

氏 名	イ 芮	サ 相	ギ 奎
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	医 博 第 2374 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	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻		
学位論文題目	Induction of Germline Transcription in the TCR γ Locus by Stat5: Implications for Accessibility Control by the IL-7 Receptor. (STAT5 による TCR γ 遺伝子の germline 転写誘導機構に関する研究)		
論文調査委員	(主 査) 教 授 湊	長 博	教 授 桂 義 元 教 授 本 庶 佑

論 文 内 容 の 要 旨

IL-7 レセプター (IL-7 receptor; IL-7R) 欠損マウスの解析により, $\gamma\delta$ T 細胞の分化もしくは維持に必須であることが明らかになった。さらに, IL-7R 欠損マウスでは TCR γ 遺伝子の V-J 組換えが完全に障害されていた。

まず, FDC-P1 などの IL-3 依存性に増殖する種々の血液細胞株で J γ -C γ 型の germline 転写産物が誘導されることが報告されている。実際, IL-3 依存的な Ba/F3 細胞においても TCR γ 遺伝子の germline 転写が認められ, IL-3 非存在下ではこれが顕著に低下していた。さらに, 構成的活性型 STAT5 が導入された Ba/F3 細胞では IL-3 非存在下でも転写が誘導されていた。この結果は, 活性化された STAT5 により TCR γ 遺伝子の germline 転写が誘導され得ることを示している。

そこで, TCR γ 遺伝子の germline 転写の転写開始点を解析した結果, J γ 1 の上流約 200bp の地点より転写が開始していた。この転写開始点の上流約 100bp のところに2つの, 約 200bp のところに1つの, 合計3つの STAT 結合モチーフが存在していた。同様に J γ 2 と J γ 4 の 5' 上流領域にもそれぞれ1つの STAT 結合モチーフが存在した。

次に, J γ 1 の 5' 上流 1kb の DNA 断片をレポーター遺伝子につなげ, Ba/F3 細胞に導入して STAT5 依存的な転写の活性化を解析した。その結果, IL-3 刺激により顕著な転写の誘導が見られ, その効果は STAT5 を外部から加えると増強された。また, 構成的活性型 STAT5 を用いると IL-3 非存在下でも転写の活性化がみられた。さらに, 3つの STAT 結合モチーフを破壊した DNA では STAT5 依存的な転写の活性化は消失した。同様に, IL-7 依存性の preB 細胞株においても, IL-7 刺激より STAT5 依存的な転写の活性化が認められた。以上の結果より, IL-7R により活性化された STAT5 が TCR γ 遺伝子の germline 転写を誘導し得ることが明らかとなった。

IL-7R 欠損マウスの胎児肝臓から T 前駆細胞を取り出し, レトロウイルスを用いて IL-7R や STAT5 を導入し, hanging drop・胎児胸腺器官培養で T 細胞に分化させた。レトロウイルスベクターは IRES 配列によって GFP も発現させることができる。

まず, IL-7R を導入したものでは, コントロールベクターと比較して, 細胞数が劇的に増加し, $\gamma\delta$ T 細胞も検出された。一方, 活性型 STAT5 を導入したものでは, IL-7R 導入時ほどではないが細胞数がある程度回復した。さらに, $\gamma\delta$ T 細胞の分化が見られた。野性型 STAT5 を導入したものでは明らかな $\gamma\delta$ T 細胞の分化は認められなかった。以上の結果より, 活性型 STAT5 の導入が IL-7R 欠損マウスにおける $\gamma\delta$ T 細胞の分化を回復させたことが示された。

以上のことより, IL-7R からの刺激により活性化された STAT5 が J γ の上流の結合モチーフに結合し, germline 転写を誘導し, その領域の accessibility を上昇させ, TCR γ 遺伝子の V-J 組換えを引き起こすことを明らかにした。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は IL-7 レセプター (IL-7 receptor; IL-7R) 欠損マウスの解析により, $\gamma\delta$ T 細胞の分化もしくは維持に必須であることが明らかになった。さらに, IL-7R 欠損マウスでは TCR γ 遺伝子の V-J 組換えが完全に障害されていた。

まず、IL-3 依存的な Ba/F3 細胞においても TCR γ 遺伝子の germline 転写が認められ、IL-3 非存在下ではこれが顕著に低下していた。さらに、構成的活性型 STAT5 が導入された Ba/F3 細胞では IL-3 非存在下でも転写が誘導されていた。この結果は、活性化された STAT5 により TCR γ 遺伝子の germline 転写が誘導され得ることを示している。

そこで、TCR γ 遺伝子の germline 転写を解析した結果、IL-3 刺激により顕著な転写の誘導が見られ、その効果は STAT5 を外部から加えると増強された。また、構成的活性型 STAT5 を用いると IL-3 非存在下でも転写の活性化がみられた。さらに、3つの STAT 結合モチーフを破壊した DNA では STAT5 依存的な転写の活性化は消失した。同様に、IL-7 依存性の preB 細胞株においても、IL-7 刺激より STAT5 依存的な転写の活性化が認められた。以上の結果より、IL-7R により活性化された STAT5 が TCR γ 遺伝子の germline 転写を誘導し得ることが明らかとなった。

IL-7R 欠損マウスの胎児肝臓から T 前駆細胞をとり出し、レトロウイルスを用いて IL-7R や STAT5 を導入し、hag-ing drop・胎児胸腺器官培養で T 細胞に分化させた。

その効果、活性型 STAT5 を導入したものでは、 $\gamma\delta$ T 細胞の分化が見られた。以上の結果より、活性型 STAT5 の導入が IL-7R 欠損マウスにおける $\gamma\delta$ T 細胞の分化を回復させたことを明らかにした。

以上の研究は TCR γ 遺伝子再構成の germline 転写による制御機構に新たな展望を与え、免疫学の発展に貢献するところが多い。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13年2月19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。