



Title	記憶/活性化表現型T細胞を過剰に持つENU点変異マウス（MEマウス）の解析
Author(s)	鶴岡, 峰子
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58510">https://hdl.handle.net/11094/58510</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。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏 名	つる 鶴	おか 岡	みね 峰	こ 子
博士の専攻分野の名称	博士 (理 学)			
学 位 記 番 号	第 2 4 6 8 1 号			
学位 授 与 年 月 日	平成 23 年 3 月 25 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	記憶/活性化表現型T細胞を過剰に持つENU点変異マウス(MEマウス)の解析			
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 平野 俊夫			
	(副査) 教 授 米田 悅啓 教 授 宮坂 昌之 准教授 村上 正晃			

#### 論 文 内 容 の 要 旨

IL-6受容体複合体に存在するIL-6信号伝達分子gp130に点変異を導入したF759マウスは、CD4+T細胞依存性の関節炎を自然発症するリウマチモデルである。このモデルでは、CD4+T細胞の恒常的な分裂 (homeostatic proliferation) の増強による記憶/活性化表現型CD4+T細胞の増加が病態形成機構として重要である。さらにNODマウスの臍島炎、オーメン症候群モデルMMマウスの高IgE血症やK/BxNマウスの関節炎においても記憶/活性化表現型CD4+T細胞の増加が病態形成に重要であり、自己免疫疾患の発症において、記憶/活性化表現型CD4+T細胞の増加が重要なステップになっていることがわかる。

今回、記憶/活性化表現型CD4+T細胞の恒常的増加の分子機構をさらに詳細に検討するために、点変異導入試薬ENUを用いて記憶/活性化表現型T細胞を過剰に持つ点変異マウス (ME, Memory-ENUマウス) を作製し、その表現型責任遺伝子の同定と形質形成分子機構の解析を行った。

MEマウス表現型責任遺伝子の同定は、連鎖解析とそれにより得られた候補遺伝子407個のcDNA全塩基配列の解読により行った。その結果、唯一KDEL受容体1の遺伝子翻訳領域に1つの点変異を発見した。KDEL受容体1の機能は、主にタンパク合成時の不全分子のシャペロンをゴルジ体から小胞体に逆輸送することである。MEマウスでは、ENUにより導入された点変異によりKDEL受容体1のアミノ酸置換 (S123P) が起きていた。さらに骨髓移植実験より、MEマウスの表現型発現にはこの変異が造血系細胞に存在することが重要であると判明した。そこで、MEマウスの造血幹細胞に正常KDEL受容体1を過剰発現させ、これをコンジェニックマウスに移植するレスキュー実験を行うと、MEマウスの表現型が消失した。さらに、KDEL受容体1欠損マウ

スもMEマウスと同様の表現型を呈した。これらの実験より、KDEL受容体1がMEマウスの表現型責任遺伝子であることが証明された。

統いて形質形成の分子機構について解析を行った。MEマウス生体内でT細胞の実数を検討してみると、脾臓、リンパ節では記憶/活性化表現型T細胞数はほぼ変化なく、ナイーブT細胞数が有意に減少していた。また試験管内のアポトーシスを評価したところ、MEナイーブT細胞はアポトーシス易誘導性であった。さらに、MEナイーブT細胞ではアポトーシス誘導性分子、Bimの発現増加がみられた。一方、記憶/活性化表現型T細胞ではそのような差異は観察できなかった。さらにKDEL受容体1をレスキューしたME造血幹細胞由来のナイーブT細胞ではBim分子の発現減少が認められた。これより、MEマウスではナイーブT細胞特異的にBim分子の発現が上昇し、アポトーシスが誘導されていることが示唆された。そこでBimの発現上昇機構について解析するため、Bim遺伝子の転写に関連するFOXOファミリーについて調べた。その結果、MEマウスではFOXOファミリー分子群のリン酸化がナイーブT細胞特異的に上昇しており、Bim遺伝子の転写促進が示唆された。FOXOファミリー分子は、JNK、Mst1、Ampkにリン酸化されて活性化するが、この中でMst1のみがMEナイーブT細胞特異的にリン酸化され、さらにcaspase-3により切断されて過剰に活性化していた。

以上の結果より、MEマウスではKDEL受容体1の機能不全によって、ナイーブT細胞特異的にMst1によるFOXOファミリーの活性化を招き、それによりBimの発現が上昇し、ナイーブT細胞特異的にアポトーシスが誘導されたことが判明した。そのため、この変異マウスにて過剰に記憶/活性化表現型T細胞が増加している原因は、ナイーブT細胞がアポトーシスで除去されて相対的に記憶/活性化表現型T細胞が増加したことにより認められたものであることが示された。

#### 論文審査の結果の要旨

変異原性を有するアルキル化剤であるENU(エチルニトロソウレア)は、マウス腹腔内に投与することで、変異を導入することができる。本論文では、このENUを用いた変異導入法により新しく作製された、記憶/活性化T細胞を過剰に有するマウス系統(Memory ENU, MEマウス)について解析を行い、その結果、この変異体の表現型の原因遺伝子としてKDEL受容体1を同定し、さらに過剰に記憶/活性化T細胞を有する表現型の発現メカニズムとして、T細胞の細胞死が関与するものが存在することを示した。さらにその機構についてほぼ明らかにできている。T細胞の過剰活性化、恒常的増殖(ホメオスタティックプロリファレーション)は関節炎、膵島炎をはじめ、さまざまな自己免疫疾患発症の重要な要因であり、その機構の詳細な理解は創薬の観点からも非常に重要となる。この点においても、本研究内容は新たな知見を与えるものであり意義深い。またこの度作製されたMEマウスは、特定疾患の自然発症を認めないが、遺伝的背景として様々な疾患を発症するきっかけを与えることが期待でき、科学的研究における有用性も高く評価できる。

上記理由より本論文を学位に値するものと認める。