

過剰のメモリーT細胞を持ち脾臓炎を発症する突然変異マウスからの責任遺伝子の単離

●村上 正晃

大阪大学大学院医学系研究科免疫発生学教室

〈研究の目的と進め方〉

研究の背景：免疫は自己と非自己を区別して非自己を排除する生体の機構である。生体にとって非自己であるウイルス、細菌等が感染した場合、生体はそれら非自己を免疫系にて除去しようと試みる。それまでの研究から免疫系にはNK細胞、マクロファージ、樹状細胞を中心とする自然免疫とT細胞、B細胞を中心とする獲得免疫が存在することが判っている。非自己を除去するために最初に動く免疫系は自然免疫系であるが、この初期の機構のみでは感染症が完治することはほとんどない。しかし、自然免疫系の活性化はそれに引き続くT細胞を代表とする獲得免疫系の活性化に必須である。効率の良い獲得免疫系の活性化に伴って非自己であるウイルス、細菌等は効率良く排除される。人為的な抗原特異的T細胞の活性化は近代免疫学の目指す一つのゴールである。獲得免疫の大きな特徴は一度排除した非自己に対する反応性のクローンを長期間維持して再感染時には獲得免疫系が素早く強く反応することができる点である。このような特性を免疫学的メモリーとよんでいる。免疫学的メモリーの誘導・維持は感染症の治療、予防に極めて重要であり、このメモリーを人為的に形成するのがワクチン接種である。申請者の入学する大阪大学医学研究科平野研では免疫学的メモリーの研究を続けてきた。その過程で、申請者は生体において機能性の液性分子（IFN γ 、ケモカイン等）を放出しやすいメモリーCD8 $^{+}$ T細胞数が2つのサイトカイン、IL-15とIL-2によりそれぞれ正と負に制御されることを発見し、IL-2依存性のメモリーCD8 $^{+}$ T細胞の減少が調節性CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ T細胞を介していることを報告してきた（SCIENCE 1999, Nature Immunology 2000, PNAS 2002, Immunity 2002）。これらの研究の過程で、若齢時から、過剰のメモリーT細胞を持ち、自己免疫疾患様のリンパ球浸潤を脾臓・肝臓にもつ自然発症変異マウス、BL10#4をジャクソンラボラトリー由来の正常C57BL10コロニーから発見した。この後の解析から、その発現型の責任遺伝子が第二番染色体に存在すると、T細胞およびB細胞の分化が阻害されていることをすでに確認している。

〈研究開始時の研究計画〉

これまでにBL10とNZBで長さの異なるMITマーカーを用いてSSLP法にてBL10#4の形質の責任遺伝子の存在を解析してきた。その結果、BL10#4の形質の責任遺伝子が存在する領域（約1 cM）を2番染色体に同定することができた。データベースを用いてこの領域を解析した結果、45個の遺伝子が存在していることが判明した。これらの結果をふまえて私はBL10#4マウスの責任遺伝子を決定して具体的な変異を見つけることおよびその変異が標的とする分子の発現に与える影響を詳細に解析することを目的とする。

1. RT-PCRによる候補遺伝子の解析。データベースを用いて同定した45個の遺伝子のmRNAの発現をC57BL10およびBL10#4を用いて比較する。まず、候補遺

伝子の解析のための順位付けを行う。目安としては (i) 断片の中央に近いもの、(ii) これまでの研究からmRNAの発現がTおよびB細胞で報告されているもの、(iii) 転写因子あるいは信号遺伝系に関わる可能性があるもの（多くの発現型が出ているので転写に関与する分子である可能性が高いと推定している）である。また、ほとんど情報のない遺伝子に関しては、哺乳類以外のデータベースと同一性の検索をして機能を予想することを試みる。それらの順位に従い、コントロールのC57BL10およびBL10#4マウスの骨髄あるいは胸腺のcDNAを用いてRT-PCRを行って候補遺伝子mRNA量の解析を行う。mRNAの発現が確認できた候補遺伝子あるいはすでに発現量に差があった候補遺伝子に関しては、BL10#4マウスにて分化が止まる直前のプレB細胞あるいは胸腺のDN3細胞をソーターで単離してcDNAを作製し、RT-PCRによる解析を行う。

2. 染色体DNAを用いた候補遺伝子の塩基配列の解析。
3. コンジュニックマウスの作製。
4. Alternative Splicingの解析。
5. DNA ArrayおよびProteomics解析。

〈研究期間の成果〉

責任遺伝子を単離することができた。現在責任遺伝子の機能を解析中。今年度中に論文発表予定。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 2003日本免疫学会ポスター発表
- 2005日本免疫学会ポスター発表