

審査の結果の要旨

氏名 浅井 隆司

Aml1 (runx1) 遺伝子は成体型造血のマスターレギュレーターとして知られているが、その遺伝子欠損マウスモデルが胎生致死を示すために成体における AML1 の機能解析は困難であった。本研究では *Cre-loxP* 系を用いた T 細胞特異的 AML1 欠損マウスの機能解析を行い、下記の結果を得ている。

- 1 T 細胞特異的 AML1 欠損マウスは著しい胸腺低形成を示し、胸腺細胞数はコントロール群の 1/7 まで減少していた。CD4, CD8 分画を調べたところ、全分画とも大きく細胞数が減少していた。CD4,8DN 細胞をさらに CD25, CD44 分画で解析したところ、CD25⁺CD44⁻ (DN3) 分画で細胞が蓄積し、それ以降の分化が著しく抑制されていた。DN3 細胞から DN4 細胞に分化する過程で TCRβ の遺伝子再構成を契機として pre-TCR 複合体 (pTCRα-TCRβ-CD3 複合体) が形成され、その刺激により急激な DP 細胞への分化増殖が見られることが知られている。このマウスの細胞表面 CD3ε、TCRβ 発現をフローサイトメーターで解析したところ、TCRβ、CD3ε の発現が共に大きく低下していた。DN3 分画での分化抑制は pre-TCR 複合体またはその下流シグナルが関与していることが示された。
- 2 これらマウスに抗 CD3ε 抗体を直接投与し 40 時間後の胸腺細胞を解析した。pre-TCR 複合体の各構成要素遺伝子の欠損マウスでは抗 CD3ε 抗体により分化抑制が解除され、DN 細胞が大部分 DP 細胞まで分化することが報告されているが、T 細胞特異的 AML1 欠損マウスでは DN3 分画における分化抑制が部分的に解除され、胸腺細胞数も若干の減少に収まっていたものの、本来誘導されるはずの細胞表面 TCRβ の発現はほとんど誘導されなかった。
- 3 さらに pre-TCR 複合体各構成要素遺伝子の欠損マウスの分化抑制を解除するこ

とが知られている TCR β のトランスジェニック遺伝子を T細胞特異的 AML1 欠損マウスとコントロールマウスに導入したマウスを作製し、これら胸腺を解析した。DN3 分画における分化抑制は部分的にしか解除されず、胸腺細胞数の回復も不十分であった。AML1 欠損胸腺細胞では細胞表面への pre-TCR 複合体の発現は低下しているだけでなく、pre-TCR 複合体下流のシグナル遺伝子の発現も抑制されていることが示された。

- 4 RAG2 欠損を遺伝的に背景に持った T細胞特異的 AML1 欠損マウスを作製した。RAG2 欠損マウスでは上述の通り DN3 分画にて胸腺分化が完全に停止するが、作製したマウスの胸腺細胞は DP 細胞から CD4SP 細胞まで分化誘導された。同様の胸腺細胞は Src ファミリー PTK (蛋白チロシンリン酸化酵素) リプレッサーである csk 欠損マウスで報告されている。これら TCR 非依存的胸腺細胞を詳細に検討したが、胸腺内での成熟が著明に抑制していることが明らかになった。以上のことから T細胞特異的 AML1 欠損マウスでは pre-TCR 複合体下流のシグナル遺伝子のリプレッサー活性も低下している可能性が示唆された。
- 5 これらマウスの胸腺細胞表面 CD24/HSA 発現を解析した。HSA は胸腺内で幼弱期には陽性であるものの CD4,8SP 分画にて陰転化し、これ以後成熟した末梢 T細胞として機能を果たすことが知られている。T細胞特異的 AML1 欠損マウスでは CD4SP 細胞での HSA の陰転化が明らかに抑制されていた。この現象は抗 CD3 ϵ 抗体負荷ならびに TCR β のトランスジェニック遺伝子導入によっても変化しなかった。HSA 陰転化の抑制と共にこれら CD4SP 細胞では細胞表面 TCR β の発現低下も観察され、CD4SP 細胞での成熟障害を起こしていることが明らかになった。

以上、申請者の研究は、AML1 が T細胞の胸腺内初期分化、成熟に大きく関与していることを明らかにした。AML1 変異と未知の免疫不全疾患との関連の可能性もあり、その点でも、今後の発展が期待できると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。