

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 後藤 貴康

細菌やウイルスなどの外来抗原から身を守るために我々の体には免疫系と呼ばれる極めて精巧な機構が備わっている。しかし、同様に外来抗原である食物に対しては排除するという反応を起こさない。このように経口的に摂取した抗原に対して過剰な免疫応答を起こさなくなる現象は経口免疫寛容現象と呼ばれている。本論文は、経口免疫寛容の分子レベルでの誘導・維持機構の解明、経口免疫寛容のマーカー分子となる分子を目的として、経口免疫寛容に中心的な役割を果たしているとされる CD4 陽性 T 細胞に着目して、経口免疫寛容状態で特異的に発現する遺伝子を同定、解析したものである。

緒言において本論文の背景、意義、目的について概説されている。続く第一章では、経口免疫寛容を誘導された CD4 陽性 T 細胞に特異的に発現する遺伝子の検索を行っている。鶏オバルブミンを特異的に認識する T 細胞レセプターを高発現している TCR トランスジェニックマウス (DO11.10) に、卵白含有食を摂取させることにより経口免疫寛容状態 CD4 陽性 T 細胞を誘導し、サブトラクション法を用いて、遺伝子の検索を行った。その結果、経口免疫寛容を誘導された T 細胞に特異的に高発現する遺伝子として新規に 12 個の遺伝子を同定した。それらの遺伝子は、LAX (Linker for Activation of X cells, X indicates “to be defined”)、culin1、Napg (N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein, gamma)、HSP40 (Heat shock protein 40)、Zfhx1b (Zinc finger homeobox protein 1b)、emerin、Zfp36 (Zinc finger protein 36)、MKP-1 (MAP kinase phosphatase-1)、4 個の機能未知遺伝子 (unknown gene 1、2、3、4) であった。

第二章では、免疫寛容の誘導された CD4 陽性 T 細胞に高発現している遺伝子の発現特性についての解析を行っている。また、これまで不応答化関連遺伝子の多くは *in vitro* において T 細胞を不応答化した実験系で同定されており、*in vitro* 実験系で得られた結果が生体内での T 細胞の不応答化を反映していない可能性がある。そこで、第一章で同定された遺伝子の *in vitro* 系で誘導された CD4 陽性 T 細胞での遺伝子の発現特性についての検討も行った。その結果、第一章で同定された遺伝子には、経口免疫寛容誘導初期で特に高い発現が見られる遺伝子 (Zfhx1b) と、誘導後期で特に高い発現が見られる遺伝子 (LAX、MKP-1、emerin、unknown gene 1、3、4) が存在することが判明した。その発現時期から誘導初期で特に高い発現が見られる遺伝子は免疫寛容の誘導に、誘導後期で特に高い発現が見られる遺伝子は免疫寛容状態の維持に関与していることが示唆された。また、*in vivo* 誘導系と *in vitro* 誘導系ではその発現特性に違いがあることが示されたことから、*in vivo* 誘導と *in vitro* 誘導系では、その誘導機構・維持機構に違いがあることが示唆された。

第三章では、経口免疫寛容状態の T 細胞に高発現していることが確認された遺伝子が T 細胞活性化抑制能を有するかどうかについて検討を行った。その際、T 細胞の増殖・分化に必要なであるインターロイキン 2 (IL-2) 遺伝子の転写抑制能を指標に T 細胞活性化抑制能

の評価を行った。IL-2 のプロモーター領域を挿入したレポータープラスミドを T 細胞ハイブリドーマ (68-41) に遺伝子導入してルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、LAX、HSP40、Napg、emerin、culin 1、MKP-1、unknown gene 2 について IL-2 遺伝子の転写抑制能を確認し、これらの遺伝子が T 細胞活性化抑制能を有していることが強く示唆された。

以上、本論文では、経口免疫寛容を誘導された CD4 陽性 T 細胞に高発現している遺伝子を新規に 12 遺伝子同定し、その中には T 細胞活性化抑制能を有する遺伝子が含まれることを強く示唆する結果を得た。経口免疫寛容は生体に生まれながらに備わっている自然な免疫抑制機構であり、アレルギーや自己免疫疾患に対する安全かつ有効な免疫抑制法として期待されているもので、本論文は、学術上、応用上貢献するところが少なくない。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。