



Title	Modulation of TCR-Mediated Signaling Pathway by Thymic Shared Antigen-1 (TSA-1)/ Stem Cell Antigen-2 (Sca-2)
Author(s)	齊藤, 伸一郎
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40783
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	さい とう しん いち ろう 齊 藤 伸 一 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 6 8 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Modulation of TCR-Mediated Signaling Pathway by Thymic Shared Antigen-1 (TSA-1)/Stem Cell Antigen-2 (Sca-2) (TSA-1/Sca-2による TCR シグナル伝達の調節)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 濱岡 利之 (副査) 教 授 木下タロウ 教 授 平野 俊夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Thymic Shared antigen-1 (TSA-1)/Stem Cell Antigen-2 (Sca-2) は、未熟胸線細胞や骨髄細胞に発現のみられる分化抗原として報告されているが、その機能に関しては不明である。当研究室では TSA-1/Sca-2 が末梢 T 細胞の活性化抗原であること、また T 細胞ハイブリドーマにおいて抗 CD3 抗体刺激により誘導される IL-2 産生を抗 TSA-1 抗体が抑制することを報告してきた。本研究では、このような TSA-1/Sca-2 による T 細胞活性化の調節作用をより詳細に検討した。

【方法】

マウス T 細胞ハイブリドーマとして 2B4 細胞, DO.11.10 細胞を使用した。Accessory 細胞として B 細胞ハイブリドーマ LK35.2 細胞, または脾臓細胞を抗 Thy-1 抗体+補体処理した後に放射線照射を行ったもの (splenic AC) を使用した。脾臓 T 細胞は C57BL/6 マウスの脾臓細胞より magnetic beads を用いて B 細胞を取り除いて精製した。T 細胞は Accessory 細胞存在下に抗 CD3 抗体 (2C11) と抗 TSA-1 抗体 (PRST1) を培養系に添加し刺激を加えた。培養上清中の IL-2 量の測定は CTLL-2 を用いた Bioassay にて行った。human leukemic T cell line の Jurkat 細胞に野生型 TSA-1 遺伝子, TSA-1 遺伝子の 1~108 番目のアミノ酸の部分にマウス MHC class I D^b 遺伝子の膜貫通及び細胞内領域の部分相结合させた膜貫通型 TSA-1 遺伝子を PMKIT Neo expression vector を用いて導入し, TSA-1 を発現する stable transfectant を樹立した。コントロールベクターを導入したもの (J2A11), 野生型 TSA-1 遺伝子を導入したもの (J6A7), 膜貫通型 TSA-1 遺伝子を導入したもの (J4B1) を Accessory 細胞存在下に抗 CD3 抗体 (OKT3) と PRST1 により刺激し, 培養上清中の IL-2 量を測定した。TCR 中に存在する CD3ζ 鎖のチロシンリン酸化を確認するため, 2B4 細胞を LK35.2 細胞存在下に 2C11 と PRST1 により刺激し, 1% Triton X を含む Lysis buffer による可溶化後, 抗 TCR 抗体により免疫沈降を行い抗リン酸化チロシン抗体にてウェスタンブロットを行った。

【成績】

(1) 2B4 細胞あるいは DO.11.10 細胞を用いて, Accessory 細胞存在下に 2C11 または 2C11 と PRST1 の刺激により

誘導される IL-2 産生量を測った結果、どの細胞条件においても 2C11 刺激よりも 2C11 と PRST1 の同時刺激のほうが IL-2 産生量の著しい低下を示した。control 抗体として PRST1 と同じ hamster 抗体である抗 CD2 抗体を用いたものでは 2C11 刺激による IL-2 産生を抑制しなかった。また他の抗 TSA-1 抗体あるいは抗 Sca-2 抗体は、2C11 刺激による IL-2 産生を抑制しなかった。このことより、PRST1 は TSA-1 分子中の機能的エピトープを認識しているものと推測される。(2)脾臓 T 細胞を用いても PRST1 は 2C11 刺激による T 細胞の IL-2 産生を抑制した。(3)Accessory 細胞も TSA-1 を発現しており、上記の PRST1 抗体による TCR シグナル伝達の抑制効果は Accessory 細胞上の TSA-1 を介した間接的效果である可能性がある。この可能性を検討するため、TSA-1 を発現していない J2A11 細胞を OKT3+PRST1 にて刺激したところ IL-2 産生の抑制はみられず、TSA-1 を発現している J6A7 細胞においては PRST1 による IL-2 産生の抑制がみられた。このことにより、PRST1 は T 細胞上の TSA-1 を認識してこのような抑制作用を示していることが明らかになった。また膜貫通型 TSA-1 を発現している J4B1 細胞においても PRST1 による同様の抑制作用がみられることから、TSA-1/Sca-2 が抗 CD3 刺激による IL-2 産生を抑制するには GPI アンカー型の構造を必要としないことが示唆された。(4)PRST1 は抗 CD3 刺激による T 細胞の活性化シグナルのどの段階を抑制しているのか調べるため、2B4 細胞を 2C11 及び 2C11 と PRST1 などにより刺激を加え CD3ζ鎖のリン酸化を確認したところ PRST1 を加えることにより 2C11 刺激による CD3ζ鎖のリン酸化が著しく抑制されていることが明らかとなった。このことより PRST1 は少なくとも TCR シグナル伝達のきわめて早期におこるチロシンリン酸化を抑制していることが示唆された。

【総括】

TSA-1/Sca-2 は活性化 T 細胞に発現し、TCR シグナル伝達の早期におこるチロシンリン酸化を抑制することによって T 細胞の活性化を調節していることが示唆された。またこの調節には TSA-1/Sca-2 が GPI アンカー型である必要はなく、TSA-1/Sca-2 に存在する機能的エピトープが重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

Thymic Shared antigen-1 (TSA-1)/Stem Cell Antigen-2 (Sca-2) は GPI アンカー型蛋白質であり、未熟胸腺細胞や骨髄細胞に発現のみられる T 細胞の分化抗原として報告されているが、その機能に関しては未だに不明である。本論文は、末梢 T 細胞において発現の認められない TSA-1/Sca-2 が T 細胞の活性化に伴って発現し、TCR を介した T 細胞の活性化を抑制する調節作用を行っていることを明らかにしたものである。これは T 細胞の過剰な反応を抑制するフィードバック機構の機能とも考えられ注目に値する。またこの TSA-1/Sca-2 を介した T 細胞活性化の抑制は、TCR シグナル伝達の早期にみられる CD3ζ鎖のリン酸化を著しく抑制することによっていることが示唆された。このことは GPI アンカー型蛋白質が TCR シグナル伝達を抑制するポイントとして新しい知見を提供するものである。本論文は TSA-1/Sca-2 だけでなく GPI アンカー型蛋白質の機能を考えるうえで新しい知見を報告しており博士の学位授与に値する。