The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Dysregulated expression of the IL-2 receptor β chain abrogates development of NK cells and Thy-1+ dendritic epidermal cells in transgenic mice
Author(s)	諏訪, 寛
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41023
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【 43 】

氏　　名	諏訪　寛（すわ ひろし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　13376　号
学位授与年月日	平成9年8月4日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Dysregulated expression of the IL-2 receptor β chain abrogates development of NK cells and Thy-1$^+$ dendritic epidermal cells in transgenic mice （インターロイキン2受容体β鎖異常発現トランスジェニックマウスにおけるNK細胞およびThy-1$^+$樹状表皮細胞の発生欠損）
論文審査委員	（主査） 教授　宮坂　昌之 （副査） 教授　平野　俊夫　教授　菊谷　仁

論文内容の要旨

[目　的]

IL-2はT細胞，B細胞やNK細胞の分化・増殖の制御を通じて免疫応答の調節に重要な役割をはたす。IL-2シグナルを細胞内に伝達する特異的受容体（IL-2R）は3種のサブユニット（IL-2Rα，IL-2Rβ，IL-2Rγ）から構成され，IL-2RβとIL-2Rγがシグナル伝達に必須である。中でもIL-2Rγは造血系細胞に広く分布し，数種のサイトカインレセプターの共通なサブユニットとして存在し，この分子の欠損は伴性重症免疫不全症をもたらす。一方IL-2RαとIL-2RβはIL-2に特異的な受容体サブユニットである。IL-2Rβは特異抗体の投与によってNK細胞とThy-1$^+$樹状表皮細胞（Thy-1$^+$dEC）の選択的な消失が認められることから，これらのリンパ球の発生に重要な役割を果たすことが示唆されていた。そこで私はIL-2Rβの機能をさらに明らかにすることを目的としてIL-2Rβを過剰発現するトランスジェニックマウス（TG）の作製を試みた。

[方法ならびに成績]

トリβアクチン・プロモーター，サイトメガロウイルスIEエンハンサーの下流にマウスIL-2RαまたはIL-2RβのcDNAを挿入して導入遺伝子を作製し，常法に従いマウスC57BL/6の受精卵前核に注入しTGを作製した。導入遺伝子の有無をPCR法により，導入遺伝子の量をsouthern blot法により，また導入遺伝子の発現をflow cytometryで検索した。その結果IL-2Rα，IL-2Rβを単独で発現するマウスが得られた。このうちβ鎖を過剰発現するマウスの検索を行った。その結果TGでは一個体当たり約10個の遺伝子の導入が認められ，各組織での導入遺伝子の発現は用いたプロモーターの発現特異性とよく一致し，調べた全ての組織でその発現が確認された。さらに胸腺，脾臓および骨髄のほぼ全ての細胞表面でIL-2Rβの発現が認められた。

脾細胞および胸腺細胞を種々の濃度のIL-2とともに培養し，^{3}H-TdRの取り込みを指標にIL-2反応性を検索した。正常マウス細胞に比べてTG由来リンパ球は明らかにIL-2に対する反応性が亢進しており，この反応は抗IL-2Rβ抗体により阻害され，導入したIL-2Rβが内因性のIL-2Rγと共同して生体内で機能的IL-2Rを再構築することが示された。

TGの胸腺および脾臓におけるリンパ球サブセットを検索したところ，正常マウスと比べて明らかな変化は認められず，またTGの胸腺，脾臓ともに細胞数は正常マウスと比較して変化していなかったが，ナイロン非付着性脾細胞を用いてNK活性を解析したところ，細胞障害活性が認められなかった。そこでflow cytometry解析を行ったところ，TG脾細胞中にはNK1.1$^+$IL-2Rβ^+のNK細胞が欠損していた。またTGでは脾臓と同様に末梢血，リンパ節，肝リンパ球にも典型的なNK細胞の存在は認められなかった。次にマウス耳朶表皮中のThy-1$^+$dECを検索した。その結果，TGの表皮中にThy-1$^+$dECの存在が認められなかった。しかしIa$^+$Langerhans細胞は正常に存在していた。さらに血清中の免疫グロブリン量を定量したところIgA，IgEが正常マウスに比べて有意に上昇していた。

以上のようにIL-2RβTGでは，抗体投与によってIL-2Rβの機能阻害をした時とほぼ同一の表現型が認められた。なぜ単一のレセプターサブユニットの過剰発現がその機能阻害と同一の細胞系譜特異的な欠損を引き起こすのかに対して現在次のような作業仮説を立てている。1）生理的条件下では厳密に制御されたIL-2Rβの発現プログラムがアクチンプロモーターに支配された導入遺伝子により破壊され，発生早期からNKおよびThy-1$^+$dECの前駆細胞がIL-2シグナルを受け取ることによる分化阻害された可能性。2）過剰に発現したIL-2Rによるリガンドの消費の可能性。導入遺伝子によりすべての造血細胞に発現した過剰のIL-2Rが，NK細胞およびThy-1$^+$dECの発生に必須のリガンドを消費したために，これらの細胞が消失した可能性である。

［総　括］

生体内でIL-2のシグナルを選択的に増幅することを目的としてIL-2RβTGを作成した。IL-2RβTGでは導入したIL-2Rβは他のサブユニットとともに機能的IL-2Rを再構築したが，胸腺および脾臓におけるリンパ球サブセット，細胞数ともに正常マウスと比べて明らかな変化は認められなかった。しかしNK細胞，およびThy-1$^+$dECの選択的消失を認めた。

論文審査の結果の要旨

本論文ではin vitroでT細胞，B細胞およびNK細胞の分化・増殖に影響を与えるサイトカインであるIL-2の生体内機能の解明を目的に，その特異的受容体（IL-2R）の構成成分でシグナル伝達に必須なIL-2Rβを過剰発現するトランスジェニックマウスを作成し，解析を行った。その結果，他のリンパ球及び免疫反応には影響は認められなかったものの，NK細胞とThy-1$^+$樹状表皮細胞の選択的な消失を認めた。

これは正常マウスにIL-2Rβの特異抗体を投与し機能阻害を行った場合と同じ表現形質である。本研究の特筆すべき点は，IL-2Rβがこれら2種類の細胞の発生に強く関わることを見いだしたこと，また単一分子の機能亢進と欠損が同一の表現型を示すことを見いだしたことである。さらに，これまで用いられていたようなヒトの遺伝子ではなく，マウス由来のcDNAを用いたことによって，生体の固有のリガンドが過発現受容体に結合できるようにしたことがユニークな点である。本論文はIL-2シグナル伝達系における生体内での生理機能を解析する為に重要なモデルを作成した点でも評価され，学位の授与に値するものと認める。