



Title	MHC class IIの発現制御機構に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	春日, 優介
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第15888号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/92013
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	KASUGA_Yusuke_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏名 春 日 優 介

主査 教授 村上 正晃
審査担当者 副査 教授 福原 崇介
副査 教授 氏家 英之

学 位 論 文 題 名

MHC class II の発現制御機構に関する研究

(Studies on the regulatory mechanism of MHC class II expression)

氏家先生より以下の質問があった。春日氏の回答と共に記載する。

学位論文図 4B について、Hela 細胞において野生型 FBXO11 を過剰発現させると、IFN- γ によって誘導された MHC-II プロモーター活性が抑制されていたが、ユビキチン化能がない FBXO11 ΔF 変異体を過剰発現させると、IFN- γ のみの時と比較してむしろ上昇していたが、その理由について質問された。この質問に対して春日氏は IFN- γ によって誘導された内在性 CIITA に対して過剰量の機能がなない FBXO11 が作用しているため、ドミナントネガティブ効果として野生型 FBXO11 とは逆の結果になっていると回答した。

図 6C について、ドキシサイクリンで FBXO11 を誘導する系を用いて、FBXO11 の過剰発現によって HLA-DRA の mRNA 量が減少することは他のデータと一致しているが、CIITA の mRNA 量にも大きくはないが有意差が出ている点について、その理由と解釈はどのようなものかという質問があった。この質問に対して春日氏は IFN- γ によって誘導される CIITA の mRNA 量のばらつきが大きく、実際エラーバーも大きいため統計学的に有意となってしまうが、グラフの全体を見ると傾向として CIITA の mRNA 量に大きな差はないと回答していた。

図 12A について His 抗体による染色で約 180kDa のところにバンドがある理由を質問していた。この質問に対して春日氏は、CIITA の大きさがおよそ 124kDa で、1 つおよそ 9kDa のユビキチンが 6 個ほど鎖として結合したバンドだと考えられると回答した。考えられる理由としては、FBXO11 が CIITA に対して 6 個程度のユビキチン鎖を形成することが最も多いのではないかと述べていた。また同図に関して、FLAG 抗体による染色でもユビキチンのスメアバンドが出るのではないかとさらに質問していたが、春日氏は FLAG にてスメアバンドが見られない理由として、ユビキチン化された CIITA が速やかに分解されている、もしくはユビキチン化されている CIITA の割合が低いかのいずれかの可能性が考えられると回答していた。

最後に図 14B と 14C について、FBXO11 と MHC class II の発現は確かに負の相関を示しているが、CIITA とはわずかに正の相関を示している理由を質問していたが、春日氏はこのデータでは確かに FBXO11 と CIITA はわずかに正の相関が見られているが、この図で示したいことである、FBXO11 は少なくとも CIITA と負の相関を示していないという点は示されていると回答していた。

次に福原先生が春日氏に質問した。

図1と表1の質量分析について、今回FBXO11-SKP1-CUL1複合体がCIITAの分解に関わっていたが、質量分析の結果を見るとNLRC5やNOD2のNLRs結合タンパク候補としてSKP1が全て検出されている点について、これら2つのタンパク質の分解にSKP1やその複合体が関与しているか、質問していた。この質問に対して春日氏はNOD2に関しては1つSCF複合体が関与しないユビキチン化酵素が知られており、NLRC5はオートファジーで分解される報告があるが、SCF複合体の関与を否定するものではないと回答した。またCULファミリーは質量分析にてNOD2やNLRC5と共沈していないので可能性は低いであろうと述べた。

図13において、FBXO11ノックアウト細胞ではCIITAの分解がほぼ見られないが、ノックアウトマウスで知られている表現系はあるのかと質問した。この質問に対して春日氏は現在我々はFBXO11ノックアウトマウスを樹立しているが、ホモのノックアウトは胎生致死であり、ヘテロノックアウトに関してはまだ解析途中であると述べた。既報に関してはFBXO11のB細胞特異的コンディショナルノックアウトマウスにて胚細胞中心の形成異常が報告されていると回答した。

次にFBXO11はBCL6を介して癌に抑制的に働いているようだが、CIITAの関連下ではFBXO11の発現量が少ない方が良いと述べている点に関して、FBXO11は腫瘍に対して保護的なのか、増悪因子なのか、もしくは単純に良い悪いというものではないのか、考えを聞かせてくださいと質問した。これに対して春日氏はBCL6の発現は血液系細胞に限られているなど、FBXO11の基質の発現は臓器ごとに異なるのでその差が予後の差につながっているのではないかと考えていると回答した。

次にFBXO11による強い分解機構が存在するという事はCIITAの高発現は整体にとってマイナスに働くのかと質問していた。この質問に対して春日氏は免疫反応が終わる際に速やかにMHC class IIを低下させることで過剰な炎症を防ぐことができるため、このようなシステムが存在しているのではないかと考えると述べた。

最後に村上先生が春日氏に質問した。

最初にFBXO11の他の基質についても腫瘍との関連を調べた方が良かったのではないかと助言した。APCにおいてミクログリアではFBXO11の発現は高いなど、免疫細胞間でも発現差が見られるが、FBXO11がCIITAを分解する唯一の因子なのか、他の因子が存在する可能性があるのではないかと質問した。これに対して春日氏は本研究にてFBXO11がCIITAを分解することを解明したが、これが唯一の因子かどうかは判断できないと回答した。

次に乳癌にてCIITAとFBXO11の発現組み合わせと予後に関して解析しているが他の腫瘍ではこれらの組み合わせは予後と関連するのかと質問した。これに対して春日氏は、腫瘍とMHC class IIの関係が明らかになってきたのがごく近年であり、概念として確立しているのが乳癌だけなので、解析は乳癌で行ったが、他に幾つかの腫瘍を解析したが、他にもCIITAとFBXO11の発現組み合わせと患者予後に相関が見られた癌腫も確認している。特に固形癌で相関がみられたが、これはBCL6の発現有無が関連しているのではないかと考えていると回答した。

次にミクログリアでFBXO11の発現が高い理由を質問した。それに対して脳内でのFBXO11の役割が大きいのかかもしれないが、データとして検討していない。今後FBXO11の生体内での役割をコンディショナルノックアウトマウスを用いて検討したいと回答した。

最後にFBXO11がCIITAに結合するドメインを質問していたが、現在実験しているデータではCASHドメインであると回答していた。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。