

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	河合 洋平
論文題目	クローディン4はEたんぱく質の活性によって胸腺CD4/8 DP細胞で発現誘導され、ポジティブセレクションの効率化に寄与する		
(論文内容の要旨)			
クローディンはタイトジャンクション（TJ）の主要構成分子であり、かつTJのバリア機能を直接担う分子である。本研究ではクローディン4（Cld4）が非上皮細胞である胸腺細胞に発現し、T細胞分化において独自の機能を担う可能性を示した。胸腺細胞におけるCld4の発現はDN3とDPステージの一部の集団に限定されていた。DPステージにおけるCld4陽性細胞の割合はセレクションのないMHCクラスI, II-/-マウスにおいて増加し、逆にDP細胞の寿命が短いRORγ -/-マウスにおいて減少していた。またCld4陽性DP細胞は陰性細胞に比べ、最も遠位に存在するV遺伝子、J遺伝子セグメント（Vα 19とJα 4）をより多く使用する傾向が見られた。Cld4の発現はE47ノックアウトマウスにおいて遺伝子量依存的に減少し、ChIPアッセイにおいてE2AやHEBがCld4のプロモーター領域に存在するE-boxと結合することから、Eたんぱく質によって発現制御されていることが示された。機能的には、Cld4はCD3と共に抗体によって架橋されることにより、強い補助刺激活性を示した。定常状態ではCld4はTCRが存在しない膜分画におけるlck / CD4複合体と会合する一方、抗原特異的な免疫シナプス形成の際には、TCR、lck / CD4複合体と共に細胞間接着部位へ移行し、集積した。さらに胎児胸腺組織培養系において、shRNAによるCld4の発現低下によってCD4/CD8シングルポジティブ細胞の産生が低下することが明らかとなった。以上の結果から、Cld4はDPの後期のステージにおいてEたんぱく質により発現が誘導され、ポジティブセレクションの効率を上げていることが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

クローディンはタイトジャンクション (TJ) の主要構成分子であり、かつ TJ のバリア機能を直接担う分子である。本研究ではクローディン 4 (Cld4) が非上皮細胞である胸腺細胞に発現し、T細胞分化において独自の機能を担う可能性を示した。胸腺細胞におけるCld4の発現はDN3とDPステージの一部の集団に限定されていた。DPステージにおけるCld4陽性細胞の割合はセレクションのないMHCクラスI, II-/-マウスにおいて増加し、逆にDP細胞の寿命が短いROR γ -/-マウスにおいて減少していた。またCld4陽性DP細胞は陰性細胞に比べ、最も遠位に存在するV遺伝子、J遺伝子セグメント (V α 19とJ α 4) をより多く使用する傾向が見られた。Cld4の発現はE47ノックアウトマウスにおいて遺伝子量依存的に減少し、ChIPアッセイにおいてE2AやHEBがCld4のプロモーター領域に存在するE-boxと結合することから、Eたんぱく質によって発現制御されていることが示された。機能的には、Cld4はCD3と共に抗体によって架橋されることにより、強い補助刺激活性を示した。定常状態ではCld4はTCRが存在しない膜分画におけるlck / CD4複合体と会合する一方、抗原特異的な免疫シナプス形成の際には、TCR、lck / CD4複合体と共に細胞間接着部位へ移行し、集積した。さらに胎児胸腺組織培養系において、shRNAによるCld4の発現低下によってCD4/CD8シングルポジティブ細胞の産生が低下することが明らかとなった。以上の結果から、Cld4はDPの後期のステージにおいてEたんぱく質により発現が誘導され、ポジティブセレクションの効率を上げていることが示唆された。

以上の結果はクローディンの新たな機能の可能性を示すものであり、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値のあるものと認めた。なお、本申請者は平成23年4月8日に論文内容とそれに関連した口頭試問を受け、合格と認めたものである。

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。

要旨公開可能日： 年 月 日