

氏 名	坂 田 大 治
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3185 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 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	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Impaired T lymphocyte trafficking in mice deficient in an actin-nucleating protein, mDia1 (アクチン重合促進蛋白質 mDia1 欠損マウスにおけるTリンパ球の遊走能の減弱)
論文調査委員	(主 査) 教 授 生 田 宏 一 教 授 清 水 章 教 授 杉 田 昌 彦

論 文 内 容 の 要 旨

T 細胞は、胸腺からリンパ節や脾臓などの二次リンパ組織へ遊走して末梢免疫組織を形成し、また、リンパ組織を出て全身をパトロールし炎症部位へ遊走して免疫反応にあたる。このような T 細胞の方向性を持った移動は、ケモカインなどの走化性シグナルが細胞内でアクチンなど細胞骨格系の極性をもった変化をおこすことにより誘導される。ここで働くのが、Rho、Rac、Cdc42 などの低分子量 GTP 結合蛋白質とその下流で働くエフェクター分子である。mDia 蛋白質と Wiskott-Aldrich 症候群蛋白質 (WASP) はそれぞれ Rho 及び Cdc42 の下流で働くエフェクター分子であり、mDia は長い直鎖状のアクチン線維を、WASP は Arp2/3 を介して網目状のアクチン線維を作り出すことにより、哺乳類細胞の二つの主要なアクチン重合システムとして働いている。WASP の免疫反応での重要性は、WASP 遺伝子に変異を持つ WAS の患者や WASP 欠損マウスが免疫不全を生じることで示されてきたが、mDia の免疫系における意義は不明であった。

mDia には、mDia1, mDia2, mDia3 の 3 種類のアイソフォームが存在し、末梢リンパ球では mDia1 が強く発現している。本研究では mDia1 を欠損したマウス (mDia1^{-/-}マウス) を作成し、その生理機能を解明した。mDia1^{-/-}マウスは正常に誕生し、見かけ上、異常なく成長した。しかし、末梢血、末梢リンパ節、脾臓で野生型マウスと比較して有意な T 細胞数の減少を、胸腺で成熟胸腺細胞数の有意な上昇を示した。mDia1^{-/-}T 細胞は、*in vitro* のケモカイン刺激に対し、細胞極性、アクチン重合、遊走の有意な減弱を示し、mDia1^{-/-}胸腺細胞もケモカインに対する *in vitro* の遊走能の減弱と胸腺からの移出の低下を示した。また、養子移入実験で、mDia1^{-/-}T 細胞は、野生型 T 細胞に比し、野生型マウスと mDia1^{-/-}マウスの双方で、末梢リンパ組織へのホーミングの有意な低下を示した。さらに、mDia1^{-/-}T 細胞は、anti-CD3 刺激と混合リンパ球反応の 2 種類の TCR 刺激に対して、野生型 T 細胞に比し、細胞増殖の有意な減弱を示した。生化学的には、mDia1^{-/-}T 細胞で、ケモカイン受容体や Rho、Rac、Cdc42 などの Rho 関連分子の発現は、野生型 T 細胞に比し差はなかったが、WASP の発現は野生型マウス T 細胞の 1/4 程度に低下していた。しかし、WASP の強制発現は、mDia1^{-/-}T 細胞の細胞遊走能やアクチン重合の低下を回復できなかった。最後に、mDia1^{-/-}マウスは、*in vivo* の T 細胞依存的な免疫反応である接触皮膚炎モデルで、野生型マウスと比べて有意な反応の低下を示した。これらの結果から、mDia1 が、T 細胞の内在性蛋白質として、WASP と相互作用しながらも独自の作用で、ケモカイン刺激や TCR 刺激に対するアクチン産生を起こして、T 細胞の遊走や細胞増殖反応を左右する働きをしていること、この働きが *in vivo* の免疫反応の成立にも重要であることが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

T 細胞の移動は、Rho、Rac、Cdc42 などの低分子量 G 蛋白質とその下流で働くエフェクター分子が細胞骨格系を動的に編成することで遂行される。mDia と WASP はそれぞれ Rho と Cdc42 の下流で働くエフェクターであり、哺乳類細胞の二つの主要なアクチン重合システムとして働いている。免疫系で WASP の重要性は広く研究されてきたが、mDia の意義は不明

であった。

本研究では、mDia アイソフォームの一つである mDia1 の欠損マウスを作成し、その生理機能を解析した。mDia1 欠損マウスは正常に誕生し成長したが、野生型マウスと比較して末梢血、リンパ節、脾臓で T 細胞数の減少を、胸線で成熟胸線細胞数の増加を示した。mDia 欠損 T 細胞は、*in vitro* で細胞極性、アクチン重合、遊走、細胞増殖の減弱を、*in vivo* で抹消リンパ組織へのホーミング低下を示し、胸線細胞も遊走能の減弱と胸線からの移出低下を示した。これらの細胞で、ケモカイン受容体や Rho 関連分子の発現は野生型と同程度であったが、WASP の発現は 1/4 程度に低下していた。しかし、WASP の強制発現は、mDia1 欠損 T 細胞の機能低下を回復しなかった。このような mDia1 欠損 T 細胞の機能低下は接触皮膚炎モデルでの免疫反応の低下として個体レベルでも示された。

以上の研究は T 細胞の移動機構の一端を明らかにし、細胞生物学、免疫学の発展に寄与する所が多い。

従って、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 20 年 1 月 4 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。