



Title	Clonal Expansion of Double-Positive Intraepithelial Lymphocytes by MHC Class I-Related Chain A Expressed in Mouse Small Intestinal Epithelium
Author(s)	朴, 恩正
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45269">https://hdl.handle.net/11094/45269</a>
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、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>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

氏 名	朴 恩 正
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学 位 記 番 号	第 18472 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学 位 論 文 名	Clonal Expansion of Double-Positive Intraepithelial Lymphocytes by MHC Class I-Related Chain A Expressed in Mouse Small Intestinal Epithelium (マウス小腸の腸管上皮細胞に発現されている MICA によるダブルポジティブ腸上皮細胞間リンパ球のクローニング増殖誘導)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 山西 弘一  (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 宮崎 純一

## 論文内容の要旨

[目的] ヒトの非古典的 MHC クラス Ib の一種である MICA (MHC Class I-Related Chain A) は腫瘍細胞や腸管上皮細胞が発現し、熱ショックあるいはウイルス感染などの環境ストレスによって発現が増加することが報告されている。また MICA は NK 細胞の活性化レセプターである NKG2D が認識する標的細胞側のリガンドである。本研究では、マウスでは存在しない MICA 分子を、マウス腸管上皮特異的発現を利用している T3<sup>b</sup> (thymic leukemia 抗原) プロモーターを用いて腸管上皮特異的に MICA を発現したトランスジェニック (T3<sup>b</sup>-MICA Tg) マウスを作製し、環境ストレス応答性生体分子である MICA の粘膜免疫機構における免疫生物学的な機能を解明することを試みた。

[方法ならびに成績]マイクロインジェクション法を用いて MICA のトランスジェニック (T3<sup>b</sup>-MICA Tg) マウスを作製し、C57BL/6 系マウスにバッククロスしたものを実験に供した。まず T3<sup>b</sup>-MICA Tg マウスの脾臓、胸腺、リンパ節、小腸、大腸などの組織から mRNA および細胞破碎溶解液を調整し、RT-PCR 法およびウェスタンプロット法を用いて MICA の発現を解析した結果、小腸および大腸特異的な MICA の発現がみられた。また、同組織の凍結切片標本を用いた in situ 免疫染色法において、腸上皮細胞特異的な MICA の発現が確認された。さらに、T3<sup>b</sup>-MICA Tg マウスでは V $\beta$  8.2 を発現した腸上皮細胞間 CD4・CD8 ダブルポジティブ T リンパ球のクローナル増殖が観察された。また、その MICA 依存性ダブルポジティブ T リンパ球では比較的均質の CDR3 配列 (V $\beta$  8.2-GDRQGFEF-J $\beta$  2.7 及び V $\beta$  8.2-SDRGHNSPL-J $\beta$  1.6) を有することが確認された。また同細胞群は CD69 及び CD44 の発現が高く成熟した活性化 T 細胞と考えられた。以上の結果から T3<sup>b</sup>-MICA Tg マウスでは MICA の腸上皮細胞での過剰発現により、活性化された腸上皮細胞間 CD4・CD8 ダブルポジティブ T リンパ球のクローニング増殖が誘導されることが明らかになった。次に腸管上皮選択性 MICA の病態生理学的な役割を明らかにするため、T3<sup>b</sup>-MICA Tg マウスに 2.5% のデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を経口投与し、大腸粘膜炎症性疾患を人為的に誘発する実験を施した結果、T3<sup>b</sup>-MICA Tg マウスは野生型のマウスに比べ、大腸粘膜炎症の発症が遅延ないしは抑制されることが観察された。

[総括] MICA や T3<sup>b</sup> は腸管上皮細胞に特異的に発現する非古典的 MHC クラス Ib 分子であり、今回 T3<sup>b</sup> プロモーターを使ってヒトの MICA をマウスの腸管粘膜に限局して選択的に発現させたことにより、ヒト MICA 分子の病態生理的な役割をマウス個体モデルで解析することが可能になった。また、MICA 分子の腸管上皮での発現、特に上皮細胞基底側での発現の結果から、MICA 分子と MICA 依存性粘膜 T 細胞は、外界に直接暴露されている激しい腸内環境のもとで自然免疫の調節システムとして働き、粘膜免疫の恒常性を維持する制御性ネットワークの重要な因子であることも予想された。この仮説は、我々の DSS 投与により誘導される大腸炎症疾患モデルを使った実験において T3<sup>b</sup>-MICA Tg マウスで発症遅延、症状緩和が認められることからも強く支持された。これらの結果から T3<sup>b</sup>-MICA Tg マウスは MICA の粘膜免疫における生物的機能を検討する有用なモデルであること、また MICA により誘導された腸上皮細胞間 T リンパ球に粘膜免疫の恒常性を維持する機能があることが示された。

### 論文審査の結果の要旨

本論文ではヒト環境ストレス応答性 MICA 分子の腸管粘膜での免疫生物学的機能を解明する為に、T3<sup>b</sup> プロモーターを用いて腸管上皮特異的 MICA 発現トランスジェニック (T3<sup>b</sup>-MICA Tg) マウスの作製を試みた。小腸と大腸上皮細胞特異的に MICA が発現している事が遺伝子・蛋白レベルで確認された。さらに、CD69 と CD44 を発現している腸上皮細胞間 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T リンパ球の増殖が確認された。また、同 T リンパ球では T 細胞受容体 V $\beta$  8.2 発現細胞のクローナル増殖が観察され、比較的均質の CDR3 配列を有することが確認された。DSS 経口投与誘導型炎症性腸疾患の発症が抑制されることも観察された。これらの結果から T3<sup>b</sup>-MICA Tg マウスは粘膜免疫における MICA の制御機能を検討する有用なモデルであり、炎症性腸疾患の予防や治療法開発への応用も期待される研究として学位の授与に値する。