

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | LIGHT, a TNF-Like Molecule, Costimulates T Cell Proliferation and Is Required for Dendritic Cell-Mediated Allogenic T Cell Response |
| Author(s)    | 下崎, 康治  |
| Citation     |   |
| Issue Date   |   |
| Text Version | none  |
| URL          | <a href="http://hdl.handle.net/11094/42596">http://hdl.handle.net/11094/42596</a>   |
| DOI          |   |
| rights       |   |
| Note         |   |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | しも ぎき こう じ<br>下 崎 康 治   |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学)   |
| 学位記番号      | 第 1 6 0 1 5 号   |
| 学位授与年月日    | 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<br>医学系研究科生体制御医学専攻  |
| 学位論文名      | LIGHT, a TNF-Like Molecule, Costimulates T Cell Proliferation and Is Required for Dendritic Cell-Mediated Allogenic T Cell Response<br>(TNF 様遺伝子LIGHT の樹状細胞を介するT細胞活性化機構の解析) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教 授 長田 重一<br><br>(副査)<br>教 授 宮坂 昌之 教 授 金倉 謙   |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

生体における形態形成や恒常性の維持は様々な分子システムによって行われているが、その中でサイトカインとその受容体は、細胞の増殖や分化と死の制御機構に重要な役割を担っている。TNF (腫瘍壊死因子) 遺伝子ファミリーは、分子のN末端が細胞内、C末端側を細胞外に突出した type II の膜タンパク質であり、その受容体に結合することで細胞に増殖、分化、アポトーシスを誘導する。新規の TNF 様遺伝子である LIGHT は HVEM を受容体とすること、HVEM は T 細胞の活性化に関わっていることが示唆されていたが、詳細なメカニズムは不明であった。そこで本研究では、LIGHT/HVEM システムの生体における生理機能を明らかにするためにその分子機構の解析を行った。

#### 【方法ならびに成績】

我々はヒト EST-database 検索の結果、新規の TNF 様遺伝子を発見し、その full-length cDNA をヒト、マウスから単離したが、この遺伝子は LIGHT と呼ばれる HVEM 受容体に結合する分子であることが判明した。HVEM は TNF 受容体遺伝子ファミリーのうちの一つで、ヘルペスウィルスが感染する際の受容体である。HVEM に対する中和抗体を用いたアロ抗原反応の解析結果より、HVEM は T 細胞の活性化に関わっている事が示唆されていた。そこで T 細胞活性化機構に主要な働きをしている、プロフェッショナル抗原提示細胞である樹状細胞上の LIGHT の発現を調べた。その結果、ヒト末梢血単球を GM-CSF と IL-4 の共培養によって分化させた未熟樹状細胞上において、LIGHT の発現が観察された。しかしながら、この細胞を LPS や抗 CD40 抗体で刺激した成熟樹状細胞上では LIGHT の発現が消失し、また、ヒト末梢血リンパ球より精製した単球画分中の樹状細胞上にもその発現が見られなかった。以上の結果は、LIGHT が樹状細胞分化過程において、選択的な発現調節を受けていることを示している。ついでアロ抗原反応による T 細胞の活性化における LIGHT の機能を検討した。MHC の異なるヒト末梢血リンパ球からそれぞれ樹状細胞と T 細胞を調製しこれらを反応させたところ、T 細胞の増殖が観察された。この反応系において、LIGHT の機能を中和する組み換え可溶性 HVEM 受容体を加えると、顕著に T 細胞の増殖が阻害された。一方、精製した T 細胞に TCR を介するシグナル伝達経路の活性化を引き起こす適量の抗 CD3 抗体を反応させると、弱い T 細胞の増殖が観察される。このとき組み換え LIGHT タンパク質を作用させると、抗 CD3 抗体との共刺激によって強く T 細胞の増殖反応が引き起こされた。またこの増殖促進は、LIGHT の機能の中和によって完全に抑制された。

T細胞の活性化において、転写因子であるNF- $\kappa$ Bの核移行は決定的なイベントである。そこで、LIGHTによるT細胞の活性化機構においてのNF- $\kappa$ Bの活性化を検討した。精製したT細胞を組み換え可溶性LIGHTと抗CD3抗体によって刺激した後、その核抽出液を用意してゲルシフト法を用いて解析した。その結果、可溶性LIGHTと抗CD3抗体の共刺激において最も強いNF- $\kappa$ Bの活性化が確認された。さらに精製したT細胞を可溶性LIGHTと抗CD3抗体を加えて培養した後、サンドイッチELISA法を用いて種々のサイトカインタンパク質の産生を調べた。その結果、LIGHTは抗CD3抗体との共刺激によってT細胞にインターフェロン $\gamma$ の産生を誘導することが明らかとなった。一方、インターロイキン4はこの条件下ではあまり産生されなかった。このことより、LIGHT/HVEM補助刺激システムはTh1 typeの反応を誘起する可能性が示唆された。

#### 【総括】

本研究により、LIGHT/HVEMシステムが樹状細胞を介したT細胞の活性化機構において、TCRとの共刺激因子として働く補助刺激分子としての重要な役割を担っていることが明らかとなった。

### 論文審査の結果の要旨

TNF（腫瘍壊死因子）遺伝子ファミリーは、細胞に増殖、分化、アポトーシスを誘導することで、形態形成や恒常性の維持に重要な役割を担っている。新規のTNF様遺伝子であるLIGHTはHVEMを受容体とすることと、HVEMはT細胞の活性化に関わっていることが示唆されていたが、詳細なメカニズムは不明であった。そこで本研究では、LIGHT/HVEMシステムの生体における生理機能を明らかにするためにその分子機構の解析を行った。

プロフェッショナル抗原提示細胞である樹状細胞上のLIGHTの発現を調べた結果、未分化な樹状細胞上や活性化された成熟樹状細胞上には発現せず、未熟樹状細胞上においてのみLIGHTの発現が観察された。この結果より、LIGHTが樹状細胞において分化過程特異的な発現調節を受けていることが示された。一方、アロ抗原反応によって誘導されたT細胞の増殖は、LIGHTの機能を中和することで阻害された。さらに精製した組み換えLIGHTタンパク質と適量の抗CD3抗体を反応させると、ナイーブT細胞の増殖が誘導され、LIGHTの機能の中和によってその増殖は完全に抑制された。この結果より、LIGHTはT細胞の活性化において補助刺激分子として働きうることが示された。また、LIGHTと抗CD3抗体の共刺激によるT細胞活性化において、強いNF- $\kappa$ Bの活性化が確認された。ナイーブT細胞をLIGHTと抗CD3抗体を加えて培養した結果、LIGHTは抗CD3抗体との共刺激によって、T細胞にインターフェロン $\gamma$ の産生を優位に誘導することが明らかとなった。本研究はLIGHT/HVEMシステムが樹状細胞を介したT細胞の活性化機構において、TCRとの共刺激因子として働く補助刺激分子としての重要な役割を担っていることを明らかとし、学位論文に値すると考えられる。