氏名	杉本直志（すぎもとなおし）
学位(専攻分野)	博士（医学）
学位記番号	医博第3053号
学位授与の日付	平成19年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Foxp3 - dependent and - independent molecules specific for $CD25^+CD4^+$ natural regulatory T cells revealed by DNA microarray analysis. （DNAマイクロアレー解析によるFoxp3依存性および非依存性の$CD25^+CD4^+$制御性T細胞特異的分子の同定）
論文調査委員	（主査）教授 清水 章　教授 湊 長博　教授 三森経世

論文内容の要旨

$CD25^+CD4^+$制御性T細胞は免疫自己寛容の維持や免疫応答の調節に能動的にかかわっている。制御性T細胞の表面マーカーとしてはCD25，GITR（glucocorticoid-induced TNF receptor family-related gene/protein），CTLA-4などが知られているが，これらは$CD25^-CD4^+$ナイーブT細胞を活性化しても発現が見られる。一方，この制御性T細胞は発生および機能のマスター・コントロール分子として転写因子Foxp3を特異的に発現している。

そこでFoxp3によって誘導される制御性T細胞特異的遺伝子を同定するためにDNAマイクロアレー解析を用いて以下のような細胞群を比較した：ナイーブ$CD25^+CD4^+$ T細胞対ナイーブ$CD25^-CD4^+$ T細胞，活性化$CD25^+CD4^+$ T細胞対活性化$CD25^-CD4^+$ T細胞，Foxp3遺伝子導入$CD25^-CD4^+$ T細胞対mock導入$CD25^-CD4^+$ T細胞。

その結果，ナイーブの$CD25^+CD4^+$ T細胞対$CD25^-CD4^+$ T細胞では76遺伝子が高発現しており，活性化状態での同対では65遺伝子であった。両者に共通するのは13遺伝子であった。Foxp3遺伝子対mock導入$CD25^-CD4^+$ T細胞では合わせて90遺伝子が高発現しており，うち27遺伝子はナイーブまたは活性化$CD25^+CD4^+$ T細胞でも高発現していた。低発現の遺伝子については，順に同様に40，56，5，107，18遺伝子であった。リアルタイム定量RT-PCRにて確認したところ，Gpr83，Ecm1，Cmtm7，Nkg7，Socs2，glutaredoxinは制御性T細胞，およびFoxp3導入細胞に優位に発現していた。他方，insulin-like 7，galectin-1，granzyme B，heliosは制御性T細胞特異的だが，Foxp3非依存性であった。Gpr83については，制御性T細胞表面に発現していることを特異抗体による染色で観察しえた。また*Gpr83*，*Ecm1*，*galectin-1*，*Socs2*の各遺伝子を$CD25^-CD4^+$ T細胞に導入しても抑制活性は付与されなかった。なお$CD25^+CD4^+$制御性T細胞は末梢において低レベルの定常活性化状態にあり，それはFoxp3の発現に依存していた。

結論として，DNAマイクロアレー解析により制御性T細胞に非常に特異的に発現する遺伝子が同定され，一部はFoxp3依存性であった。これらの遺伝子は制御性T細胞の特異的マーカーとなりうる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は，免疫自己寛容の維持や免疫応答の調節に能動的にかかわっている$CD25^+CD4^+$制御性T細胞の新規の表面マーカーおよびその抑制活性作用分子の同定を試みたものである。制御性T細胞の表面マーカーとしてはCD25，GITR，CTLA-4などが知られているが，これらは$CD25^-CD4^+$ T細胞を活性化しても発現が見られる。一方，制御性T細胞は発生および機能のマスター・コントロール分子として転写因子Foxp3を特異的に発現している。そこで本研究ではFoxp3によって誘導される制御性T細胞特異的遺伝子を同定するためにDNAマイクロアレー解析を用いて$CD25^+CD4^+$ T細胞対$CD25^-CD4^+$ T細胞，Foxp3遺伝子導入細胞対mock導入細胞における遺伝子発現が比較されている。

その結果$CD25^+CD4^+$ T細胞またはFoxp3遺伝子導入細胞に特異的に発現している多数の遺伝子が同定され，リアルタ

イム定量 RT-PCR にて確認したところ，Gpr83，Ecm1，Helios は制御性 T 細胞の特異的マーカーとなりうる可能性が示唆されている。更に Gpr83 は制御性 T 細胞表面に発現していることが特異抗体による染色で観察されている。抑制活性に関与しうる分子については，Gpr83，Ecm1，galectin-1，Socs2 の各遺伝子を $CD25^{-}CD4^{+}$ T 細胞に導入したが抑制活性の誘導は見られなかった。

以上から本研究は制御性 T 細胞に特異的に発現する種々の分子について包括的によく解析されており，制御性 T 細胞ひいては様々な免疫疾患の解明に貢献する可能性があり，本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認められる。なお，本学位授与申請者は平成19年１月15日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け，合格と認められたものである。