

| | |
|---------|--|
| 氏名 | はら ざき まさ し 原 崎 正 士 |
| 学位の種類 | 博士 (医学) |
| 学位記番号 | 論医博第 1861 号 |
| 学位授与の日付 | 平成 16 年 3 月 23 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当 |
| 学位論文題目 | Specific Recruitment of SPA-1 to the Immunological Synapse : Involvement of Actin-bundling Protein Actinin (リンパ・造血系特異的 Rap1GAP, SPA-1 の機能調節に関する研究 : アクチニンを介した免疫シナプスへの集積) |
| 論文調査委員 | (主査) 教授 生田 宏一 教授 内山 卓 教授 中畑 龍俊 |

論 文 内 容 の 要 旨

SPA-1 は Ras スーパーファミリーに属する低分子量 G 蛋白 Rap1 に特異的な GTPase 活性化因子であり, Rap1 シグナルの負の調節因子として抗原応答における T 細胞の活性化を調節している。本研究では T 細胞における SPA-1 の機能調節機構を明らかにするために, 共焦点レーザー顕微鏡を用いた免疫蛍光抗体法によりその細胞内局在を解析した。抗 SPA-1 抗体は, 抗原によりアフィニティー精製し, SPA-1 遺伝子欠失細胞とは全く反応しないことを確認した。細胞極性を示さない単一浮遊状態の T 細胞では SPA-1 は細胞表面に近い外層領域に一様に分布しているが, 培養ディッシュ上において活発な細胞運動を起こしている T 細胞では, SPA-1 は進行方向に形成される pseudopod 様部位へ集積することが明らかとなった。さらに抗 LFA-1 抗体をコートしたディッシュ上で T 細胞を培養することにより $\beta 2$ インテグリンを刺激すると, SPA-1 は細胞外マトリックスとの接着部位に斑状に集積することが観察された。これらの条件における SPA-1 の局在は, いずれもアクチンの細胞内局在に一致しており, SPA-1 とアクチン細胞骨格系との関連が強く示唆された。特異的抗原を提示する抗原提示細胞 (APC) と T 細胞を混合すると, T 細胞抗原受容体 (TCR) 依存性に特異的な T 細胞/APC 細胞複合体が形成される。これは TCR と MHC 抗原ペプチド複合体の相互作用によって主に $\beta 2$ インテグリンによって惹起される強固な細胞接着によるものであり, その接着面は免疫シナプスと呼ばれる。この際, SPA-1 はアクチンおよび LFA-1 と共に T 細胞内の免疫シナプス領域に強く集積することが示された。この T 細胞内の SPA-1 細胞内局在変化の分子機構を明らかにするために, 酵母 two-hybrid スクリーニングにより SPA-1 と特異的に結合する分子の検索を行ったところ, SPA-1 はアクチンフィラメントを束ねる働きを持つ分子である α -アクチニンと相互作用のあることが判明した。さらに SPA-1 は, T/APC 間の免疫シナプス部位において, α -アクチニンと明確に共局在することが示された。これらの結果より, T 細胞において SPA-1 は T 細胞が活性化される際に α -アクチニンとの相互作用を介しアクチン細胞骨格の再構成に伴って免疫シナプスへ動員され, TCR シグナル伝達分子複合体の機能する細胞膜局所における Rap1GTP のレベルを制御することにより, TCR シグナルの時空調節に関与していることが強く示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者は, 低分子量 G 蛋白 Rap1 に特異的な GTPase 活性化因子である SPA-1 の T 細胞における機能調節機構を明らかにするために, 共焦点レーザー顕微鏡を用いた免疫蛍光抗体法によりその細胞内局在を解析した。

SPA-1 はアクチンの細胞内局在と一致して変化し, 単一浮遊状態では細胞表面に近い外層領域に一様に分布し, 細胞運動を起こしているときには進行方向に形成される pseudopod 様部位へ集積し, T 細胞上の $\beta 2$ インテグリンを刺激すると細胞外マトリックスとの接着部位に斑状に集積した。特異的抗原を提示する抗原提示細胞 (APC) で T 細胞を刺激すると, SPA-1 はアクチンおよび LFA-1 と共に T 細胞内の免疫シナプスと呼ばれる T/APC 間の接着面に強く集積した。酵母 two-hybrid スクリーニングにより, SPA-1 は α -アクチニンと相互作用のあることが判明し, 実際に T/APC 間の免疫シナプス

部位においてそれらは同じ局在を示した。以上より、SPA-1はT細胞が活性化される際に α -アクチニンを介してアクチン細胞骨格の再構成に伴って免疫シナプスへ動員され、TCRシグナル伝達分子複合体の機能する細胞膜局所でRap1GTPのレベルを制御することにより、TCRシグナルの調節に関与していることが強く示唆された。

以上の研究はT細胞の活性化調節機構の解明に貢献し、ヒト免疫機構の解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成16年2月27日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。