

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 倉田 寛一

本研究はヘルパーT細胞分化の分子生物学的機構を明らかにするため、マウスナイーブTヘルパー (Th) 細胞にレトロウイルスベクターによりシグナル分子を導入する系、および、アデノウイルスベクターを用いてサイトカインをマウス体内に高発現する系を用いて、Th細胞形質の変化や生体内免疫反応の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. IL-4 受容体シグナルの一つである Stat6 を誘導的に活性化する系(Stat6:ER)をナイーブ Th 細胞に導入し Stat6 を活性化すると、Th1 細胞誘導培養に抗して Th2 型形質が誘導された。変異 Stat6 や IL-4 遺伝子欠損細胞の実験から上記の Th2 方形質の誘導が Stat6 の活性化に依存する、細胞内在的な機序によることが示された。
2. Stat6 の活性化により IL-12 受容体 $\beta$ 2 鎖 mRNA は抑制され、Th2 特異的転写因子 GATA-3 と Tbet の mRNA が誘導された。また、長時間 (3 週間) Th1 細胞に分化させた細胞では Stat6 の活性化によっても Th2 型形質が誘導されないことより固定化した Th1 細胞形質の維持が Stat6 の不活化以外の機序によることが示された。
3. Th2 細胞分化の master regulator を検討するため、GATA-3 およびその変異分子を Th1 細胞誘導系に導入し、GATA-3 の 2 つの zinc fingers の異なる役割が示された。さらに、これらの zinc fingers に結合する分子を yeast two-hybrid 法により Th2 細胞ライブラリーから screening し、Friend of GATA (FOG) が同定された。
4. FOG mRNA はナイーブ T 細胞に発現されるが、Th1/Th2 細胞分化に伴い消失する。ま

た、レトロウイルスにより Th2 細胞に FOG を導入すると Th2 サイトカインの産生を抑制し、IFN- $\gamma$  の産生を促進するなど GATA-3 の活性を抑制する効果が示された。また、欠損変異 FOG の実験により、この抑制効果は N 末端領域が必須であることが示された。

5. アデノウイルスベクターの *in vitro* 感染性は vitronectin 受容体レベルに相関し、浮遊細胞やリンパ球では低値であった。アデノウイルスをマウスに静脈注射すると肝臓を主とした一過性のレポーター遺伝子発現が認められた。野生型アデノウイルスによる肝壊死とは異なるが、E1 欠損型アデノウイルスでも炎症反応が惹起された。アデノウイルスによる IL-4 と IL-13 の生体内発言によりマクロファージの増殖・浸潤や造血亢進を伴う急性毒性症状が顕著に現れた。

以上、本研究はレトロウイルスベクターを用いた、マウスナイーブ Th 細胞における Th2 細胞形質を誘導するシグナル分子の解析から、Stat6, GATA-3 の中心的役割を明らかにし、また、GATA-3 を抑制する FOG の作用を解明した。さらに、本研究はアデノウイルスのリンパ球系細胞への感染性や Th2 サイトカインの生体内での急性毒性を明らかにするなど方法論としてのウイルスベクターの位置付けを明示した。本研究はこれまで未知に等しかった、Th2 細胞分化の分子生物学的機序の解明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。