

氏名(本籍)	まつもと よしこ (茨城県)		
学位の種類	博士(生物工学)		
学位記番号	博甲第5389号		
学位授与年月日	平成22年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Identification of Highly Expressed Genes in Peripheral Blood T Cells from Patients with Atopic Dermatitis (アトピー性皮膚炎患者末梢血 T 細胞における高発現遺伝子群の同定)		
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学教授	農学博士	馬場忠
副査	筑波大学教授	農学博士	小林達彦
副査	筑波大学教授	博士(薬学)	柳澤純

論文の内容の要旨

アトピー性皮膚炎は、慢性的で増悪・寛解を繰り返す皮膚炎である。強いかゆみを伴い、治療薬としてステロイドが外せないこと、完治が困難なことなどから、患者のクオリティオブライフは低い。アトピー性皮膚炎は IgE 抗体や遺伝的背景・環境などが相互作用して発症する多因子疾患であり、病態や発症原因については未だ不明な点が多い。そこで、アトピー性皮膚炎の発症メカニズム、創薬ターゲットを見出すためのアプローチ法として、病態関連遺伝子の探索に取り組んだ。アトピー性皮膚炎患者及び健常人の末梢血試料から、免疫系において重要な役割を担う T 細胞を分離し、蛍光ディファレンシャルディスプレイ法及び定量的 RT-PCR 法により遺伝子発現比較解析を行った。

第二章では、T 細胞での機能が知られている遺伝子の解析から、中等症、重症患者では、ケモタキシス、接着、Th2 細胞への分極に関する遺伝子の増加が明らかとなり、過去の知見を支持する結果となった。また、ディファレンシャルディスプレイの結果、アトピー性皮膚炎患者で有意に発現増加する新規遺伝子 KIAA0603 (AS160, TBC1D4) と AB100163 (CCDC132) を見出した。特許性の観点から、これらの遺伝子に着目し、機能解析および遺伝子のクローニングを行った。

KIAA0603 は、健常人に比して患者群、中でも中等症で最も高い発現を示した。第三章では、KIAA0603 の機能解析を行った。KIAA0603 タンパクの C 末側、TBC ドメインから in silico タンパク立体構造を予測したところ、すでに結晶構造が公開されていた酵母の GTPase activating protein、Gyp1p と非常に良く似た構造であることが明らかとなった。Gyp1p の GTPase 活性部位である Arg343 は、KIAA0603 においても Arg973 として保存されていたことから、KIAA0603 は GTPase activating protein であると予測された。T 細胞サブセットの中での KIAA0603 の発現は、抗原提示後のメモリー T 細胞で特に高いことが明らかとなった。さらに、T 細胞レセプターを介した抗原刺激時、特に Activation induced cell death 時に KIAA0603 の発現が顕著に増加することを見出した。

AB100163 は、健常人より患者群で、患者群の症状別では軽症より中等症、重症で高い発現を示した。第四章では、ディファレンシャルディスプレイで見出した配列を元に、バイオインフォマティクスツールを用

いて完全長の AB100163 遺伝子について解析した。AB100163 は 964 アミノ酸をコードし、N 末側にタンパク質相互作用を担うコイルドコイル配列と、ATP_GTP タンパク結合モチーフを持つが、機能予測が可能なモチーフ配列は持たない。AB100163 は、他に相同性の高いタンパク質が存在しないことから、新規遺伝子であると考えられた。AB100163 遺伝子の発現は多くの組織でユビキタスに認められたが、中でも脳と骨格筋で高い発現が認められた。AB100163 タンパクは T 細胞株に発現しており、その局在は細胞質であった。以上の結果から、KIAA0603 および AB100163 はアトピー性皮膚炎の診断マーカーとしての可能性が示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究において、第二章で見出した臨床試料における複数遺伝子の発現プロファイルは、複雑なアレルギー疾患メカニズムの解明に貢献するだけでなく、患者群で有意に発現増加する機能未知の遺伝子 KIAA0603 および AB100163 の発見に繋がった。第三章では、機能未知の KIAA0603 (AS160、TBCID4) 遺伝子が GTPase activating protein であることを *in silico* 立体構造予測から推測し、また Activation induced cell death 時に発現増加することを見出した。これらの結果は、GTPase activating protein が T 細胞活性化に関与していることを暗示しており、今後の研究の更なる発展が期待される。第四章では、AB100163 (CCDC132) の完全長を単離し、アレルギー疾患に関与する新規分子を発見した。AB100163 の塩基配列、mRNA 発現、細胞内局在の結果をもとに、今後、AB100163 の T 細胞における機能やアレルギーとの関連性について更なる機能解析が期待される。

以上のように、著者は、おもにアレルギー患者と健常人の末梢血 T 細胞における遺伝子発現変動解析に取り組み、患者群で特異的な発現パターンを示す疾患関連遺伝子に関する独創的な研究を行い、かつ、複雑なアレルギー疾患メカニズムの解明に貢献したと判断される。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。