The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	スフィンゴ糖脂質の発現抑制がT細胞膜ラフトの構造と機能に及ぼす影響の解析
Author(s)	永福, 正和
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45469
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

【15】

氏　　名	永福正和（ながふく まさかず）
博士の専攻分野の名称	博　士（保健学）
学位記番号	第　19382　号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科保健学専攻
学位論文名	**スフィンゴ糖脂質の発現抑制がT細胞膜ラフトの構造と機能に及ぼす影響の解析**
論文審査委員	（主査） 教　授　川野　淳 （副査） 教　授　松中　成昭　　教　授　岩谷　良則

論文内容の要旨

【目的】

細胞膜にはスフィンゴ脂質（スフィンゴ糖脂質（GSL）とスフィンゴミエリン）及びコレステロールを主要成分とする脂質マイクロドメイン（ラフト）が存在する。ラフトは細胞内シグナル伝達における機能的な場を構成し、T細胞においても、ラフトはT細胞抗原受容体（TCR）シグナル伝達に重要な役割を果たしている。ラフト構成脂質のうち、コレステロールを細胞膜から除去すると、ラフト構造が変化しTCRシグナル伝達が抑制されるという報告がある。しかし、コレステロール以外の脂質に関して、それがラフトの構造や機能の維持に重要か否かよくわかっていない。本研究では、T細胞におけるGSLの発現を抑制することにより、GSLがラフトの構造や機能及びT細胞活性化にどのような役割を果たしているのかを検討した。

【方法と結果】

GSLの生合成を抑制するために、GSL合成の初期酵素であるグルコシルセラミド合成酵素に対する特異的阻害剤D-PDMP（1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol）を用いた。D-PDMPにてヒトT細胞株Jurkat細胞を処理すると、処理後3日目にGSLの発現量は約10分の1まで低下した。D-PDMP処理によりラフト局在蛋白質のラフト局在に変化はなかった。次に、D-PDMP処理細胞に対して抗TCR抗体あるいは抗原特異的刺激を試みたところ、細胞内シグナル伝達反応及びインターロイキン（IL）-2産生は未処理細胞と比べて変化はなかった。一方、GPIアンカー型蛋白質（glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins；GPI-AP）のPI特異的ホスホリパーゼC（phosphatidylinositol-specific phospholipase C；PI-PLC）に対する感受性はD-PDMP処理にて著しく亢進した。さらに、GPI-APを介したT細胞活性化におけるD-PDMPの効果を検討するために、GPI-APの一つであるThy-1をその特異的抗体を用いて刺激したところ、D-PDMP処理細胞では蛋白質のチロシンリン酸化及びIL-2産生は未処理細胞と比べて増強した。

また、MβCD（methyl-β-cyclodextrin）を用いて細胞膜からコレステロールを除去することにより、GPI-APの機能におけるコレステロールの役割を解析したところ、GSLとは相反する結果が得られた。すなわち、T細胞膜からのコレステロール除去により、GPI-APのPI-PLC感受性は著明に低下し、抗Thy-1抗体刺激後のT細胞活性化は抑制されることがわかった。

【考察】

以上の結果より、GSL 発現量の低下により、蛋白質のラフト局在及び TCR シグナル伝達は保持されるが、GPI-AP のラフト膜上での存在状態に影響が及び、GPI-AP によるラフトを介した T 細胞活性化は亢進することが判明した。さらに、GPI-AP の機能発現において、ラフト膜の GSL とコレステロールは相反する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

細胞膜ラフトはスフィンゴ脂質（スフィンゴ糖脂質とスフィンゴミエリン）及びコレステロールより構成されており、細胞内シグナル伝達における機能的な場を形成している。ラフトは T 細胞抗原受容体（TCR）を介した T 細胞活性化に重要な役割を果たしているが、ラフトを構成する脂質のなかで、スフィンゴ糖脂質がラフトの構造や機能の維持に如何なる役割を果たしているのかよくわかっていない。

本研究では、T 細胞におけるスフィンゴ糖脂質の発現を抑制することにより、スフィンゴ糖脂質がラフトの構造や機能及び T 細胞活性化にどのような役割を果たしているのかを検討した。その結果、スフィンゴ糖脂質発現の減少により、TCR シグナル伝達は影響を受けないが、GPI アンカー型蛋白質を介した T 細胞活性化は亢進することを解明した。さらに、コレステロールとスフィンゴ糖脂質との間に機能的な相違があることを明らかにした。

以上の結果は、T 細胞活性化機構におけるラフト構成脂質の機能的役割を解明したものであり、T 細胞の機能制御を考えるうえで重要な情報をもたらした。よって、本論文は学位に値するものと考える。