

論文審査の結果の要旨

氏名 内藤 明日香

TNF receptor associated factor 6 (TRAF6)はTNF受容体スーパーファミリー、IL-1R/TLRファミリーからのシグナル伝達に参与するアダプター蛋白質である。TRAF6を培養細胞に過剰発現させると転写因子AP-1やNF κ Bの活性化が起こる為、TRAF6は免疫応答や炎症反応において細胞の刺激応答を制御する分子であると考えられてきたが、培養細胞を用いた解析は生理条件の再現、個体機能の検証という点で限界がある。本論文は遺伝子欠損マウスを用いることによりこの問題点を克服し、TRAF6の生理機能を個体レベルで検証することを目的としている。

1. TRAF6 遺伝子欠損マウスの作製と表現型の観察

TRAF6 遺伝子欠損マウスについて本論文では次の表現型を見い出している。

(1) 脳神経発生異常による一部個体の胎生致死。(2) 出生した個体の離乳前の死亡。(3) 大理石骨病。(4) 無汗性外胚葉形成不全症。(5) リンパ節の欠損。(6) B220⁺/IgM⁺の未熟B細胞の減少。(7) Tリンパ球のIL-1刺激応答性の消失。(1)(2)(5)についてはその原因の解明には至っていないが、(6)に関しては胎仔肝細胞移植を行うとB細胞の分化が正常に戻る事から、大理石骨病発症による骨髄微細環境の異常が原因であると示唆されている。

2. TRAF6 遺伝子欠損マウスにおける大理石骨病

TRAF6欠損マウスでは切歯萌出が見られないことから、硬骨化の異常亢進を示す大理石骨病を疑い、組織学的な解析によりTRAF6遺伝子欠損マウスが破骨細胞の欠損による大理石骨病を示す事を見出した。破骨細胞の分化成熟には骨芽細胞由来のRANKL、M-CSFによる誘導が必要であるが、初代培養系を用いた分化誘導実験により、TRAF6欠損マウスの破骨前駆細胞はM-CSFには応答できるもののRANK刺激に応答できず、その為、破骨細胞に分化できない事を明らかにした。この結果より破骨細胞分化におけるRANKシグナル伝達にTRAF6が必須であることが明らかとなった。

3. 無汗性外胚葉形成不全症

無汗性外胚葉形成不全症 (Hypohidrotic ectodermal dysplasia, HED) は表皮付属器官である毛包、汗腺、皮脂腺、歯の形成不全を示す遺伝病である。ヒトや疾患モデルマウスの研究から、原因として TNF スーパーファミリーの EDA-A1、その受容体 EDAR、アダプター分子 EDARADD を介し、NF κ B を活性化するシグナル伝達の障害が考えられている。

TRAF6 遺伝子欠損マウスは HED モデルマウスである *downles (dl)* と酷似した耳の後部、尾の体毛欠損を示した為、組織の免疫染色や形態観察により病態の確認を行った。その結果、TRAF6 遺伝子欠損マウスが guard hair、zigzag 毛包の欠損、エクリン汗腺、独立脂腺 (マイボーム腺、肛門の独立脂腺、包皮腺) の形成不全においては *dl/dl* マウスと同様の HED を示す一方で、毛包附随型の皮脂腺、毛幹の形態に関しては *dl/dl* マウスには見られない異常を示すことを明らかにした。

dl/dl マウスの原因遺伝子、EDAR に加えて、毛包に発現が局在する新規 TNFR スーパーファミリーメンバーとして XEDAR、TROY がある。これらの受容体の細胞質内領域と TRAF6 を培養細胞に強制発現させると、TRAF6 は XEDAR と強く、TROY とは弱い結合を示し、EDAR とは EDARADD を共発現させた場合にのみ会合が見られた。さらに最も強い相互作用を示した XEDAR について、CD40 の細胞外領域とのキメラ受容体をマウス胎仔繊維芽細胞 (MEF) に発現させることにより、XEDAR による NF κ B の活性化に TRAF6 が必要である事を示した。以上の結果より TRAF6 が EDAR、XEDAR、TROY のシグナル伝達を介して多様な表皮付属器官の形成を担っている可能性を示した。

本論文では TRAF6 が個体の生存、骨組織、表皮付属器官、リンパ節等の器官形成に必須であることを明らかにした。これらの知見はマウス個体を用いることにより初めて見いだされたものであり、TRAF6 の生理機能のみならず個体の発生や恒常性の維持といった生命現象の理解に大きく貢献するものである。

なお、本論文は吾妻さくら、井上純一郎、勝木元也、佐藤瑞穂、高木智、高津聖志、田中栄、中尾和貴、中村健司、西岡恵里、西川伸一、宮崎剛、山本雅、吉田尚弘との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士 (理学) の学位を授与できると認める。