



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	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42596">https://hdl.handle.net/11094/42596</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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	下崎康治
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第16015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 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 (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) 教授 長田 重一
	(副査) 教授 宮坂 昌之 教授 金倉 讓

## 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(腫瘍壞死因子)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typeII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型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型 LIGHT と抗 CD 3 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、可溶型 LIGHT と抗 CD 3 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細胞を可溶型 LIGHT と抗 CD 3 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 CD 3 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 (腫瘍壞死因子) 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 CD 3 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 CD 3 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 CD 3 抗体を加えて培養した結果、LIGHT は抗 CD 3 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。