

氏名	おおやまたかひろ 大山崇広
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第2354号
学位授与の日付	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科生物科学専攻
学位論文題目	胸腺細胞にv-FLIPを発現させたトランスジェニックマウスの解析 ——アポトーシスシグナルを担う分子の複雑な作用機構——

論文調査委員 (主査) 教授 米原 伸 教授 上村 匡 教授 七田 芳則

### 論文内容の要旨

本学位申請論文「胸腺細胞にv-FLIPを発現させたトランスジェニックマウスの解析—アポトーシスシグナルを担う分子の複雑な作用機構—」において、申請者はアポトーシスの誘導に関わる分子と、胸腺におけるT細胞の分化や増殖との関連を解析し、細胞表層のDeathレセプターからのシグナル伝達を抑制する分子v-FLIP E8が胸腺の未熟T細胞の分化をも抑制することを明らかにした。

アポトーシスという細胞死は多細胞生物の発生や恒常性の維持に必要な不可欠な現象である。具体的には、個体の正常な発生や生体の恒常性の維持のために害をなす細胞や不必要な細胞はアポトーシスという細胞死の機構によって除去されている。ほ乳類動物ではFasを代表とするDeathレセプターを介するアポトーシス誘導システムが存在する。Fasは免疫系を中心として生理的に重要なアポトーシスを誘導する。また、Fasを代表とするDeathレセプターから誘導されるアポトーシスは、FADDというアダプター分子を介するcaspase-8の活性化によって引き起こされるが、このcaspase-8の活性化を阻害するタンパク質としてviral FLIP E8が知られている。一方、FADDやcaspase-8は免疫担当細胞の分化や増殖にも役割を果たしていることが示唆されており、アポトーシスと細胞の分化や増殖との関連が注目されている。これらの知見に基づいて、申請者はv-FLIP E8を胸腺T細胞特異的に発現するトランスジェニックマウス(Tg)を作製し、そのアポトーシスと細胞の増殖分化に及ぼす影響を解析した。

本論文では、E8Tgの胸腺細胞はFasを介するアポトーシスに耐性であるが、FasのKOマウスとは全く異なる表現系を示すことを明らかにした。すなわち、このTgでは、胸腺が1/3以下の大きさしかなく、胸腺細胞の増殖や分化に障害を有していた。さらに解析した結果、このTgの胸腺T細胞は分化の初期段階であるダブルネガティブの分化段階に異常の存在することが明らかとなった。さらに解析を加えた結果、このTgのT細胞ではT細胞抗原受容体を介する増殖刺激には異常がないことも明らかとなった。すなわち、E8が作用するFADD・caspase-8系が、アポトーシスの誘導だけでなく、胸腺未熟T細胞の分化や増殖に関与することが明らかとなった。

FADDやcaspase-8はアポトーシスの誘導のみに関わると考えられてきたが、最近では抗原受容体を介する細胞の増殖刺激にも関与することが示唆されはじめている。FADDやcaspase-8が関与する増殖分化のシグナルは、抗原受容体からの刺激に直接関わるもの(E8は阻害しない)と、T細胞の初期分化に関わるもの(E8が阻害する)の二つに分けることができると、本研究によってはじめて示された。アポトーシスの誘導に用いられているシグナル伝達系と、細胞の増殖や分化に関わるシグナル伝達系が、同じ分子を共有して直接関わり合っていることが、*in vivo*の実験系を用いて明らかとなった。

### 論文審査の結果の要旨

アポトーシスという細胞死は多細胞生物が正常に発生し生体の恒常性を維持するためには不可欠の重要な現象であり、多細胞生物においては細胞の増殖や分化と同じように重要欠くべからざる現象であることが明らかとなった。ほ乳類動

物では Fas を代表とする death レセプターが細胞表層から細胞死誘導シグナルを導入することが知られている。また、Fas を介するアポトーシスは、アダプター分子である FADD を介して caspase-8 を活性化することによって誘導されるが、FADD や caspase-8 はアポトーシスだけでなく、細胞の増殖や分化にも関与することが示されはじめています。このような状況の中で、FADD と caspase-8 の会合を阻害するタンパク質 E8 が *in vivo* で T 細胞のアポトーシスや増殖分化にどのような影響を与えるかを解析した本研究は、細胞の増殖・分化・死の相互関係に新たな知見を与える結果を示しており、極めて興味深い。

申請者は、胸腺 T 細胞特異的に E8 を発現させるトランスジェニックマウス (Tg) の作製に関わり、その解析を行った。FADD や caspase-8 は広い範囲の組織で発現して機能しており、組織特異的にその阻害を試みた本研究の方向性は、解釈可能な結果を得るためには相応しいものであると評価できる。また、細胞の増殖や分化とアポトーシス耐性遺伝子を関連づける先駆けとなる研究であると評価できる。

更に、申請者はこの E8Tg を解析し、E8 発現胸腺 T 細胞では Fas を介するアポトーシスが抑制されているだけでなく、胸腺 T 細胞数の減少と胸腺の萎縮が認められることを示した。E8 が阻害する FADD や caspase-8 が T 細胞の増殖や分化に関与することを示唆すると解釈できる結果だが、これとは異なる、FADD や caspase-8 が阻害されたときに Fas から増殖や分化を阻害するシグナルが導入される可能性が存在していた。そこで、この E8Tg を Fas の KO マウスと掛け合わせ、Fas からのシグナル導入ができない E8Tg マウスを作製して解析を行い、FADD や caspase-8 が Fas からのシグナルとは無関係に T 細胞の増殖分化に関与することを明らかにしたことは興味深く、評価に値する。

申請者は、この E8Tg の T 細胞では抗原受容体からのシグナルは正常に導入できることを示し、T 細胞の初期分化と抗原受容体からのシグナル伝達がともに抑制される FADD を阻害したときとは異なることを明らかにした。FADD の関与する分化増殖シグナルは少なくとも独立した 2 つの機構によることを示唆しており、細胞の生死と分化増殖の決定両方に関与する FADD が関与する分子機構に、新たな観点を提示した点で評価できる。

よって、博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認め、博士 (理学) の学位を認定する。平成 13 年 2 月 5 日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。