

|           |                                              |
|-----------|----------------------------------------------|
| 氏 名       | ます だ きょう こ<br>増 田 喬 子                        |
| 学位(専攻分野)  | 博 士 (生命科学)                                   |
| 学 位 記 番 号 | 生 博 第 67 号                                   |
| 学位授与の日付   | 平 成 18 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    | 生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻                |
| 学位論文題目    | PIR の発現によって特定される胎仔肝臓・血液中の T 前駆細胞が胸腺<br>へ移住する |

|        |                                        |
|--------|----------------------------------------|
| 論文調査委員 | (主 査)<br>教 授 湊 長 博 教 授 米 原 伸 教 授 清 水 章 |
|--------|----------------------------------------|

### 論 文 内 容 の 要 旨

T 細胞は造血幹細胞に由来するが、その分化・成熟は胸腺内で起こることが知られている。しかし胸腺に移住する細胞が T 系列細胞のみをつくるように決定されている前駆細胞 (T 前駆細胞) であるか否かという問題は長年免疫発生学における大きな謎の一つであり、解明されるべき課題として残っていた。申請者の所属する研究室が行ってきたこれまでの研究で、①マウスの胎生初期から胎仔肝臓中に T 前駆細胞が存在すること、②胎齢11日目から13日目までの間に、血液中に T 前駆細胞が多数流れているということ、③胎仔胸腺中には T 前駆細胞は存在するが、多能前駆細胞は存在しないこと、が明らかにされており、これらの知見に基づいて T 系列への決定は胸腺前段階で起こるということが強く示唆されてきた。しかし、胸腺移住細胞の解析という直接的な証拠となる研究が行われなかったことに加え、胸腺前段階において T 前駆細胞特異的表面マーカーが存在しなかったため、T 前駆細胞が胸腺へと移行する細胞であるとは断定できなかった。そこで、本研究では①胸腺に移行する前駆細胞が何であることを示す直接的証拠を得る、②胸腺前 T 前駆細胞に特異的な表面マーカーを探索する、ということを目とした。まず T 前駆細胞が胸腺移住細胞であるかどうか直接的な証拠を示すために、胎齢11日目の前駆細胞を解析した。胎齢11日目では、胸腺原基が形成され、前駆細胞は胸腺原基周辺に移住してきている。しかしこの時点では前駆細胞は周囲の間葉系細胞領域にとどまっている。すなわちこれらの前駆細胞が胸腺へ移住しようとする細胞そのものということになる。これまで報告されていた胎仔肝臓・血液中に存在する T 前駆細胞の表面表現型は  $\text{Lin}^{-}\text{c-kit}^{+}\text{IL-7R}^{+}$  であるが、胎齢11日目の胸腺原基周辺領域に存在する前駆細胞の表面表現型はこれと一致することが明らかになった。さらにこれらの細胞の分化能をクローナルアッセイで解析したところ、T 系列前駆細胞であることが示された。こうして胸腺前段階において T 前駆細胞が存在し、それらが胸腺へ移入することが示された。

さらに胸腺前段階において T 前駆細胞特異的な表面マーカーの検索を行った。前述したように、これまでも  $\text{Lin}^{-}\text{c-kit}^{+}$  細胞群の中で  $\text{IL-7R}^{+}$  分画中に T 前駆細胞が存在することが示されていた。しかしこの分画には B 前駆細胞も含まれているため、T 前駆細胞または B 前駆細胞のみを単離することはできなかった。本研究では  $\text{Lin}^{-}\text{c-kit}^{+}\text{IL-7R}^{+}$  細胞中で Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR) を発現する細胞が T 前駆細胞に相当することを見いだした。この  $\text{Lin}^{-}\text{c-kit}^{+}\text{IL-7R}^{+}\text{PIR}^{+}$  細胞 (以下、 $\text{PIR}^{+}$  細胞) は種々の培養系で調べた結果、T 細胞にのみ分化することが示された。また  $\text{PIR}^{-}$  細胞は B 細胞系列に決定された前駆細胞であることも明らかにした。  $\text{PIR}^{+}$  T 前駆細胞は胎仔血液・胸腺中にも存在しており、胸腺原基周辺領域 T 前駆細胞も PIR を発現していた。胸腺内では、最も初期の胸腺内前駆細胞には PIR の発現がみられるが、その発現は CD25 を発現するより前に消失することも明らかになった。これらの結果は、  $\text{PIR}^{+}$  前駆細胞が胸腺移住細胞であることを示している。従来のモデルでは胸腺中の  $\text{CD44}^{+}\text{CD25}^{-}$  段階が T 細胞分化の最も未分化な段階として想定されてきたが、本研究によりそれより以前に PIR の発現で特定できる胸腺移住細胞段階が存在することが明らかになった。 PIR の発現により胸腺前段階での T 前駆細胞の同定と単離がはじめて可能になり、T 細胞初期分化の分子レベルでの詳細な解析の展望が可能となった。

## 論文審査の結果の要旨

T細胞は造血幹細胞に由来するが、その分化・成熟は胸腺内で起こることが知られている。しかし胸腺に移住する細胞がT系列細胞のみをつくるように決定されている前駆細胞（T前駆細胞）であるか否かという問題は長年免疫発生学における大きな謎の一つであり、解明されるべき課題として残っていた。申請者は、①胸腺に移行する前駆細胞が何であることを示す直接的証拠を得る、②胸腺前T前駆細胞に特異的な表面マーカーを探索する、ということを目とした。まずT前駆細胞が胸腺移住細胞であるかどうか直接的な証拠を示すために、胎齢11日目の前駆細胞を解析した。胎齢11日目では、胸腺原基が形成され、前駆細胞は胸腺原基周辺に移住してきている。しかしこの時点では前駆細胞は周囲の間葉系細胞領域にとどまっている。すなわちこれらの前駆細胞が胸腺へ移住しようとする細胞そのものということになる。これまで報告されていた胎仔肝臓・血液中に存在するT前駆細胞の表面表現型は $\text{Lin}^{-}\text{c-kit}^{+}\text{IL-7R}^{+}$ であるが、胎齢11日目の胸腺原基周辺領域に存在する前駆細胞の表面表現型はこれと一致することが明らかになった。さらにこれらの細胞の分化能をクロナルアッセイで解析したところ、T系列前駆細胞であることが示された。こうして胸腺前段階においてT前駆細胞が存在し、それらが胸腺へ移入することが示された。

さらに申請者は、胸腺前段階においてT前駆細胞特異的な表面マーカーの検索を行い、 $\text{Lin}^{-}\text{c-kit}^{+}\text{IL-7R}^{+}$ 細胞中で Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR) を発現する細胞がT前駆細胞に相当することを見いだした。この $\text{Lin}^{-}\text{c-kit}^{+}\text{IL-7R}^{+}\text{PIR}^{+}$ 細胞（以下、PIR<sup>+</sup>細胞）は種々の培養系で調べた結果、T細胞にのみ分化することが示された。またPIR<sup>-</sup>細胞はB細胞系列に決定された前駆細胞であることも明らかにした。PIR<sup>+</sup>T前駆細胞は胎仔血液・胸腺中にも存在しており、胸腺原基周辺領域T前駆細胞もPIRを発現していた。胸腺内では、最も初期の胸腺内前駆細胞にはPIRの発現がみられるが、その発現はCD25を発現するより前に消失することも明らかになった。これらの結果は、PIR<sup>+</sup>前駆細胞が胸腺移住細胞であることを示している。従来のモデルでは胸腺中の $\text{CD44}^{+}\text{CD25}^{-}$ 段階がT細胞分化の最も未分化な段階として想定されてきたが、本研究によりそれより以前にPIRの発現で特定できる胸腺移住細胞段階が存在することが明らかになった。PIRの発現により胸腺前段階でのT前駆細胞の同定と単離がはじめて可能になり、T細胞初期分化の分子レベルでの詳細な解析の展望が可能となった。

以上より本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。また平成18年1月24日に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ものである。