



Title	Allelic variation in class II gene as candidate for a second component of MHC-linked susceptibility to Type 1 diabetes in nonobese diabetic mice
Author(s)	山路, かおり
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45487
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら 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	やまじ いのうえ か お り 山路 (井上) か お り
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 9 2 7 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 17 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学 位 論 文 名	Allelic variation in class I K gene as candidate for a second component of MHC-linked susceptibility to Type 1 diabetes in non-obese diabetic mice (MHC 領域に存在する 1 型糖尿病疾患感受性に対する class I K 遺伝子の関与)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 荻原 俊男 (副査) 教 授 下村伊一郎 教 授 宮崎 純一

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

NOD マウスはヒト 1 型糖尿病のモデルマウスとして広く用いられており、その疾患感受性はヒトと同様に複数の遺伝子によって規定されている。その中で最も強く疾患感受性に関与する *Idd1* の本体は主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) class II の A および E 遺伝子と考えられており、ヒトにおける class II HLA-DQ、DR 遺伝子と対応している。NOD マウスと同一の class II A、E 遺伝子の塩基配列を有する CTS マウスの MHC を導入したコンジェニック系統 (NOD.CTS-*H-2* コンジェニックマウス) を用いた解析の結果、コンジェニックマウスでは NOD マウスに比し糖尿病発症率が有意に抑制され、発症週齢も有意に遅延していたことから、*Idd1* が少なくとも 2 つのコンポーネントより構成され、class II 領域の疾患感受性遺伝子に加えて class II とは異なる領域に発症頻度及び発症週齢を左右する第 2 のコンポーネント *Idd16* が存在することを報告してきた。*Idd16* の存在はその後、米国の 2 グループによる追試によって確認されると共に、class I の K 遺伝子近傍約 1.1 cM 以内の領域に存在する可能性が指摘されている。

本研究では *Idd16* の強力な候補遺伝子である class I の K 遺伝子の塩基配列ならびに発現分子特性の解析を行ない、*Idd16* の責任遺伝子であるか否かの検討を行なった。

【方法】

Class I の K 遺伝子に関して全 8 エクソン、エクソン-イントロン境界領域ならびにプロモーター領域を含む 5' 上流領域約 1500 bp の全塩基配列を NOD ならびにその姉妹系統である CTS マウス、NON マウスならびに NOD マウスの MHC 領域のみを CTS マウスに置換した NOD.CTS-*H-2* コンジェニックマウスでダイレクトシーケンシング法を用いて決定し、コントロール系統と比較した。さらに頸部リンパ節から単離したリンパ球を用いて、K 分子の発現レベルと分子特性を K 分子に対するモノクローナル抗体 (SF1-1-1; K^d, 16-1-11N; K^k, RPC5.4; negative control) を用いた FACS 解析にて検討した。

【成績】

Class I の K 遺伝子のシーケンス解析の結果、*Idd16* に感受性アリルを有する NOD マウスの K 遺伝子は既報の K^d タイプと全く同一の塩基配列であった。一方 *Idd16* に抵抗性アリルを有する CTS マウスおよび NOD.CTS-*H-2* コンジェニックマウスでは NOD マウスとの間でプロモーター領域に 5 ケ所 (C-217G、G-201A、T-137A、A-101T、A-92T)、exon 2 に 1 ケ所 (G533A)、exon 4 に 4 ケ所 (C2767T、A2788G、A2800T、C2842T) の計 10 ケ所の SNP を認め、それらはいずれも K^k タイプに認められる塩基配列への置換であった。Exon 4 の SNP は Tyr→His、Asp→Lys の 2 アミノ酸置換を来し、 K^d の一部が K^k 特異的なアミノ酸に置換したユニークな構造であった。FACS 解析の結果、NOD.CTS-*H-2* の K 分子は発現レベルに関しては NOD マウスとの間に差を認めなかったが、抗体との反応特異性では従来報告されているいずれの系統とも異なり、 K^d と K^k の両者に反応する反応特異性を示し、塩基配列の結果と一致した。

【総括】

本研究では、NOD マウスに比し糖尿病発症率が有意に抑制され、発症年齢も有意に遅延する NOD.CTS-*H-2* コンジェニックマウスにおいて MHC 領域の 1 型糖尿病遺伝子の第 2 のコンポーネント *Idd16* がマップされた領域に存在する強力な候補遺伝子 class I K 遺伝子の塩基配列ならびに分子特性を解析した。その結果、CTS ならびに NOD.CTS-*H-2* コンジェニックマウスの K 遺伝子は NOD の K^d とは異なり一部が K^k に置換されたユニークな構造を示し、特に exon 4 の塩基配列は 2 つのアミノ酸置換を伴っていた。NOD マウスの 1 型糖尿病発症は K^d に対する抗体で抑制されるが、 D^b に対する抗体では抑制されないことが以前に報告されており、今回のコンジェニックマウスにおける解析で K 分子の発現レベルには変化を認めなかったこと、K 分子の反応特異性に变化を認めたこととあわせて考えると class I の K 遺伝子の exon 4 におけるアミノ酸置換が *Idd16* の責任遺伝子である可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、1 型糖尿病モデルマウスにおける重要な疾患感受性遺伝子 *Idd16* の候補遺伝子として class I の K 遺伝子について検討したものである。ヒト 1 型糖尿病のモデルマウスとして広く用いられている NOD マウスの疾患感受性は複数の遺伝子によって規定されており、その中で最も強く疾患感受性に関与する *Idd1* は主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) class II の A、E 遺伝子と考えられていた。しかし、NOD マウスと同一の class II A、E を有する姉妹系統の CTS マウスの MHC を導入した NOD.CTS-*H-2* コンジェニックマウスを用いた研究の結果、*Idd1* の class II とは異なる領域に第 2 の遺伝子が存在することが明らかとなり、*Idd16* と命名されてきた。本論文では *Idd16* がマップされた領域の強力な候補遺伝子である class I K 遺伝子を塩基配列レベルならびに K 分子の発現レベルと分子特性レベルで詳細に解析したものである。その結果 NOD マウスの *Idd16* が抵抗性アリルに置換されている NOD.CTS-*H-2* コンジェニックマウスでは、感受性アリルを有する NOD と比較すると Class I K 遺伝子の promoter 領域に 5 ケ所、exon 2 に 1 ケ所、exon 4 に 4 ケ所の計 10 ケ所の 1 塩基置換 (SNP) が見出された。exon 4 の SNP は Tyr→His、Asp→Lys の 2 アミノ酸置換を来し、 K^d の一部が K^k 特異的なアミノ酸に置換していた。NOD.CTS-*H-2* の K 分子発現レベルは NOD マウスと同等であったが、反応特異性では従来報告されているいずれの系統とも異なり、 K^d と K^k の両者に反応する反応特異性を示し、塩基配列結果と一致した。本論文は、class I の K 遺伝子が *Idd16* の責任遺伝子である可能性を示唆する重要な論文であり、学位に値するものと認める。