

審査の結果の要旨

氏名 片山 緩子

本研究は、造血系・免疫系細胞の恒常性維持システムについて、造血幹細胞、前駆細胞の分化・増殖を負に制御する細胞内アダプター分子 Lnk/Sh2b3 の発現制御に着目し、解明を試みたものである。生体内及び生細胞における Lnk 発現を明らかにし、さらに新規の機能を同定するなど下記のような結果を得ている。

1. 増殖中の細胞における Lnk の発現変化を GFP 蛍光でモニターできるミュータントマウスを作出した。プロモータ領域を残したままマウス *lnk* 遺伝子座を GFP 遺伝子で置換するようなターゲティングベクターを作成し、これを ES 細胞へ導入して Lnk:GFP ノックインマウス系統を樹立した。
2. 骨髄の未分化な前駆細胞における Lnk 発現が、骨髄抑制からの回復中には低く保たれることを見出し、細胞分化段階に依存しない Lnk 発現抑制機構の存在を示した。
3. B、T 両リンパ球系細胞において、分化段階初期の Lnk 発現低下と成熟に伴った発現上昇を明らかにした。各リンパ球が分化過程に連動した発現制御を受けることを示した。
4. 抗原受容体刺激により *in vitro* で増殖中の成熟リンパ球における Lnk 発現量は、刺激前と比較して変化がないことを示した。
5. 骨髄や脾臓に存在する抗体産生細胞 plasma cell では Lnk の発現量は低く、また *in vitro* で B リンパ球から終末分化を誘導した際にも分化に伴って Lnk 発現量が低下し、成熟 B リンパ球においては細胞分化に依存した Lnk 発現調節機構が存在することを示した。
6. GVHD 時の生体内で活性化した T リンパ球では Lnk の発現が低下すること見いだした。*In vitro* における各種炎症性サイトカイン添加は Lnk 発現量に影響しないこと、MLC でも Lnk 発現量は変化しないことから、Lnk 発現制御

における生体内環境因子の重要性が推察された。

7. 腸管組織内に局在する T リンパ球では Lnk 発現量が低く保たれることを見いだした。 *In vitro* におけるレチノイン酸刺激によって腸管指向性 T リンパ球へ分化した T リンパ球で Lnk 発現量の減少傾向が認められることから、組織局在性 T リンパ球への分化が Lnk 発現を制御し得ることを示した。
8. Lnk 欠損マウスの二次リンパ組織内で T リンパ球の絶対数が有意に増加することを示し、また二次リンパ組織中で CD44^{high}CD62L⁺、IFN-g 産生性の CD8⁺ T リンパ球の割合が増加している事を見いだした。腸管粘膜においても IFN-g 産生性の CD8⁺ T リンパ球の増加傾向を認め、これらの変化は CD4⁺ T リンパ球には表れないことを確認した。Lnk が生体内で IFN-g 産生性 CD8⁺ T リンパ球の増幅抑制に働くことが推察された。
9. Lnk 欠損マウスが小腸遠位部限局的に腸絨毛の萎縮／変形を自然発症することを明らかにし、Lnk タンパクの欠失が腸管粘膜組織の異常に繋がり得る事ことを示した。

以上、本論文は、分化段階依存的な発現制御と生体内での活性化に伴う発現抑制という複数の Lnk 発現制御機構を介した造血系・免疫系細胞の恒常性維持機構を提示した。また、末梢 T リンパ球の機能制御と腸管粘膜組織の恒常性維持に関与するという、これまでに知られていなかった Lnk の機能を明らかにした。本研究は、ヒト LNK の SNP と関連が報告されている I 型糖尿病やセリアック病等の自己免疫疾患の発症病理の解明に貢献するものであり、学位の授与に値すると考えられる。