

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 下 袴 田 陽 子

本研究は CD4⁺T 細胞の Th1、Th2 細胞への分化誘導機序における T 細胞抗原受容体 (TCR) の役割について着目したものである。CD4⁺T 細胞の分化に影響を与える他の因子を除外し、TCR からの刺激のみが伝達されるという、これまでになかった実験系を確立させ、TCR からの刺激による CD4⁺T 細胞の分化誘導の可能性について検討した。さらに、TCR からの刺激と各分化に特異的といわれる転写因子 T-bet、GATA-3、なかでも T-bet に着目し、T-bet 欠損させた CD4⁺T 細胞を用いて TCR からの刺激と、Th1 分化における T-bet の役割について検討を試み、下記の結果を得ている。

1. 生体内で Th1 分化を誘導できる結核菌分泌タンパク由来のペプチド 25 を抗原として用い、ペプチド 25 応答性の TCR を発現するペプチド 25 トランスジェニックマウス (P25 TCR-Tg) を作製した。P25 TCR-Tg 由来の CD4⁺T 細胞を野生型マウス脾臓細胞由来の抗原提示細胞とともにペプチド 25 で刺激すると Th1 細胞へ分化し、Th2 分化誘導サイトカイン IL-4 を加えると Th2 細胞へも分化誘導できることが示された。
2. 抗原量を減量させたり、TCR に対する親和性を減少させた変異ペプチド (APL) で刺激したりした場合、Th2 への分化が P25 TCR-Tg の場合でも認められ、これまでの報告と矛盾しない結果となった。また、分化の違いは単なる細胞の分裂、増殖が規定しているものではないことが示された。
3. TCR 刺激が分化規定へ関与しうるか検討するため、TCR 単独刺激の実験系を確立させた。CD4⁺T 細胞は P25 TCR-Tg 由来のものを使用し、抗原提示細胞としては、サイトカイン産生や既知の副刺激分子発現のない、Chinese Hamster Ovary (CHO) 細胞に MHC 分子である I-A^b分子を遺伝子導入した I-A^bCHO 細胞を用いた。この系を用いてペプチド 25、APL で刺激をすると抗原提示細胞が野生型マウスの場合と同様の結果となり、TCR 単独刺激でも分化の規定が可能であると推察された。

4. TCR 単独刺激で Th1、Th2 分化が誘導される際の転写因子 T-bet、GATA-3 の発現変化を検討したところ、いずれも分化誘導の際に特徴的な発現量の変化が認められ、TCR 単独刺激での CD4⁺T 細胞の分化においても転写因子の発現調節が可能であることが示された。

5. TCR 単独刺激による Th1 分化の際、Th1 特異的転写因子 T-bet が刺激 3 時間後に一過性に発現上昇したことから、T-bet の発現上昇が重要と考え、機能解析のために T-bet を欠損させた P25 TCR-Tg を作製した。このマウス由来の CD4⁺T 細胞を用いて分化を検討したところ、T-bet を欠損している細胞でも野生型の約 1 / 3 程度の Th1 細胞への分化が認められ、TCR 単独刺激系においても同様の結果が得られた。細胞分裂、増殖の違いも認めなかったことから、これまでは Th1 分化に必須と考えられていた T-bet に依存しない Th1 分化経路の存在の可能性が示された。

6. T-bet に依存しない Th1 分化が誘導される際、T-bet の機能として知られている IFN- γ 遺伝子座のクロマチンリモデリング及び IFN- γ の発現誘導と IL-12 受容体 β 鎖の発現は誘導されているのかを検討した。前者はクロマチン免疫沈降法と real-time PCR 法で、後者はフローサイトメトリー法と real-time PCR 法で解析した結果、いずれも T-bet 野生型ほどではないものの発現が誘導されており、T-bet 非依存の Th1 分化経路に関わる何らかの因子が存在し、それが T-bet と類似した機能を有する可能性が示された。

以上、本論文は TCR 単独刺激の実験系を確立させることで TCR が CD4⁺T 細胞の分化誘導機能を有することを示した。また、Th1 分化と Th1 特異的転写因子 T-bet に着目し、T-bet 以外にも Th1 への分化誘導機能を有する因子が存在する可能性を初めて明らかにした。本研究は獲得免疫に重要な役割を果たす CD4⁺T 細胞の分化誘導機序について、これまでほとんど注目されていない TCR に焦点をあてて解析し、その可能性を示すことで CD4⁺T 細胞の分化誘導に関する新たな機序の解明に重要な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。