

Title	Invariant chain p41 mediates production of soluble MHC class II molecules
Author(s)	宍戸, 達也
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72562
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 宋戸 達也

論文審査担当者	(職)	氏名
	主査 大阪大学教授	荒瀬 尚
	副査 大阪大学教授	山崎 晶
	副査 大阪大学教授	竹田 潔

論文審査の結果の要旨

MHCクラスII分子は主に抗原提示細胞の細胞膜上に発現し、T細胞にペプチド抗原を提示することで免疫応答の中心的な役割を担っている。一方、MHCクラスII分子は血液中にも存在する。血液中のMHCクラスII分子の機能は不明な点が多いが、T細胞受容体を介してCD4陽性T細胞の活性化を制御すると考えられている。しかし、血液中のMHCクラスII分子がどのように産生されるかは明らかでない。一方、Invariant chain (Ii)は小胞体内でMHCクラスII分子と結合し、MHCクラスII分子の抗原提示に必須な機能を担っている。我々は、Iiの機能を明らかにするために、Ii欠損マウスを製作し、血液中のMHCクラスII分子を解析した。その結果、Ii欠損マウスにおける血液中のMHCクラスII分子の量は野生型マウスと比較し著しく減少していた。また、血液中のMHCクラスII分子をゲル濾過クロマトグラフィーで解析したところ、エクソゾーム上に存在するのではなく、可溶性蛋白質として存在することが判明した。トランスフェクタントを用いても可溶性MHCクラスII分子の産生にIiが関与していることが判明した。以上より、Iiは可溶性MHCクラスII分子の産生に重要な役割を持つことが明らかになった。本研究内容は、可溶性MHCクラスII分子の産生機序の解明に大きく貢献することが考えられるため、学位に値するものと認める。

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	矢戸 達也
論文題名 Title	Invariant chain p41 mediates production of soluble MHC class II molecules (Invariant chain p41は可溶型MHCクラスII分子の産生を制御する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>MHCクラスII分子は抗原提示細胞の細胞膜上に発現し、ヘルパーT細胞にペプチド抗原を提示することで免疫応答の中心的な役割を担っている。一方、MHCクラスII分子は血液中にも可溶型タンパク質として存在する。血液中の可溶型MHCクラスII分子の機能は不明な点が多いが、T細胞受容体を介してCD4陽性T細胞の活性化を制御すると考えられている。しかし、MHCクラスII分子は膜型タンパク質であるため、血液中の可溶型MHCクラスII分子がどのように産生されるか明らかでない。一方、Invariant chain (以下Ii)は、小胞体内でMHCクラスII分子と結合し、MHCクラスII分子の抗原提示に必須な機能を担っている。また、Iiは細胞内領域にエンドソーム標的モチーフを持つことから、MHCクラスII分子の細胞内輸送に関与することが報告されている。そこで我々は、Iiが可溶型MHCクラスII分子の産生に関与するのではと仮説を立て、可溶型MHCクラスII分子の産生機序の解明を試みた。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>Ii欠損マウスを作成し、血液中の可溶型MHCクラスII分子を定量した。その結果、野生型マウスと比較して、Ii欠損マウス血液中の可溶型MHCクラスII分子は著しく減少していた。この結果より、生理的条件下において、Iiが可溶型MHCクラスII分子の産生に重要な役割を果たすことが示唆された。</p> <p>そこで次に、HEK293T細胞にMHCクラスII分子を遺伝子導入し、培養上清中に産生される可溶型MHCクラスIIの発現をIiの存在下、非存在下で検討した。細胞表面上のMHCクラスII分子の発現はIi存在下、非存在下において差は見られないものの、培養上清中の可溶型MHCクラスII分子の発現はIi存在下においてのみ確認できた。また、マウスIiにはp31とp41の2つのアイソフォームが存在することが知られている。その違いは細胞外領域において、p41はp41固有の64アミノ酸配列が挿入されていることであり、その領域以外は同じアミノ酸配列である。同様にヒトにおいても4つのアイソフォームが存在することが報告されている。そこで、アイソフォームp31とp41の間で、可溶型MHCクラスIIの産生に差があるかどうか調べたところ、p41を共発現させたHEK293T細胞の培養上清において、可溶型MHCクラスII分子の産生を著しく上昇させた。この結果より、可溶型MHCクラスII分子の産生にはIi p41が重要な役割を果たすことが示唆された。</p> <p>次に、Iiのどの領域が可溶型MHCクラスII分子の産生に必須なのか調べるために、Iiの様々な変異体を作製した。Iiの細胞内領域のエンドソーム標的モチーフの欠損変異体は、野生型Iiと同等の可溶型MHCクラスII分子の産生を誘導したため、この領域は可溶型MHCクラスII分子の産生に必須ではないことが示唆された。また、細胞外領域欠損変異体を用いた結果から、p41固有のドメインを欠損する変異体において可溶型MHCクラスII分子の産生が減少したことから、可溶型MHCクラスII分子の産生には、p41固有の細胞外ドメインが必須であることが示唆された。</p> <p>血液中の可溶型MHCクラスII分子と細胞培養上清中の可溶型MHCクラスII分子の分子量を調べるために、ゲル濾過クロマトグラフィーを用いて、分画化した。その結果、血液中および細胞培養上清中に含まれる可溶型MHCクラスII分子ともに、約60kDaの分画に溶出された。MHCクラスII分子はα鎖とβ鎖からなり、それぞれの分子量を合わせると約60kDaであることから、可溶型MHCクラスII分子は、エキソソーム等の膜上に存在するのではなく、分泌型タンパク質としてMHCクラスII分子単量体で存在することが示唆された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>可溶型MHCクラスII分子の産生にはIiが必須であり、特に、Iiのアイソフォームp41が産生に大きく関わっていることが示唆された。また、可溶型MHCクラスII分子は、エキソソーム等の膜上に局在するのではなく、分泌タンパク質として血中に放出されている可能性が示唆された。</p>	