OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	The role of lipid raft constituents in TCR signal transduction
Author(s)	谷一, 靖江
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46344
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	谷一（たにいち） 靖江（しずえ）
博士の専攻分野の名称	博士（保健学）
学位記番号	第 20190 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 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	The role of lipid raft constituents in TCR signal transduction （T 細胞ラフト構成要素がシグナル伝達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 岩谷 良則　教授 稲垣 忍

論文内容の要旨

細胞膜にはスフィンゴ脂質及びコレステロールを主成分とする脂質マイクロドメイン（lipid raft）が存在し、シグナル伝達やエンドサイトーシスの起点として機能している。これは T 細胞においても例外ではない。ヒト末梢血 T 細胞では、活性化に伴う細胞膜上のラフト発現上昇が報告されているが、その機構は不明である。また、現在多くの研究で、GM1 がラフトマーカーとして使用されているが、GM1 は数多く存在するスフィンゴ脂質の一つに過ぎず、また、動物種の違いにより細胞膜脂質の組成には違いが存在する。このような状況において、GM1 の発現上昇とラフト発現上昇を、同一の事象として捉えて良いのかについては検討されていない。また、ラフト発現の変化が T 細胞のシグナル伝達に及ぼす影響は、明らかになっていない。

そこで本研究では、ヒト抹消血 T 細胞を用いて、T 細胞抗原受容体（TCR）刺激に伴う種々の脂質の発現変化を解析した。さらに、GM1 発現上昇後の T 細胞におけるシグナル伝達効率の変化と、脂質組成の変化によるシグナル伝達への影響を検討した。その結果、ヒト末梢血 T 細胞では活性化に伴い、ラフト構成脂質の総量が増加していた。次に、スフィンゴ脂質合成経路の各酵素の発現パターンを調べたところ、活性化に伴い、GM2 合成酵素の発現上昇が顕著であったことから、GM1 発現上昇には GM2 合成の増加が大きく寄与している可能性が示唆された。また、GM1 発現が上昇したラフトには、TCR シグナルを負に制御する分子が濃縮されていることが明らかになった。この結果と一致するように、ラフト発現が上昇した T 細胞においては、TCR からのシグナル伝達効率が低下していた。また、細胞膜からコレステロールを除去し、脂質組成を変化させると、TCR シグナル伝達効率が低下したことから、ラフトの構造がシグナル伝達に影響を及ぼすことが示された。以上の結果から、活性化 T 細胞はラフト発現が上昇しているにもかかわらず、一時的には、再刺激に対して抵抗性を示すようになっていることが明らかとなった。さらに、naive T 細胞と活性化 T 細胞においてはラフトの役割が異なり、ラフトの発現上昇は必ずしもシグナル伝達の効率上昇につながらない可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

細胞膜には、スフィンゴ脂質およびコレステロールを主成分とする脂質マイクロドメイン（lipid raft）が存在し、細胞内シグナル伝達やエンドサイトーシスの起点として機能している。これはT細胞においても例外ではない。近年、ヒト末梢血 T 細胞は、活性化に伴い、細胞膜上のラフト発現が上昇することが報告された。この報告を含め、現在、多くのラフト研究では、スフィンゴ脂質の一つである GM1 がラフトマーカーとして使用されている。しかし、GM1 は数多く存在するスフィンゴ脂質の一つに過ぎず、また、動物種により細胞膜構成脂質には違いが存在する。このような状況において、GM1 の発現上昇とラフトの発現上昇を、同一の事象として捉えて良いのかについては検討されていない。また、ラフトの発現変化が T 細胞のシグナル伝達に及ぼす影響は明確にされていない。

そこで、本研究では、ヒト末梢血 T 細胞を用いて、T 細胞抗原受容体（TCR）刺激に伴う、種々の脂質の発現変化を解析した。さらに、GM1 発現上昇後の T 細胞におけるシグナル伝達効率の変化と、脂質組成の変化によるシグナル伝達への影響を検討した。その結果、ヒト末梢血 T 細胞では、TCR 刺激による活性化に伴い、ラフト構成脂質の総量が増加した。しかし、コレステロールと GM1 ではパターンが異なり、GM1 は発現上昇が長時間持続するのに対し、コレステロールの発現上昇は一時的であることが明らかになった。さらに、スフィンゴ脂質合成経路の各酵素の解析から、T 細胞の活性化により GM2 合成酵素が大きく発現上昇することが判明した。また、活性化 T 細胞のラフトには、シグナル伝達の負の制御分子 Fyn、Cbp、Csk が局在しており、TCR 刺激による Ca^{2+} 経路の応答性が抑制されていた。また、細胞膜からのコレステロール除去により TCR シグナル伝達は抑制され、これはコレステロールの再添加により回復したことから、ラフトの脂質組成はシグナル伝達に影響を与えていることが示された。

シグナル伝達の起点とされるラフトの脂質の重要性は、過去にも薬剤や RNAi などを用いた実験により証明されている。そして、活性化 T 細胞やメモリーT 細胞ではラフト発現が上昇していることから、ラフトの増加はシグナル伝達の効率上昇につながると考えられていた。しかし、これらのラフト研究のほとんどは、GM1 を指標としたものであり、他の脂質の発現変化は解析されていなかった。本研究は、GM1 以外の脂質の活性化 T 細胞における変化を、脂質合成酵素にも注目して行った初めての研究であり、脂質の再添加というユニークな方法でラフトの脂質組成の重要性を証明したものである。さらに本研究は、活性化 T 細胞では、ラフト構成脂質の発現は上昇しているが、一時的にはラフトがシグナル伝達抑制の場として機能し、その発現増加のみでは TCR シグナル伝達の効率上昇につながらないことを明らかにしたものであり、学位授与に値するものと認める。