

審査の結果の要旨

氏名 中村博志

本研究は、生体の低酸素適応に重要な役割を演じていると考えられる低酸素誘導性の転写因子 HIF-1 の、ヒト末梢血 T 細胞における発現の分子機構および細胞生物学的意義の解明を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. ヒト末梢血 T 細胞における HIF-1 α タンパク発現には低酸素刺激と抗 CD3 抗体刺激の共存が必須であることがウエスタンブロット法で示された。メタボリックラベリング法を行ったところ、プロテアゾーム阻害薬 MG132 と抗 CD3 抗体刺激の共存下で HIF-1 α が検出され、抗 CD3 抗体刺激は HIF-1 α の合成を促進させることが示された。HIF-1 α mRNA は抗 CD3 抗体、および低酸素いずれの刺激でも変化しないことがノザンブロット法により示された。低酸素分圧下の T 細胞において、抗 CD3 抗体刺激によって HIF-1 α の翻訳が亢進することがポリゾーム解析法により示された。
2. ヒト末梢血 T 細胞における抗 CD3 抗体刺激依存性の HIF-1 α タンパク質発現には PI3K/mTOR 経路が関与することが各種シグナル伝達経路阻害薬を用いたウエスタンブロット法により示された。mTOR の阻害薬ラパマイシンは HIF-1 α mRNA の量は変化させず、MG132 存在下において HIF-1 α タンパクの発現を抑制することが RT-PCR 法およびウエスタンブロット法により示された。ラパマイシンは HIF-1 標的遺伝子発現を抑制することが RT-PCR 法により示された。恒常的活性型 HIF-1 α を安定発現した Jurkat 細胞の HIF-1 転写活性はラパマイシンによる影響を受けないことがレポーターアッセイ法により示された。
3. ヒト末梢血 T 細胞および Jurkat 細胞において、低酸素分圧下では S6K1 のリン酸化状態と HIF-1 α タンパク発現量が相関することがウエスタンブロット法により示された。siRNA を transfect した Jurkat 細胞では HIF-1 α タンパク発現が低下することがウエスタンブロット法により示された。S6K1 ノックアウトマウスの脾臓細胞において HIF-1 α タンパク発現は野生型に比べ低下していることがウエスタンブロット法により示された。
4. 電子伝達系阻害下において恒常的活性型 HIF-1 α 安定発現 Jurkat 細胞、およびドミナントネガティブ HIF-1 α 安定発現 Jurkat 細胞の ATP 産生、乳酸産生を測定したところ、いずれも恒常的活性型 HIF-1 α 安定発現 Jurkat 細胞で野生型と比較して高値であった。ヒト末梢血 T 細胞の ATP 産生を測定したところ、低酸素分圧下においてラパマイシンは抗 CD3 抗体刺激 T 細胞の ATP 産生を抑制することが示された。

以上、本論文はヒト末梢血 T 細胞において、HIF-1 α タンパク発現には mTOR/S6K1 の活性化による翻訳の亢進と低酸素刺激による安定化が必要であることを明らかにした。かかる HIF-1 の発現がヒト末梢血 T 細胞における糖代謝の制御に重要な意義を有することが示された。本研究は、これまで未知に等しかった、ヒト末梢血 T 細胞における HIF-1 を介した免疫応答の解明に貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。