

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
土居 芳 充	主 査 教 授 花 房 俊 昭 副 査 教 授 吉 田 龍 太 郎 副 査 教 授 林 秀 行 副 査 教 授 田 窪 孝 行 副 査 教 授 黒 岩 敏 彦
主論文題名 Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines (多発性硬化症の T 細胞におけるオーファン核内受容体 NR4A2 は炎症性サイトカインの産生に 関与している)	
学位論文内容の要旨	
<p>《目 的》 多発性硬化症(MS)の病態形成機構の解明と、新たな治療戦略の探索を目的として、病原性 T 細胞の機能解明という視点からマイクロアレイ等の網羅的解析手法を進められており、その結果、健常人と比較して MS 患者由来末梢血 T 細胞で特異的な発現を示す遺伝子群が認められている。 本研究ではさらなる解析を進める目的で、それらの遺伝子群のうち、オーファン核内受容体転写因子 NR4A2 について詳細な検証を行った。NR4A2 が T 細胞依存性の病態形成に関わる重要な因子であることを示すために、NR4A2 特異的 siRNA を用いて実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)の抑制を試み、NR4A2 を介した T 細胞の炎症性サイトカイン産生抑制による新規病態制御法確立の可能性を検証した。</p> <p>《方 法》 cDNA マイクロアレイにより、MS 患者と健常人との間で末梢血 T 細胞の発現遺伝子の比較解析を行った。マウスに実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)を誘導し、中枢神経領域(CNS)に浸潤した T 細胞の NR4A2 発現と、IL-17 産生を解析した。レポーターアッセイを用いて、サイトカイン遺伝子転写に対する NR4A2 の機能を調べた。また、レトロウイルスを用いた NR4A2 遺伝子導入、および NR4A2 特異的 siRNA を用いた NR4A2 遺伝子の抑制がサイトカイン産生に及ぼす影響を調べた。さらにミエリン抗原特異的病原性 T 細胞の移入により SJL マウスに EAE を誘導し、NR4A2 特異的 siRNA の病態抑制効果を検証した。</p> <p>《結 果》 EAE を誘導したマウスの CNS に浸潤した T 細胞で、NR4A2 の発現は高値を示し、同時に IL-17 産生細胞が高頻度で認められた。マウス EL4 細胞に NR4A2 発現プラスミドを遺伝子導入すると、IL-17、IFN-γ、IL-2 遺伝子のプロモーター活性が上昇した。レトロウイルスを用いてヒト末梢血 T 細胞に NR4A2 遺伝子を導入すると、刺激後の IL-17 および IFN-γ の産生が顕著に亢進した。一方、NR4A2 特異的 siRNA を導入することにより、IL-17 および IFN-γ の産生は、いずれも有意に抑制された。また、</p>	

ミエリン抗原特異的病源性 T 細胞に siRNA を導入し NR4A2 の発現を抑制すると、control RNA で処理した細胞に比べて移入後の EAE は軽症化した。

《考 察》

MS 患者由来末梢血 T 細胞を用いたマイクロアレイ解析により同定した NR4A2 は、EAE 誘導時の CNS 浸潤 T 細胞で選択的に発現しており、その変動は IL-17 産生の亢進と相関していた。レポーターアッセイにより、NR4A2 はサイトカイン遺伝子の転写制御に直接あるいは間接的に関与する可能性が示された。また、レトロウイルスあるいは siRNA を用いて NR4A2 の発現調節を行うと、IL-17 や IFN- γ などの炎症性サイトカインの発現が NR4A2 の発現と並行して変化することを示した。MS の病態形成に関する最近の知見として、マウス EAE モデルを用いた解析から、中枢神経領域に浸潤した IL-17 産生性 T 細胞 (Th17 細胞) が、病源性 T 細胞として病態に深く関与することが明らかとなっている。本研究で示された結果から、NR4A2 が特異的 siRNA や小分子化合物による機能制御を介して、IL-17 や IFN- γ などの炎症性サイトカインの産生抑制と MS の病態軽減を図るための新たなターゲット分子になると考えられた。

《結 語》

NR4A2 の発現および機能の選択的な制御を通じて、病源性 T 細胞のサイトカイン産生を特異的に抑制することにより、MS の病態形成をコントロールする新たな治療戦略の可能性が示された。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙 第 号	氏 名	土居 芳 充
論文審査担当者		主 査 教授 花 房 俊 昭	
		副 査 教授 吉 田 龍 太 郎	
		副 査 教授 林 秀 行	
		副 査 教授 田 窪 孝 行	
		副 査 教授 黒 岩 敏 彦	
主論文題名			
<p>Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines (多発性硬化症の T 細胞におけるオーファン核内受容体 NR4A2 は炎症性サイトカインの産生に 関与している)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>多発性硬化症 (MS) は、中枢神経系自己抗原反応性 T 細胞により惹起されると考えられている。従って、MS 患者の末梢血 T 細胞を網羅的に解析することは、病原性細胞の直接の機能解析に繋がり、優れた治療戦略の一つと考えられる。</p> <p>本研究は、cDNA マイクロアレイの結果 MS で発現が特異的に上昇している遺伝子群のうち、オーファン核内受容体転写因子 NR4A2 について次のような検証を行った。すなわち、NR4A2 が T 細胞依存性の病態形成に関わる重要な因子であることを示すために、NR4A2 特異的 siRNA を用いて実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の抑制を試み、NR4A2 を介した T 細胞の炎症性サイトカイン産生抑制による新規病態制御法確立の可能性を検証した。</p> <p>その結果、申請者は本研究において、</p> <ol style="list-style-type: none"> MS 患者と健常者の比較において、末梢血 T 細胞の発現遺伝子のうち、MS 患者において有意に高い発現を認めた遺伝子として、NR4A2 を確定した。 MS のマウスモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) において、NR4A2 遺伝子は、EAE 発症時の中枢神経浸潤 T 細胞で選択的に認められ、IL-17 産生の亢進と関連することを同定した。 レポーターアッセイにより、NR4A2 がサイトカイン遺伝子の転写制御に直接あるいは間接的に関与する可能性を示した。 レトロウイルスあるいは siRNA を用いて NR4A2 の発現調節を行うと、IL-17 や IFN-γ などの炎症性サイトカインの発現が NR4A2 の発現と並行して変化することを示した。 マウス EAE モデルを用いた解析から、adoptive transfer の細胞に NR4A2 遺伝子特異的 siRNA を導入した場合、control の RNA を導入した細胞を transfer したマウスに比べて EAE が抑制されることを示した。 <p>これらの結果から、NR4A2 遺伝子 が MS 患者の T 細胞において、健常者に比較して発現が亢進していることが示された。さらに NR4A2 の発現および機能を選択的に制御することは、病原性 T 細胞</p>			

のサイトカイン産生を特異的に抑制することに繋がり、MS の新たな治療戦略になる可能性が示された。

以上により、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Proceedings of National Academy of Science of the United States of America
105(24): 8381-8386, 2008