

氏 名	井 上 治 久
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1726 号
学位授与の日付	平 成 12 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	Serial analysis of gene expression in a microglial cell line (小神経膠細胞細胞株における遺伝子発現の連続的解析)

論文調査委員	(主 査) 教 授 橋 本 信 夫	教 授 井 出 千 束	教 授 柴 崎 浩
--------	----------------------	-------------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

(目的) ミクログリア(小神経膠細胞)は1932年に高名な解剖学者 Hortega により存在が確認された。中枢神経系細胞の5~20%を構成するといわれている。ミクログリアは脳の免疫担当細胞として、各種の神経栄養因子やその他のサイトカイン産生細胞として、また異物のスカベンジャーとして、生理的および病的状態において極めて重要な働きをしている。また、ミクログリアは、表面マーカーや貪食能、細胞内酵素などではマクロファージと殆ど区別がつかないが、最近、マクロファージと異なり、脳に対して高い親和性を有するという知見が得られている。

本研究はミクログリアで発現している遺伝子を serial analysis of gene expression (SAGE) 法により解析することにより、各種の病態に関与し、また脳に高い親和性を有するミクログリアの分子の基盤を明らかにすることを目的とした。

(方法) SAGE 法による解析にはミクログリア細胞株 Ra 2 を用いた。Ra 2 は新生 B 6 マウス脳より分離したミクログリアをリコンビナント mGM-CSF で培養維持し不死化したものである。この細胞は、GM-CSF 非存在下では増殖を停止し、生体に戻した時には腫瘍性を発揮しない特徴がある。得られた遺伝子の発現を確認するために新生マウス脳より常法により分離したミクログリア(純度99%以上)を用いて RT-PCR を行った。

(結果) Ra 2 細胞株より分離した mRNA から10,386個の sequence tag を得た。それらは6,013種類あり、そのうち1,324個はマウスその他の種において既知の遺伝子として登録されていた。遺伝子発現頻度は1回から243回であった。ferritin light chain (243回), heat shock protein 70 cognate (61回), ECF-L precursor (61回) 等が特に高頻度にみられた。これまでにミクログリアに発現が確認されている免疫関連遺伝子として、C10, IL-18, TGF- β , MMRP 2, 表面分子として β 2-microglobulin, CD18 β , CD36などが高頻度にみられた。免疫関連遺伝子でこれまでミクログリアでの発現が報告されていないものとして、EMAP I, CD107a, laminin 受容体などが高頻度であった。ミクログリアの起源を示唆する遺伝子として、retinoic acid-inducible E3 protein, hematopoietic-specific early response protein, hematopoietic-specific protein 1, EN-7, ufo, Hn 1, primary response gene B94 などが見い出された。一部の遺伝子については一次培養ミクログリアでの発現を確認した。(結論) 本研究により、ミクログリアでの発現が報告されていない免疫関連遺伝子が遺伝子発現プロファイル中に見い出された。中には細胞接着に関連するものもあり、既知の接着分子とともにこれらが脳への高親和性に関連している可能性がある。ミクログリアの発生起源については諸説があるが、本実験の遺伝子発現プロファイルには造血系あるいは中胚葉性細胞特異的遺伝子が複数個含まれ、中でも Hn 1 は10日胚 yolk sac の血島赤芽球に発現し、その後、造血系細胞と神経系細胞に発現がみられることから、ミクログリアの脳へのホーミングが発生初期に生じていることの分子的裏付けであると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ミクログリアは、脳の免疫担当細胞として、各種の栄養因子やサイトカイン産生細胞として、また異物のスカベンジャーとして、生理的および病的状態において極めて重要な働きをしている。しかし、依然として、その機能や起源については未

知の部分が多い。本研究では、ミクログリア細胞株 Ra 2 の total RNA を材料に、serial analysis of gene expression (SAGE) を用いて、ミクログリアの発現遺伝子の解析を行なった。一部の遺伝子については、初代培養ミクログリアでの発現を確認した。その結果、免疫関連遺伝子でこれまでミクログリアでの発現が報告されていないものとして、EMAP I, CD107a, laminin 受容体などの発現が高頻度であった。ミクログリアの起源を示唆する遺伝子として、retinoic acid-inducible E3 protein, hematopoietic-specific early response protein, EN-7, ufo, Hn 1, B94 などの中胚葉特異的遺伝子や造血系特異的遺伝子が見出された。

以上の研究は、ミクログリアの分子的基盤の解明に寄与するところが大きい。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10月16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。