



TITLE:

胸腺内T細胞分化の β セレクション
チェックポイントにおける低分子
量Gタンパク質Rapの役割に関する
研究(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

森山, 正樹

CITATION:

森山, 正樹. 胸腺内T細胞分化の β セレクションチェックポイントにおける低分子量Gタンパク質Rapの役割に関する研究. 京都大学, 2009, 博士 (生命科学)

ISSUE DATE:

2009-03-23

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/123815>

RIGHT:

(論文内容の要旨)

本研究では、胸腺内 T 細胞分化における Rap シグナルの役割について明らかにするために、リンパ・造血系の主たる RapGAP である SPA-1 を胸腺内 T 細胞分化の初期段階から発現するトランスジェニック (Tg) マウス (lck/SPA-1 Tg マウス) を作製し、Rap シグナル不活性化による影響を調べた。このマウスの胸腺を解析した結果、細胞数が同腹対照マウスに比べて 4 分の 1 から 10 分の 1 にまで減少しており、フローサイトメトリー解析および PCR 解析から、DN3 ステージに分化障害があることが明らかとなった。 $\gamma\delta$ T 細胞の分化は正常であったことから、Rap シグナルの不活性化は $\alpha\beta$ T 細胞の分化にのみ影響を与えること、また、DP ステージ以降に、特異的に SPA-1 を発現する Tg マウス (CD4/SPA-1 Tg マウス) の胸腺では T 細胞の分化障害は見られなかったことから、DN ステージにおいてのみ影響があることが強く示唆された。 $Rag2^{-/-}$ マウスの胎仔胸腺 DN 細胞を用いた *in vitro* の解析では、Rap1 のドミナントネガティブ変異体 Rap1A17 が、抗 CD3 ϵ 抗体および Notch リガンド存在下において、DN 細胞から DP 細胞への分化を抑制した。また、DN 細胞株である SCID.adh に、preTCR 代替シグナルである self-oligomerizing CD3 (CD8:CD3 ϵ キメラ) 刺激を与えると、Rap シグナルが活性化し、CD69 の発現上昇および CD25 の発現抑制が認められた。反対に、 $Rag2^{-/-}$ マウスの DN 細胞に RapGEF である C3G を発現させ、Rap シグナルを活性化すると、抗 CD3 ϵ 抗体の刺激がない場合でも Notch リガンド依存的に DP 細胞の産生と増加が認められた。他方、並行して行われた lck/SPA-1 Tg マウスに $p53^{-/-}$ マウスを掛け合わせた実験から、 $p53$ 欠損により $\alpha\beta$ T 細胞の分化障害が完全に回復することが確認されている。以上の結果から、内在性 Rap シグナルは、preTCR の下流において機能することにより、 β セレクションの $p53$ を介したチェックポイントで pre-T 細胞を細胞死から回避させ、Notch シグナル依存的な分化増殖を可能にする重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

氏名	森山 正樹
----	-------

(論文審査の結果の要旨)

申請者は、胸腺内 T 細胞分化における Rap シグナルの役割について明らかにする目的で、RapGAP である SPA-1 を胸腺内 T 細胞分化の初期段階から発現するトランスジェニック (Tg) マウス (lck/SPA-1 Tg マウス) を作製し、このマウスの胸腺を解析した。その結果、同マウスでは胸腺細胞の分化が DN 3 ステージで停止していることが示された。さらに、Rap1 のドミナントネガティブ変異体 Rap1A17 を用いた詳細な遺伝子導入実験から、Rap1 はプレ T 細胞受容体によって活性化され、そのシグナルの遮断によって、プレ T 細胞の細胞死が起こることが明らかにされた。さらに、lck/SPA-1 Tg マウスにおける胸腺細胞の分化障害は p53 遺伝子欠質によって回復することも示された。以上の一連の結果は、胸腺細胞の分化課程におけるいわゆるベータ選択の過程において Rap シグナルが必須の役割を果たすことを、個体レベルで証明するものである。

以上の研究は免疫学の基礎研究の進展に資するところが大きく、本論文は博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。

また本申請者は平成 21 年 1 月 27 日論文内容とそれに関連した口頭試問を受け、合格と認められたものである。