加していた. Tofacitinib 投与において, M-MDSC の比率は変化が見られなかった. さらに tofacitinib 治療時に anti-Gr1 抗体を投与し, MDSC を除去すると関節炎スコアは悪化した. 組織学的にも tofacitinib 群に anti-Gr1 抗体を投与すると滑膜増殖や炎症細胞の浸潤がみられ, 関節炎の組織学的スコアは有意に悪化した. 以上から tofacitinib は $Gr1^{+}$ MDSC の比率を増加させ, SKG マウスの関節炎を抑制させることが示唆された.

次に *in vitro* で骨髄細胞を顆粒球/マクロファージコロニー刺激因子 (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor; GM-CSF) で刺激すると, 多くは

$CD11b^{+}CD11c^{+}$ 樹状細胞へ分化するが，そこへ tofacitinib を添加すると $CD11b^{+}CD11c^{+}$ 樹状細胞は低下し，MDSC の比率が増加した．さらに tofacitinib を添加した骨髄細胞と naïve T 細胞を共培養すると，T 細胞の増殖能が低下した．さらに MDSC 分化における JAK 阻害の役割を検討するため,骨髄細胞を GM-CSF で刺激を加え，さらに選択的 JAK 阻害剤を添加して MDSC の分化を検討した．選択的 JAK1 阻害剤と選択的 JAK3 阻害剤を添加した際に MDSC の比率は上昇し，選択的 JAK2 阻害剤を添加した際は MDSC の比率は変化しなかった．以上から tofacitinib は JAK1 もしくは JAK3 阻害を介して MDSC の分化に関与していることが示唆された．

【結論】Tofacitinib は *in vivo* と *in vitro* において MDSC を上昇させ，SKG マウス関節炎を抑制した．

神戸大学大学院医学系研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨

受付番号	甲 第2484号	氏名	西村 啓佑
論文題目 Title of Dissertation	Tofacitinib facilitates the expansion of myeloid-derived suppressor cells and ameliorates arthritis in SKG mice Tofacitinib は Myeloid-derived suppressor cell を誘導し, SKG マウス関節炎を抑制する		
審査委員 Examiner	主査 Chief Examiner 南 康博 副査 Vice-examiner 錦織 千佳子 副査 Vice-examiner 白幡 尚		

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

Myeloid-derived suppressor cell (MDSC) はがんや炎症性疾患，感染症などで誘導される骨髄由来の heterogenous な細胞集団である. MDSC は誘導型一酸化窒素合成酵素 (inducible nitric oxide synthase; iNOS)，アルギナーゼ 1 (arginase1; Arg1)，活性酸素などを産生し, effector T 細胞を抑制する．マウス MDSC は $Gr1^{+}CD11b^{+}$で定義される. フェノタイプから MDSC は 2 つのサブセット, polymorphonuclear MDSC (PMN-MDSC) と monocytic MDSC (M-MDSC) に分類することができる．本研究では、関節リウマチモデルマウスである SKG マウスにおける MDSC の役割を解明すること、及び近年関節リウマチ治療薬として認可された，ヤヌスキナーゼ (Janus kinase; JAK) 1,3 阻害剤である tofacitinib の MDSC に対する作用を明らかにすることを目的とした.

SKG マウスにザイモサン A を投与し，関節炎を誘導した．関節炎マウスの骨髄から抽出した MDSC を関節炎マウスに養子移入し，関節炎の評価を行った．また浸透圧ポンプで tofacitinib を持続投与し，骨髄や脾臓の MDSC の比率を検討した．さらに MDSC 除去のため tofacitinib 群に抗 Gr1 抗体を投与した．また *in vitro* で MDSC の分化誘導時にマウスの骨髄細胞に tofacitinib や選択的 JAK 阻害剤を添加し，その影響を検討した.

関節炎マウスの骨髄や脾臓ではコントロールマウスと比較して, MDSC が上昇し，さらに脾臓ではそのサブセットの 1 つである PMN-MDSC が上昇していた．もう 1 つのサブセットである M-MDSC の比率は骨髄，脾臓ともに少数であった．また関節炎マウスの骨髄では iNOS や Arg1 が高発現していた．次に関節炎マウスから抽出した MDSC をドナーの関節炎マウスに養子移入すると関節炎の臨床的スコアならびに組織学的スコアは有意に低下した.

次に関節炎マウスに tofacitinib を持続投与すると，関節炎スコアは有意に低下した. Tofacitinib を投与した関節炎マウスの骨髄では MDSC と PMN-MDSC が増加していた. さらに tofacitinib 治療時に抗 Gr1 抗体を投与し, MDSC を除去すると関節炎の臨床的スコアならびに組織学的スコアはともに悪化した.

また、*in vitro* で骨髄細胞を顆粒球/マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) で刺激すると，多くは $CD11b^{+}CD11c^{+}$ 樹状細胞へ分化するが，そこへ tofacitinib を添加すると $CD11b^{+}CD11c^{+}$ 樹状細胞は低下し, MDSC の比率が増加した．さらに tofacitinib を添加した骨髄細胞と naïve T 細胞を共培養すると, T 細胞の増殖能が低下した．次に骨髄細胞を GM-CSF で刺激を加え，さらに選択的 JAK 阻害剤を添加した．選択的 JAK1 阻害剤と選択的 JAK3 阻害剤を添加した際に MDSC の比率は上昇し，選択的 JAK2 阻害剤を添加した際は MDSC の比率は変化しなかった．以上から tofacitinib は JAK1 もしくは JAK3 阻害を介して MDSC の分化に関与していることが示唆された.

本研究は、関節リウマチモデルである SKG マウスを用いて Tofacitinib の MDSC へ

の影響を検討したものであるが、従来知られていなかったMDSCの比率を上昇させ関節炎を抑制するというTofacitinibの作用を明らかにしたもので、重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める．よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があるものと認める．