

論文内容要旨

論文題目

Functional analysis of Apel/Ref-1 in response to IL21 signaling

(IL21 情報伝達における Apel/Ref-1 の機能解析)

責任講座： 免疫学 講座

氏 名： Farha Matin Juliana

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景と目的】 インターロイキン 21 (IL21) は免疫系において T 細胞や B 細胞、NK 細胞、樹状細胞などに対して多彩な機能を発揮するサイトカインである。特に様々な炎症反応を誘導する Th17 細胞の分化誘導にも関わることから、その機能解析は重要な研究テーマである。IL21 は JAK-STAT 系や ERK 系、PI3-K 系などの情報伝達系を活性化することが知られているが、その全容の解明には至っていない。私は免疫応答にとって極めて重要な IL21 の機能解明のため、その新たな情報伝達系の探索を行った。

【方法】 多くのサイトカインは細胞表面の受容体に結合し、細胞内に情報を伝える。情報は細胞質から核へ伝達され、細胞の増殖や分化、機能発現などを引き起こす。従って IL21 により核内へ伝達される情報を解析することは、IL21 の機能を調べるために役立つと考えられる。私は IL21 刺激により、細胞質から核へ移行する蛋白を探索するために、inducible translocation trap (ITT) 法を試みた。ITT 法は GFP をレポーターとして、核内へ移行する分子を検出するシステムである。この方法を用いて IL21 刺激により核内へ移行するいくつかの分子を同定した。その中で Apurinic Endonuclease 1/Redox Factor-1 (Apel/Ref-1) に着目し、IL21 情報伝達系における機能の解析を行った。

【結果と考察】 Apel/Ref-1 は損傷を受けた DNA を修復する機能とレドックス制御機能を併せ持つ多機能蛋白であり、レドックス機能により AP-1 や NF- κ B など多くの転写因子の活性化も制御している。マウス B 細胞株を用いた研究により、Apel/Ref-1 は IL21 刺激により核内に移行すると共に、mRNA 量も増加することが判明した。そこで IL21 依存性細胞増殖能について Apel/Ref-1 の機能を検討した。Apel/Ref-1 野生型あるいは N 末側にあるレドックスドメインを欠失した変異体を B 細胞株に強制発現させると、IL21 依存性の細胞増殖はそれぞれ促進あるいは抑制された。次に IL21 情報伝達における最も重要な転写因子である STAT3 について調べた。Apel/Ref-1 発現は STAT3 蛋白発現を誘導し、逆に Apel/Ref-1 shRNA による Apel/Ref-1 の発現抑制は、STAT3 の発現を抑制することを発見した。STAT3 は IL21 の持つ Th17 細胞分化促進能にも必須の分子である。これらの結果から、Apel/Ref-1 は IL21 情報伝達促進作用を持つこと、特に STAT3 の発現を誘導・維持することにより IL21 の機能発現に関わっていることが示唆された。

平成 22年 1 月 27 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： Farha Matin Juliana

論文題目：Functional Analysis of Apurinic Endonuclease 1/Redox Effector Factor-1 (Ape1/Ref-1) in Response to Interleukin 21 (IL-21) Signaling (IL-21 情報伝達における Ape1/Ref-1 の機能解析)

審査委員：主審査委員

藤井 順逸



副審査委員

本山 操一



副審査委員

倉沼 博久



審査終了日：平成 22年 1 月 20日

【 論文審査結果要旨 】

免疫系は生体防御の中心として重要な役割を担う一方で、炎症やアレルギーのような病態では障害的にも作用するため、その制御のしくみを正確に理解することが必要である。インターロイキンと称される一群のサイトカインは、免疫系を構成する細胞の増殖や分化を制御する因子である。その一つであるインターロイキン 21 (IL-21) は、T 細胞・B 細胞・NK 細胞などの細胞表面に存在する受容体に結合し、JAK-STAT 系・MAP Kinase 系・PI3 Kinase 系といった細胞内情報伝達経路を活性化する事で多様な機能を発揮する。本研究では、IL-21 刺激による細胞内情報伝達に関わる新規分子を検索し、得られた分子の機能について検討を行った。

IL-21 受容体を構成する分子のうち、6 種類のサイトカイン受容体に共通するγサブユニットを発現しているプロ B 細胞である Ba/F3 細胞に、IL-21 受容体を発現させた BAF21RWT-1 細胞を用いた。細胞外刺激が受容体を介して遺伝子発現に影響を与える過程では、受容体から遺伝子までの間を仲介する情報伝達経路が活性化されるが、その際に核外に存在する分子が核内へと移行する。本研究では、この核移行する未知の分子を検索するために開発された Inducible Translocation Trap 法を用いて IL-21 刺激による情報伝達分子の検索を行った。その結果、幾つかの候補分子が同定されたが、その中の一つ Apurinic Endonuclease 1/Redox Effector Factor-1 (Ape1/Ref-1) に着目し詳細な解析がなされた。Ape1/Ref-1 は、IL-21 刺激により細胞質から核へと移行した。また IL-21 刺激により、Ape1/Ref-1 ならびに STAT3 の遺伝子発現が誘導された。 [³H]チミジンの取り込みと細胞増殖は、Ape1/Ref-1 を過剰発現させた細胞を IL-21 刺激した場合には促進され、レドックスドメインを欠損する変異 Ape1/Ref-1 を過剰発現させた場合には逆に抑制された。さらに、shRNA を用いた Ape1/Ref-1 のノックダウンにより STAT3 の発現が抑制され、増殖因子の除去による細胞死が早期に起った。以上の結果は、IL-21 刺激により Ape1/Ref-1 が核に移行し、STAT3 などの遺伝子発現や細胞増殖の促進に関わる可能性を示唆している。

本論文で得られた新しい知見は、免疫系で重要な役割を担う IL-21 の細胞内情報伝達に働く新規分子として Ape1/Ref-1 を見だし、それが B 細胞増殖にかかわることを明らかにした点にあり、博士 (医学) の学位論文にふさわしいと判断した。

(1, 200 字以内)