



| | |
|--------------|---|
| Title | Induction mechanism of MFG-E8 expression |
| Author(s) | 定岡, 恵 |
| Citation | 大阪大学, 2007, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/47205 |
| 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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 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 | 定岡 恵 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士 (生命機能学) |
| 学位記番号 | 第 21330 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 19 年 3 月 23 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 生命機能研究科生命機能専攻 |
| 学位論文名 | Induction mechanism of MFG-E8 expression (MFG-E8 タンパク質の発現誘導機構) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 長田 重一 (副査) 教授 平野 俊夫 教授 西本 憲弘 教授 米田 悦啓 |

論文内容の要旨

Milk fat globule EGF factor 8 (MFG-E8) タンパク質は、マクロファージによって産生され、アポトーシス細胞上に特異的に露出するリン脂質フォスファチジルセリンと、マクロファージ上に発現するインテグリン分子を橋渡しする事で、アポトーシス細胞の貪食を促進するタンパク質である。MFG-E8 はチオグリコレートによって誘導した腹腔滲出マクロファージや、脾臓の胚中心に存在する核片貪食マクロファージ (tingible body macrophage ; TBM) など、限られたサブセットのマクロファージにのみ発現する事が分かっているが、そのタンパク質の発現誘導機構に関しては不明な点が多い。

そこで、私は MFG-E8 の発現を誘導する分子を同定することで、その機構を解析する事を目的とした。まず、マウス骨髄細胞を用いた培養系において、MFG-E8 の発現を誘導するサイトカインのスクリーニングを行った。その結果、骨髄細胞から GM-CSF 存在下で分化誘導した未熟樹状細胞において MFG-E8 の強い発現が見られた。未熟樹状細胞は高い貪食能を持ち、この貪食は MFG-E8 を欠損する未熟樹状細胞では抑制された。また、樹状細胞は成熟に伴い貪食能を失う事が知られているが、MFG-E8 の発現量も成熟を誘導する刺激によって減少する事が明らかとなり、MFG-E8 の発現量が樹状細胞の貪食能の制御に重要な役割を果たしている事が示唆された (論文 1)。

さらに、私は IL-18 が MFG-E8 の発現を誘導する事を見いだした。骨髄細胞を IL-18 存在下で 5 日間培養した所、マクロファージ様の接着性細胞が活発に増殖し、それらの細胞では MFG-E8 の発現が強く誘導されていた。貪食実験より、IL-18 誘導マクロファージはアポトーシス細胞を効率よく貪食し、その貪食はフォスファチジルセリン依存的であった。次に、生体内における IL-18 による MFG-E8 の誘導機構を解析した。MFG-E8 を発現する TBM は抗原刺激依存的に誘導される事が知られているため、マウスを Keyhole limpet hemocyanin (KLH) で免疫後、脾臓細胞を回収・培養し、その培養液中の IL-18 を ELISA 法で検出した。すると、KLH で免疫をしたマウスでは、未処置のマウスよりも IL-18 の分泌量が約 2 倍程度高いことが分かった。IL-18 は 24 kDa の非活性型タンパク質として合成されたのち、caspase-1 による切断を受けて初めて活性型 (18 kDa) として細胞外に分泌される。脾臓 B 細胞は免疫応答時に大量にアポトーシスを起こす事が知られており、免疫反応が惹起された時に特異的に活性型 IL-18 を産生すると考えられた。実際、未処置のマウスから回収した脾臓細胞を Fas リガンドで刺激し、アポトーシスを誘導する事でも IL-18 の分泌が確認され、その反応は caspase inhibitor によって阻害された。また、Fas 欠損マウスを用い

た実験では免疫反応に伴う IL-18 の分泌量の増加は見られなかった。以上の結果より、免疫反応が惹起されると、Fas からのシグナルでアポトーシスに陥った B 細胞から IL-18 が分泌され、マクロファージの分化並びに MFG-E8 の発現を誘導する事で、死細胞の効率の良い除去を促進している事が示唆された（論文2）。

論文審査の結果の要旨

Milk fat globule-EGF-factor 8 (MFG-E8) は貪食細胞によるアポトーシス細胞の貪食に重要な分子である。MFG-E8 は、骨髄細胞から GM-CSF 存在下で誘導された未熟樹状細胞において強く発現が誘導され、成熟に伴ってダウンレギュレーションされた。この事から、MFG-E8 の発現量の変化は、樹状細胞によるアポトーシス細胞の貪食能と密接に関連する事が示唆された。また、MFG-E8 の遺伝子活性化は IL-18 によっても起こる事が明らかになった。脾臓細胞を用いた実験より、IL-18 が免疫反応時にアポトーシスに陥った B 細胞から分泌される事が示唆され、MFG-E8 の脾臓における発現制御に重要であると考えられた。MFG-E8 の欠損は自己免疫疾患を引き起こす事が知られており、生体にとって重要なこの分子の発現誘導機構の一端を明らかにした申請者の研究は、学位の授与に値すると思われる。