

Title	Milk fat globule EGF factor 8 in human patients of systemic lupus erythematosus
Author(s)	山口, 裕嗣
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49337
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	やまぐちひろし 山 口 裕 嗣
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 23102 号
学位授与年月日	平成21年3月24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	Milk fat globule EGF factor 8 in human patients of systemic lupus erythematosus (SLE患者におけるMFG-E8遺伝子の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 長田 重一 (副査) 教授 西本 憲弘 教授 平野 俊夫 教授 月田早智子

論文内容の要旨

多細胞生物において、不要な細胞はアポトーシスを起こした後、マクロファージ等の食細胞により貪食・処理される。活性化したマクロファージから分泌されるマウスMFG-E8は、アポトーシス細胞表面に特異的に露出するホスファチジルセリンを認識し、アポトーシス細胞の貪食を促進する。この分子を欠損するマウスでは、脾臓胚中心においてアポトーシス細胞が貪食されず蓄積する。またこのマウスは加齢に伴い、ヒトSLE様の自己免疫疾患を発症する。

今回、私はヒトMFG-E8がホスファチジルセリンおよびインテグリン $\alpha_v\beta_3$ とそれぞれ強く結合し、アポトーシス細胞と食細胞を橋渡しすることにより、その貪食を促進することを示した。また、この作用には至適濃度が存在し、過剰なヒトMFG-E8は逆に貪食を阻害した。次いで、SLE患者におけるヒトMFG-E8発現量の解析を目的として、抗ヒトMFG-E8モノクローナル抗体を作製し、それらの抗体を用いたサンドイッチELISA法による高感度MFG-E8検出系を樹立した。血中のヒトMFG-E8量を測定した結果、一部の小児・成人期発症のSLE患者で、対照群に比べて有意に高濃度のヒトMFG-E8が認められた。これらの結果は、SLEにおいてヒトMFG-E8の過剰な発現がその病因・病態に寄与する可能性を示唆している。(第1部)

さらに、私はSLE患者のMFG-E8遺伝子についてDNA塩基配列解析を行い、一名の患者において、第6イントロンに1カ所の点変異を見いだした。次いで、この点変異を導入したヒトMFG-E8ミニ遺伝子コンストラクトを作製し、HEp-2細胞に発現させた結果、この変異が第6イントロン内の潜在的なエクソンの挿入を促進することを確認した。挿入されたエクソン内には終止コドンが存在したため、この患者ではC末端を一部欠損するMFG-E8変異体が産生されることが予想された。また、このC末端欠損MFG-E8変異体はホスファチジルセリン結合能およびアポトーシス細胞の貪食促進能をもつ一方で、野生型とは異なり、末端にシアル酸をもつ糖鎖修飾を受けることを見出した。シアル酸含有糖鎖はタンパク質の安定性に寄与することが知られているため、マウスに野生型およびC末端欠損MFG-E8変異体を投与し、血中における経時的な濃度変化を観察した。その結果、C末端欠損MFG-E8変異体は野生型に比べ高い安定性を示した。また、C末端欠損MFG-E8変異体を繰り返し投与されたマウスでは、抗核抗体などの自己抗体の産生が認められた。以上の結果は、SLE患者に認められたMFG-E8遺伝子第6イントロンの変異が、SLEの発症に関与し得ることを示唆している。(第2部)

論文審査の結果の要旨

山口君は、アポトーシス細胞の貪食異常と全身性エリテマトーデス(SLE)との関連を明らかにする目的で、SLE患者におけるMFG-E8遺伝子の解析を行いました。まず生化学的実験により、MFG-E8が至適濃度下では食細胞によるアポトーシス細胞の貪食を促進する一方で、過剰なMFG-E8は逆に貪食を阻害することを示しました。次いで血中のMFG-E8量を測定し、一部のSLE患者において対照群に比べて有意に高濃度のMFG-E8を見出しました。また、SLE患者のMFG-E8遺伝子についてDNA塩基配列解析を行い、一名の患者において、第6イントロンに1カ所の点変異を見出しました。次いで、この点変異によりC末端を一部欠損するMFG-E8変異体が産生されること、またこの変異体を繰り返し投与されたマウスでは、自己抗体の産生が起きることを示しました。以上の結果は、MFG-E8遺伝子の異常がアポトーシス細胞の貪食異常につながり、SLEの病因・病態に関与する可能性を示すものであり、理学博士の学位に値すると考えます。