

Title	Enhanced response of T lymphocytes from Pgap3 knockout mouse : Insight into roles of fatty acid remodeling of GPI anchored proteins
Author(s)	村上, 秀和
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58949
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	むら かつ ひで かつ 村 上 秀 和
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学位記番号	第 25088 号
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Enhanced response of T lymphocytes from Pgap3 knockout mouse: Insight into roles of fatty acid remodeling of GPI anchored proteins (Pgap3 ノックアウトマウスでは T 細胞の反応が亢進する。:GPI アンカー 蛋白質の脂肪酸リモデリングの役割の解明)
論文審査委員	(主査) 教 授 木下タロウ (副査) 教 授 竹田 潤二 教 授 岡田 雅人

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

GPIアンカー型蛋白質は、ホスファチジルイノシトール、グルコサミン、マンノース、エタノールアミンリン酸からなる糖脂質であるGPIによって蛋白質が細胞膜につなぎ止められている。GPIアンカー型蛋白質は、ゴルジ体においてホスファチジルイノシトールの2位の不飽和脂肪酸を飽和脂肪酸に置き換える脂肪酸リモデリングを受けることにより、細胞膜にある脂質ラフトに局在できるようになる。この脂肪酸リモデリングにはPgap3遺伝子が必須であり、Pgap3を欠損した細胞では、GPIアンカー型蛋白質が細胞膜のラフトに局在できないことが従来の研究で明らかになっている。GPIアンカー型蛋白質はラフト上に局在することにより、シグナル伝達に特別な役割をもつと考えられているが、今回GPIアンカー型蛋白質がラフトに存在しないマウスを作製することにより、生体においてGPIアンカー型蛋白質がラフトに局在する意義を調べることを目的として研究をおこなった。私は特にT細胞の機能に焦点をあてて解析を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

Pgap3の機能に必要なエクソン7と8の一部をloxPの配列ではさんだノックインマウスを常法に従って作製し、全身でCreリコンビナーゼを発現するCAG-cre マウスと交配することによりPgap3 ヘテロノックアウトマウスを作製した。さらにこれら同士を交配することによりPgap3ノックアウトマウスを得た。このノックアウトマウスの雌はメンデルの法則に従って生まれたが、雄の半数は、胎内あるいは生後直後に死亡した。生存した個体は体重増加の遅延、反射異常であるlimb graspingが見られたが、特に形態形成の異常は見られなかった。マウスのT細胞に発現するGPIアンカー型蛋白質である Thy-1は、正常では4℃で1% TritonX-100に不溶性であるラフト分画に分離されるが、予想通りPgap3ノックスアウトマウスのT細胞では脂肪酸リモデリングが起これないでラフトではない可溶性の分画に分離された。このT細胞の機能に焦点をあてて解析を行った。胸腺におけるT細胞の分化及び末梢におけるT,Bリンパ球の割合には異常は見られなかったがノックアウトマウスのT細胞では、GPIアンカー型蛋白質の発現量が約50%減少していた。T細胞受容体 (TCR) の架橋やマイトジェンによるT細胞活性化を解析したところノックアウトマウスとヘテロマウスでは差が見られなかったが、TCRとGPIアンカー型蛋白質であるThy-1を同時に架橋するとヘテロマウスではThy-1の架橋により抑制傾向がみられるのに対し、ノックアウトマウスでは抗Thy-1抗体の濃度依存性に活性化の増大がみられた。さらにノックアウトマウスのCD4陽性T細胞はアロの樹状細胞に対する反応や、抗原特異的な反応においてヘテロマウス由来

の細胞よりも反応性が増大していた。実験的自己免疫性脳脊髄炎の実験では、臨床スコアにおいてヘテロマウスとノックアウトマウスでは有意差がみられなかったものの、ノックアウトマウスでは劇症化し死亡した個体が現れた。

〔 総 括 〕

Pgap3ノックアウトによりGPIアンカー型蛋白質がラフト局在しないマウスが作製できた。発育の遅延はあるものの大きな形態形成の異常はなかったことから発生には影響は少ないことがわかった。GPIアンカー型蛋白質がラフトに局在しないT細胞は、in vitro、in vivoで反応が亢進していた。抗体によるTCRとThy-1の架橋の実験でラフト外に存在するThy-1からはTCRシグナルを増強するシグナルが入っていることが観察された。これに対し、ラフト上のThy-1からは寧ろ抑制するシグナルが働いているらしいことが確認された。即ちラフトにおけるGPIアンカー型蛋白質はT細胞の反応性を調整する役割をしている可能性が考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞表面の数多くのタンパク質が糖脂質であるグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) によって膜にアンカーされている。それらGPIアンカー型タンパク質は、脂質ラフトと呼ばれる膜ドメインに局在するタンパク質群であり、ラフトへの局在が機能の発現に重要であると考えられているが、その意義は十分解明されていない。本研究では、GPIアンカーの脂肪酸リモデリングに必須なPgap3遺伝子を破壊することによって、GPIアンカー型タンパク質が脂質ラフトに局在できないマウスを作製し、T細胞の機能を解析した。その結果、ノックアウトマウスのT細胞は、T細胞受容体を介する増殖反応が亢進していること、その時GPIアンカー型タンパク質であるThy-1がラフト外からT細胞受容体シグナルを増強していることがわかった。この成果は、T細胞においてGPIアンカー型タンパク質が脂質ラフトに局在することの意義を明らかにしたものであり、学位論文に値する。