

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	須藤 恒一
論文題目	マウス表皮 T 細胞の発生における胎生期および 新生仔期 T 細胞受容体シグナルの役割		
(論文内容の要旨)			
<p>マウス表皮に存在するV<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1 TCR発現<math>\gamma\delta</math> T細胞 (V<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1<sup>+</sup> T細胞) は、個体最初のT細胞として胎生期の胸腺で発生し、その後表皮に移動して生涯自己増殖を続ける。表皮では樹状突起を持つdendritic epidermal T cell (DETC) を形成し、感染防御や発がんの抑制により皮膚恒常性の維持に働いている。V<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1<sup>+</sup> T細胞およびDETCの発生にはTCRシグナルが重要であると考えられており、例えば、TCRシグナル伝達分子であるZAP70遺伝子を欠損したマウスでは、DETCの細胞数が減少するが、その一方で胎仔胸腺では影響が見られないことが知られている。しかし、これらの結果はZAP70遺伝子欠損マウスにおけるSykキナーゼ発現昂進による代替/アーティファクトである可能性もあり、V<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1<sup>+</sup> T細胞の発生におけるTCRシグナルの役割にはさらなる検証が必要である。そこで、本研究では先の様に完全に機能を欠いた遺伝子欠損マウスではなく、ZAP70の自然変異によりTCRシグナルが通常の10%程度にまで部分的に減弱したSKG変異マウスを用いて、V<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1<sup>+</sup> T細胞の胎仔胸腺における発生と表皮における増殖/DETCの形成におけるTCRシグナルの役割を検証した。</p> <p>成体SKGマウスの表皮ではDETCの細胞数が野生型 (WT) マウスの約10%にまで減少しており、樹状突起の欠失が観察された。一方で、胎生期胸腺のV<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1<sup>+</sup> T細胞では、SKG変異によってもZAP70欠損マウスで見られるSykキナーゼの発現変化は見られなかった。また、<math>\gamma\delta</math> T細胞の機能に重要なIL-17およびIFN-<math>\gamma</math>の産生能にも変化がなかった。しかしながら、増殖細胞の割合とIL-15経路への応答性が低下していたものの、SKG胎生期胸腺のV<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1<sup>+</sup> T細胞数はWTマウスの約50%程度にしか減少しておらず、影響は限定的であった。次に生後数日の表皮を調べた結果、SKGマウスにおいてDETCの細胞数はWTマウスの約50%程度であり、胸腺でのV<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1<sup>+</sup> T細胞数減少の割合と同程度であった。しかし、次に生後から成体期まで観察を行ったところ、WTマウスではDETCの細胞数の経時的な増加と樹状突起の形成が観察されたのに対して、SKGマウスではそのどちらも観察できなかった。さらに、WTマウスとSKGマウスのF1マウス (SKG/+マウス) では、胎生期胸腺のV<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1<sup>+</sup> T細胞数は増加したのに対して、成体表皮のDETC細胞数はSKGマウスと同等に減少していた。一方で、成体表皮では皮膚細菌叢がV<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1 TCRからのシグナルに影響を与える可能性がある為、WTマウスとSKGマウスの皮膚細菌叢を16S rRNA遺伝子次世代シーケンサーで解析したところ、一部細菌叢の変化が見られた。しかし、無菌マウス (Germ-freeマウス) とSPFマウスでDETCの細胞数および形態に差は見られなかったことから、DETCの増加は皮膚細菌叢非依存的であると考えられた。</p> <p>以上の結果からV<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1 TCRを介したシグナルは胎仔胸腺におけるV<math>\gamma</math>5V<math>\delta</math>1<sup>+</sup> T細胞および表皮におけるDETCの形成に共に必要ではあるが、その必要性は表皮におけるDETC形成において高いと考えられる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

獲得免疫の中樞を成し $\alpha\beta$  TCRを発現するconventionalな $\alpha\beta$  T細胞は、胸腺においてMHC分子-ペプチド複合体を認識する過程を経て、その発生と特異性が管理されている。一方で、自然免疫系の働きを持ち $\gamma\delta$  TCRを発現する $\gamma\delta$  T細胞は、抗原を直接認識し $\alpha\beta$  T細胞とは異なる発生・分化を辿ると考えられているが、その機構は明確ではない。幾つか存在する $\gamma\delta$  T細胞サブセットの中でも、胎生期の数日間のみで個体で最初のT細胞として現れる $V\gamma5V\delta1^+$  T細胞は、後に表皮に移動しdendritic epidermal T cell (DETC) として生涯増殖を続ける。そこで、本申請者は $V\gamma5V\delta1^+$  T細胞の胎仔胸腺における発生と、その後の表皮におけるDETC形成におけるTCRシグナルの働きを、TCRシグナルの減じたSKGマウスを用いて解析した。

始めに野生型 (WT) およびSKGマウスの表皮DETCを検討したところ、SKGマウスにおいて細胞数の有意な減少 (10%) と樹状突起の形成不全が確認された。胎生期16日および18日の胸腺を調べたところ、SKGマウスにおいて $V\gamma5V\delta1^+$  T細胞はWTの50%程度に低下し、増殖マーカーであるKi-67の発現も低下していた。しかし、 $\gamma\delta$  T細胞の機能に重要なIL-17およびIFN- $\gamma$ の産生能には変化がなかった。次に、胎仔胸腺 $V\gamma5V\delta1^+$  T細胞が移動する表皮について、マウス胎生期から成体期に渡り観察したところ、生後16-19日目のSKGマウスではWTの50%程度の $V\gamma5V\delta1^+$  T細胞が確認された。しかし、その後WTではDETCの増殖と樹状突起の発達が確認されたが、SKGマウスでは共に観察されなかった。また、WTとSKGマウスのF1マウスでは、胎生期胸腺の $V\gamma5V\delta1^+$  T細胞数は増加したが、成体のDETC細胞数はSKGマウスと同程度に減少したままだった。一方で、無菌マウス (Germ-freeマウス) とSPFマウスでDETCの細胞数に差は見られなかったことから、DETCの増加は皮膚細菌叢非依存的である事が確認された。

以上の結果から $V\gamma5V\delta1$  TCRを介したシグナルは胎仔胸腺における $V\gamma5V\delta1^+$  T細胞および表皮におけるDETCの形成に共に必要ではあるが、その依存性は表皮におけるDETC形成において高いことが示された。

従って本研究は、個体で最初に現れるT細胞であるDETCの形成およびその前駆細胞の発生におけるTCRシグナルの必要性を解明した点で高く評価できる。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、免疫学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見もしくは概念等が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和4年2月8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。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日