

論文審査の結果の要旨

氏名 安島 理恵子

本論文は 2 章からなり、第 1 章では細胞増殖抑制能を持つ Tob 蛋白質が T 細胞において果たす役割の解明について、第 2 章では Tob ファミリー蛋白質である Tob2 の遺伝子欠損マウス及び *tob/tob2* 遺伝子ダブル欠損マウスの作製及びその解析について述べられている。本論文の内容は以下のように要約される。

第 1 章において、論文提出者は *tob* KO マウスに胸腺及びリンパ節に高頻度に悪性腫瘍ができることに注目し、T 細胞の増殖調節や癌化機構への Tob の関与を解析した。Tob の T 細胞における発現解析から、Tob は T 細胞抗原受容体 (TCR) 刺激依存的に一過的に発現が上昇することを見出した。

そこで、Tob の T 細胞における TCR 刺激依存的な働きに着目し、*tob* KO マウス由来 T 細胞での TCR 下流シグナル伝達や遺伝子発現を解析した。*tob* KO マウス脾臓由来 T 細胞に TCR 刺激した際に、野生型マウス由来 T 細胞と比較し、細胞増殖、IL-2 産生及び IFN- γ 産生が亢進していた。

Tob ファミリー蛋白質は転写因子と会合し様々な遺伝子の転写制御に関与することが報告されている。そこで Tob が IL-2 及び IFN γ 遺伝子の転写を制御している可能性を考え、IL-2 及び IFN- γ 遺伝子プロモーターのレポーターを用いて、これらの遺伝子の発現調節への Tob の関与を調べた。その結果、Tob は TCR 刺激もしくは PMA 及び ionomycin 刺激による IL-2 及び IFN- γ 遺伝子プロモーター活性を抑制していることが示唆された。更に変異体を用いた Tob による IL-2 遺伝子プロモーター活性制御の詳細な検討の結果、Tob が IL-2 遺伝子プロモーター上の、NFAT/AP1 結合領域を介して IL-2 遺伝子プロモーター活性を抑制することを示した。

第 2 章において、論文提出者ははじめに Tob2 のリン酸化機構について解析を行った。すでに Tob のリン酸化機構は EGF や PDGF を初めとする細胞増殖因子によって活性化された Erk1/2 によりリン酸化されることが報告されていた。そこで Tob2 の Erk1/2 によるリン酸

化を解析したところ、Tob2 も Tob と同様に細胞増殖因子刺激依存的に Erk1/2 によってリン酸化されることを示した。更に、*cyclin D1* 遺伝子プロモーターのレポーターを用いた解析から、Tob2 は Tob と同様に *cyclin D1* の発現を転写レベルで制御していることを示唆する結果を得た。この結果は、Tob2 も又細胞内において Tob と同様に増殖因子からシグナルによるリン酸による制御を受け、Tob と機能的に相補している可能性が考えられた。そこで、Tob2 の生体内での機能及び Tob と Tob2 の機能的相補性を解析するため、*tob2* KO マウス及び *tob/tob2* KO マウスを作製した。その結果 *tob2* KO マウス及び *tob/tob2* KO マウスは、生後 1 年齢発育・繁殖共に正常であることを示した。

tob KO マウスが骨石灰化を制御する骨芽細胞の分化・増殖亢進により大理石骨病様の骨量増加を示すことから、*tob2* 遺伝子産物の骨形成への関与を調べた。*tob2* 遺伝子欠損による骨代謝への影響を調べる為、*tob/tob2* KO マウスの骨量解析を行った。その結果、*tob/tob2* KO マウスでは、*tob* KO マウスとは反対に骨量が減少していた。更に、*tob2* KO マウスの骨髄を用いた分化誘導実験により、骨吸収を制御する破骨細胞への分化の亢進を示した。このことにより、Tob2 は破骨細胞の増殖・分化抑制活性を持ち、その為 *tob/tob2* KO マウスの骨量が減少すると考えられた。

以上、論文提出者は Tob 及び Tob2 が成体内の様々な組織において、細胞の増殖・分化を抑制する働きを持つことを示した。また、Tob 及び Tob2 が、免疫、骨の代謝、腫瘍形成の抑制という生体内機能において重要な役割を果たしていることを示した。本論文は、免疫系において自己免疫疾患、成体移植の拒絶反応の抑制、骨形成において骨粗鬆症の治療、更に腫瘍形成の抑制等、ヒト疾患の治療法の開発につながる研究であると考えられる。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。

なお、本論文第 2 章の一部は池松 直子氏・吉田 富氏・大杉 美穂氏・山本 雅氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。