

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 川 染 秀 樹

本論文は、新規免疫抑制剤の開発を目指し、微生物由来免疫抑制物質の作用を細胞内情報伝達機構との関わりから検討したものである。論文は五章から構成され、第一章の免疫抑制剤の作用に関する研究の現状と目的を述べた序論に続き、第二章ではアレルギーに関わる肥満細胞に対する免疫抑制剤の効果について述べている。第三章ではタンパク質合成と免疫抑制作用が注目されているリボゾームS6タンパク質キナーゼを欠失させた細胞株を樹立して解析し、第四章では細胞がアミノ酸濃度を検知する機構に免疫抑制剤が関与する可能性を取り上げている。第五章では得られた結果を総括し、新しい免疫抑制剤の検索と開発の方法について論じている。

免疫抑制剤シクロスポリンA (CsA)、FK506、およびラパマイシン (Rap) はともに微生物由来の抗生物質で臓器移植時の拒絶反応を抑制する。これら免疫抑制剤の作用は主にT細胞を中心に検討がなされてきた。すなわちCsAとFK506はそれぞれシクロフィリンやFKBPに結合してカルシニューリンと下流に位置する転写因子NF-ATを阻害してIL-2の産生を抑制する。一方、RapもFKBPに結合するがカルシニューリンを阻害せず、mTORを阻害して細胞増殖を抑制する。これらの事実を基にして、以下三つの観点から本研究は行なわれた。

初めに、肥満細胞のTNF α 産生機構に着目し、Fc ϵ 受容体 (Fc ϵ RI) とStem Cell Factor受容体 (SCFR) の相互作用と免疫抑制剤の作用について検討した。肥満細胞はFc ϵ RIに結合したIgEが抗原を認識すると、ヒスタミンやTNF α などのサイトカインを放出する。マウス肥満細胞株MC/9に抗卵白アルブミンIgE処理、あるいはSCF処理するとTNF α を産生した。その際、JNKが活性化された。Fc ϵ RIを介するJNKの活性化はCsAやFK506で抑制されたが、SCFRを介する活性化は抑制されなかった。これらの結果は抗原刺激によるTNF α 産生がSCFによるJNKの活性化を通じて増強されることを示している。さらにCsAとFK506はFc ϵ RIを介するJNK活性化を阻害するが、SCFによる活性化を阻害せず、これらの受容体は異なる経路を通じてJNK活性化と、TNF α 産生を引き起こすことを明らかにした。SCFRからのシグナル経路が新規免疫抑制剤開発の新たな標的となる可能性を示した。

次に、タンパク質合成と免疫抑制作用の観点から、S6キナーゼ (p70^{S6k}) を欠失させたマウス胚性幹細胞株を樹立して解析している。RapはFKBPと結合し、プロテインキナーゼmTORを阻害してp70^{S6k}とeIF-4E結合タンパク質 (4E-BP1) の機能を抑制する。Rap処理で両者は脱リン酸化され、キャップ依存性翻訳開始を阻害するとされてきた。しかしp70^{S6k}破壊細胞 (-/-細胞) は増殖し、Rapによる増殖抑制作用も野生型細胞と同程度で、4E-BP1のリン酸化も差は認められなかった。したがってRapによる細胞増殖抑制作用と4E-BP1の制御にp70^{S6k}は必須ではないことを明らかにした。さらに-/-細胞では

Rapによる5' TOP mRNA特異的な翻訳抑制は見られず、このことはmTORの下流にp70^{s6k}とS6のリン酸化を介してリボゾーム等のタンパク質合成に関わる分子の翻訳を制御する経路の存在を示唆している。p70^{s6k}はRapのもつ細胞増殖抑制作用や4E-BP1の脱リン酸化への関与の可能性は低く、S6のリン酸化を介してリボゾーム等の翻訳制御に必要な分子であることを明らかにした。

第三に、アミノ酸による免疫賦活作用の観点から、細胞がアミノ酸濃度を検知する機構に免疫抑制剤が関与することを明らかにしている。ヒトTリンパ腫由来ジャーカット細胞の培養液アミノ酸を除去すると、わずか30分でp70^{s6k}活性は消滅するが、アミノ酸再添加で急速に回復した。この回復はRapで抑制され、アミノ酸によるp70^{s6k}活性制御もmTORを介することを明らかにした。次にmTORがアミノ酸濃度を検出する機構として、アミノアシルtRNA合成酵素阻害剤のアミノアルコールがアミノ酸枯渇と同様にp70^{s6k}活性を減少させ、デアシル化tRNAによってRap添加時と同様にmTORを介するシグナルが抑制されることを明らかにした。アミノ酸による免疫賦活作用をmTORを介するシグナルで理解しようとする新しい考え方である。

以上、本論文は微生物由来免疫抑制物質の作用を細胞内シグナル伝達経路と関連付けて解析し、新規免疫抑制物質の開発と応用への基礎となるもので、学術上また応用上の寄与は少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。