

氏 名	まつ 村 ゆ み 松 村 由 美
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2305 号
学位授与の日付	平 成 13 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	Intracellular signaling of gp34, the OX40 ligand: Induction of <i>c-jun</i> and <i>c-fos</i> mRNA expression through gp34 upon binding of its receptor, OX40. (OX40 リガンドである gp34 の細胞内シグナルの検討: OX40 の結合による gp34 の細胞内シグナルとして <i>c-jun</i> と <i>c-fos</i> mRNA の発現が誘導される)
論文調査委員	(主 査) 教 授 淀 井 淳 司 教 授 下 遠 野 邦 忠 教 授 宮 地 良 樹

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト gp34 は1985年に HTLV-I 感染細胞に発現する分子として同定され、1994年に TNF ファミリーに属する OX40 リガンドであることが判明したが、生体内での発現および機能は長い間不明であった。最近 gp34 はヒトでは血管内皮細胞、樹状細胞に発現することが明らかになった。OX40 は活性化 T 細胞上に発現し共刺激分子として機能するが、gp34 は OX40 に対するリガンドとして作用するのみならず、OX40 との結合により gp34 発現細胞自身にも生物学的作用を及ぼす。例えば、マウスにおいては B 細胞に gp34 が発現し、B 細胞の増殖、免疫グロブリン産生に補助的な役割を果たす。またヒトでは樹状細胞の成熟およびサイトカイン産生に関わるとされる。しかし、gp34 の細胞内シグナル伝達系については全く報告がなかった。これは他の TNF ファミリーメンバーに関しても同様である。一方、TNF レセプターファミリーのシグナル伝達経路については最近研究が進んでおり、レセプターの細胞内領域結合分子が明らかにされている。本研究は gp34 の細胞内シグナルを解析することを目的とした。

まず、gp34 遺伝子導入細胞を作製し、これを遺伝子組換え可溶性 OX40 にて刺激する系を作製した。マウスの上皮系細胞株 (MMCE) にヒト gp34 の全長を発現させた株 (MMCE/gp34) を、可溶性 OX40 上清あるいは陰性コントロール上清で刺激し、*c-jun* および *c-fos* mRNA の発現が誘導されるかどうかについてノーザンブロッティング法にて検討した。また、抗 gp34 抗体が *c-Jun* および *c-fos* mRNA の発現誘導を阻害するかどうか検討した。その結果、MMCE/gp34 細胞では、可溶性 OX40 上清刺激後に *c-Jun* および *c-fos* mRNA の発現が誘導されるが、抗 gp34 抗体による前処理にて阻害されることが判明した。さらに、これらのシグナル伝達に必要な gp34 細胞内領域について解析を加えた。II 型細胞膜分子である gp34 の細胞内領域 N 末を欠損させた 3 種類の細胞株を作製し、6 アミノ酸欠損細胞株を MMCE/gp34-del3 (細胞内領域は 17 アミノ酸)、15 アミノ酸欠損細胞株を MMCE/gp34-del2 (同 8 アミノ酸)、21 アミノ酸欠損細胞株を MMCE/gp34-del1 (同 2 アミノ酸) とした。これらの細胞株を可溶性 OX40 上清あるいは陰性コントロール上清で刺激したところ、MMCE/gp34-del3 および MMCE/gp34-del2 において gp34 を介して *c-jun*、*c-fos* mRNA の発現が誘導されたが MMCE/gp34-del1 では誘導されなかった。従って、RPRFER の 6 アミノ酸からなる部分が細胞内シグナル伝達に重要だと推測された。文献的に検討したところ、この中のさらに RPRF の部分はヒト、マウス、ラット、ウサギの系で共通に保存されている領域であった。

次に、gp34 を恒常的に発現しているヒト血管内皮細胞 (HUVEC) を用いて検討したところ、可溶性 OX40 上清の刺激にて *c-jun* mRNA の発現が誘導され、さらに抗 gp34 抗体によってこの発現が特異的に阻害されることが判明した。*c-fos* mRNA は検出感度以下であった。

これらの一連の実験により、gp34 を介して細胞内にシグナルが伝達されること、またおそらく細胞内の RPRFER 部分がこのシグナル伝達に重要であることが判明した。HUVEC に関しては gp34 を介する生物学的作用は未だ報告されていない。

いが、本研究により細胞内にシグナルが伝達されることが判明し、何らかの機能を持つことが推測された。

論文審査の結果の要旨

ヒト gp34 (OX40リガンド) は TNF ファミリーに属し、HTLV-I 感染細胞、血管内皮細胞、樹状細胞に発現する II 型膜貫通蛋白であり、活性化 T 細胞に発現する OX40 とともに血管内皮細胞と T 細胞の接着に関与している。皮膚炎症性疾患において OX40 と gp34 がともに発現していることから、この系が炎症細胞の浸潤に関与することが示唆される。OX40 は副刺激分子として作用し、T 細胞の増殖、サイトカイン産生に関与しているが、血管内皮細胞における gp34 を介する生物学的作用については報告がない。T 細胞と血管内皮細胞の接着に際し、血管内皮細胞側にもシグナルが伝達され、生物学的作用を及ぼすのではないかと推測し、実験をおこなった。gp34 導入細胞および 3 種類の gp34 細胞内領域欠損細胞を作成し細胞内シグナルについて解析したところ、gp34 を介して c-jun, c-fos mRNA が誘導され、細胞内領域の RPRFER を含む部分がこのシグナル伝達に重要であると考えられた。ヒト血管内皮細胞においても gp34 を介して c-jun mRNA の発現が誘導された。この結果は、T 細胞と血管内皮細胞の接着に際し血管内皮細胞にも何らかの生物学的作用が及ぶことを示唆するものである。

以上の研究は、gp34 側の細胞内シグナルの解明に貢献し、腫瘍細胞や炎症細胞の浸潤機序の解明に寄与するところが多い。

したがって、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る。

なお、本学位授与申請者は、平成12年11月8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。