The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Impaired B cell terminal differentiation in B cell-specific knockout mice of cell death-defying factor anamorsin
Author(s)	濱中, 有理
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/91796
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	濱中　有理
論文題名 Title	Impaired B cell terminal differentiation in B cell-specific knockout mice of cell death-defying factor anamorsin （アナモルシンはB細胞分化の最終段階において重要な役割をはたしている）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

アナモルシン(AM)は当初、IL3依存性血液細胞株であるBaf3が、IL3非存在下でも生存できることに寄与する分子として当研究室でクローニングされた抗アポトーシス分子であるが、最近になり、様々な生体反応において重要な機能を果たす鉄硫黄クラスター形成にも関与する分子であることも示されている。AMは全身性に発現している分子であるが、リンパ・造血臓器で、特に発現が強く認められている。AM遺伝子欠損(AM KO)マウスは胎生後期に致死となる。AM KOマウスの胎児は体が小さく、貧血様で、胎児肝での造血幹細胞が著明に減少していることから、造血細胞の初期分化段階におけるAMの重要性は明らかにされているが、成熟した造血細胞でのAMの機能は解析できていない。

AMは肝臓癌や卵巣癌などの種々の悪性腫瘍で高発現していることが報告されているが、私たちの研究では、B細胞性悪性リンパ腫でのAMの高発現と治療抵抗性の関連が明らかになっている。成熟B細胞でのAMの機能を明らかにすることは、生理的なB細胞分化の調節機構の観点だけではなく、B細胞性腫瘍を制御していく観点からも重要であると考えられるため、AMのB細胞分化における機能について検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

AM KOマウスが胎生致死であることが、成体マウスでのAMの機能解析を困難にしていたため、AMコンディショナルKO($AM^{flox/flox}$)マウスを作製した。成熟B細胞におけるAMの機能について検討するため、CD19CreマウスをAM$^{flox/flox}$マウスと交配し、Cre/loxPシステムを用いたCD19^{+} B細胞特異的AM欠損(CD19-Cre/AM$^{flox/flox}$)マウスを作製し、同マウスのB細胞について解析した。このマウスでは脾臓におけるB細胞の最終分化段階であるfollicular type I (FO-I)細胞が減少し、またそれ以降の末梢血やリンパ節における成熟B細胞の減少が認められたため、B細胞の成熟過程において、AMが必須の役割をしていることを見いだした。正常の成体マウスにおいては、CD19が陽性となるProgenitor (Pro) B細胞以降の各分化段階のB細胞におけるAMの発現量はほぼ同程度であったが、CD19-Cre/AM$^{flox/flox}$マウスでは、FO-I細胞のみが減少していた。また、同マウスの脾臓のB細胞において、Annexin V陽性のアポトーシス細胞が増加しており、AMは抗アポトーシス作用によりB細胞の分化も制御していると推測された。

〔総　括(Conclusion)〕

B細胞の分化については、骨髄で造血幹細胞からPro B細胞、Precursor B細胞を経てImmature B細胞まで分化したのち、脾臓に移動し、T1,T2細胞となり、その後、FO-I細胞かMarginal zone B細胞のいずれかへの運命決定が行われる。その運命決定において重要な役割をしているのがBCR-Btk pathway (B細胞受容体シグナル伝達経路) であり、FO-I細胞への分化には強いBCRシグナルが必要とされている。CD19-Cre/AM$^{flox/flox}$マウスでは、FO-I細胞の減少に加え、現在行っている研究で脾臓のplasmablast様フェノタイプを持つCD19^{+}B220$^{-/low}$ B細胞の減少や血清IgG3,IgMの減少といったBtk欠損マウスで報告されている特徴が見られていること、またBCR-Btk pathwayの下流にあるp38MAPKの発現も低下していることが明らかとなっていることから、BCR-Btk-p38MAPKシグナルの減弱が、CD19-Cre/AM$^{flox/flox}$マウスにおけるFO-I細胞が減少する機序の一つと考えている。AMは鉄硫黄クラスター形成に関与する分子であることが明らかとなっている。鉄硫黄クラスター蛋白は遺伝子の発現制御、DNA修復、光合成などのエネルギー代謝など様々な細胞機能に関与していることが知られているが、鉄硫黄クラスター蛋白がB細胞の成熟分化に関連している報告はこれまでなく、今回の発見は興味深いものである。今後、我々が今回作成したAMコンディショナルKOマウスを用いた解析により種々の細胞、臓器におけるAMの機能解析がさらに進むことが期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名） 濱中　有理

		（職）	氏　　名	
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	保仙 直毅	署　名
	副　査	大阪大学教授	藤井 [illegible]	署　名
	副　査	大阪大学教授	猪阪 善隆	署　名

論文審査の結果の要旨

本研究では、抗アポトーシス分子としてクローニングされ、鉄硫黄クラスター形成にも関与しているアナモルシン(AM)の機能解析を行うためにAMコンディショナルKOマウスを作製した。CD19Creマウスと交配してCD19^{+} B細胞特異的AM欠損マウスを作製し解析したところ、脾臓におけるB細胞の最終分化段階であるfollicular type I細胞が減少し、またそれ以降の末梢血やリンパ節における成熟B細胞の減少が認められたため、B細胞の成熟過程において、AMが必須の役割をしていることを見いだした。鉄硫黄クラスター形成タンパクがB細胞分化において機能していることを示した初めての報告である。さらにAMがB細胞において抗アポトーシス作用を有し、BCRシグナルの下流にあるp38MAPKの発現の低下を認め、BCRシグナルの制御にも関与している可能性を示した。また、AMコンディショナルKOマウスの作製により種々の細胞、臓器におけるAMの機能解析を可能とした。以上のように本研究の科学的価値は高く、学位に値すると考える。