

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 齋浦 明夫

本研究は細胞内の転写産物(mRNA)の発現を網羅的に測定する技術である、マイクロアレイ法を用いて、マウス心臓移植モデルにおける急性拒絶反応を分子生物学的に明らかにしようとしたものである。野生型および IFN- $\gamma$  欠損マウスのそれぞれにおいて MHC の異なる心臓を移植し、約13000個の遺伝子の mRNA の相対量を網羅的に測定(遺伝子発現プロファイル)し、以下の結果を得ている。

1. BALB/c マウスから C3H/He マウスへの移植心(アログラフト)は平均 8 日で拒絶された。C3H/He から C3H/He へ移植心(アイソグラフト)はすべて 100 日以上拍動を続けた。アログラフトとアイソグラフトの術後1, 3, 5 日目の移植心から転写産物(トータル RNA)を抽出しマイクロアレイ法の一つである GeneChip 法で解析した。
2. 非拒絶心(アイソグラフト)と比較して拒絶心(アログラフト)において13000個の遺伝子、EST(expressed sequence tag)のなかで 84 個の遺伝子および EST の発現が上昇していた。その中に Mig(monokine induced by interferon  $\gamma$ )などのケモカイン、MHC 分子など多くの IFN- $\gamma$  誘導遺伝子が含まれていた。時系列の解析においてこれらの遺伝子の発現は術後 3 日目より発現していた。これは野生型マウスにおける拒絶心において IFN- $\gamma$  のシグナルの重要性を示唆するものと考えられた。同時にこれまで拒絶との関連が指摘されていない多くの新規拒絶関連遺伝子がプロファイルされた。
3. 次に IFN- $\gamma$  欠損マウス(IFN- $\gamma$  -/-)を用いて同様に解析を行った。驚いたことに BALB/c から IFN- $\gamma$  -/-への移植心は平均 7 日で拒絶された。その際の術後 5 日目の拒絶心における

遺伝子発現パターンを GeneChip 法を用い解析し非拒絶心、野生型での拒絶心の発現パターンと比較した。IFN- $\gamma$  欠損マウスでの拒絶心での遺伝子発現プロファイルは野生型での拒絶心のものとは全く異なる結果となった。野生型の拒絶心で発現の上昇していた 84 個の遺伝子中 64 個の遺伝子は IFN- $\gamma$  欠損マウスでの拒絶心で発現が認められなかった。一方、IFN- $\gamma$  欠損マウスでの拒絶心で 54 個の遺伝子の発現が認められたが、その中に PF-4, C10 といった多くのケモカイン遺伝子が含まれていた。野生型および IFN- $\gamma$  欠損マウスでの拒絶心において多くのケモカイン遺伝子の発現が上昇していたのでケモカイン遺伝子に関して術後 5 日目の発現パターンの特徴を解析した。遺伝子発現パターンにより 1) 野生型の拒絶心でのみ発現が認められるケモカイン群 (Mig, IP-10, RANTES など) 2) 野生型および IFN- $\gamma$  欠損マウスの両者での拒絶心で発現が認められるケモカイン群 (MCP-1, MIP-1 など) 3) IFN- $\gamma$  欠損マウスでの拒絶心でのみ発現の上昇しているケモカイン群 (PF-4, C10, SDF-4 など) の 3 群にクラスター化された。IFN- $\gamma$  欠損マウスは IFN- $\gamma$  誘導遺伝子がなくても独特の経路により拒絶を引き起こすと考えられ、特に MCP-1, MIP-1 を含むケモカイン群は両者共通に発現しているケモカイン群として注目された。

4. GeneChip 法での結果をノーザンブロット法を用いて両者の良好なデータの再現性を確認した。また GeneChip 上になかった interleukin-2, interleukin-4 について検討したが、両者ともにすべての移植心で発現は認められなかった。

以上、本論文はマイクロアレイ法の一つを用いて野生型および IFN- $\gamma$  欠損マウスでの拒絶心においての遺伝子発現を網羅的に測定した結果の解析から、拒絶関連遺伝子を示した。また、IFN- $\gamma$  依存および非依存経路による別の拒絶経路の可能性を示した。臓器移植における急性拒絶反応時の遺伝子発現データはこれまでなされておらず、拒絶片で起きている様々な変化を解明するために重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。