

論文の要約

報告番号	① 乙	医 第 1282 号	氏 名	河野 弘
学位論文題目	Aire Expression Is Inherent to Most Medullary Thymic Epithelial Cells during Their Differentiation Program			
<p>【目的・問題提起】</p> <p>胸腺髄質上皮細胞 (medullary thymic epithelial cell: mTEC) は多様な組織特異的自己抗原 (tissue restricted antigen: TRA) を異所性に発現し、胸腺における自己反応性T細胞の除去、すなわち負の選択に中心的な役割を果たす細胞である。Autoimmune regulator (Aire) は mTEC に発現する転写調節因子であり、中枢性自己寛容の成立に必須であるが、その詳細な機能については明らかとはなっていない。</p> <p>mTEC は二分化能を有する前駆細胞より分化し、成熟する過程でいくつかの機能的分子を発現するようになる。MHC class II 分子やT細胞に対する副刺激分子である CD80/CD86 を高発現する mTEC (mTEC^{high}) は、その発現レベルが低い mTEC (mTEC^{low}) に比べ、より多様な TRA を発現する。mTEC^{low} が mTEC^{high} へと分化成熟し、Aire は成熟した mTEC^{high} にのみ発現する。</p> <p>Aire は、従来のモノクローナル抗体を用いた解析では、一部の成熟 mTEC にしか検出されない。それゆえに、Aire 陽性 mTEC は TRA を発現する mTEC サブセットであると一般的には考えられてきた。しかしながら、この限られた mTEC サブセットにおける Aire の欠損が、なぜ mTEC 全体からの多様な TRA の発現低下をもたらすのかについては明らかとはなっていなかった。</p> <p>本研究では、Aire は特定の mTEC lineage にのみ発現するのか、あるいは、本来すべての mTEC において特定の条件を満たした場合に Aire を発現する機能が備わっているのかを明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法・結果】</p> <p>mTEC における Aire の発現様式を詳細に解析するために、新規レポーターマウスとして Aire 遺伝子座に human AIRE-GFP-Flag tag 融合遺伝子を導入した Aire/hAGF ノックインマウスを樹立した。同マウスにおいて内在性 Aire は hAGF 融合蛋白に置換されるため、胸腺の免疫染色を行うと hAGF レポーター蛋白は内在性 Aire と同様に nuclear dot として検出され、モノクローナル抗体を用いて検出した内在性 Aire のシグナルとほぼ完全に一致した。また、Aire/hAGF ヘテロノックインマウス由来の mTEC をフローサイトメトリーにて解析した結果、モノクローナル抗体で検出される Aire 陽性 mTEC の割合は野生型マウスとほぼ同等であったが、mTEC^{high} の 80% において、hAGF レポーター蛋白が検出された。さらに、Aire/hAGF ホモノックインマウスを同様に解析すると、mTEC^{high} の 95% が hAGF レポーター蛋白陽性であった。Aire/hAGF ヘテロノックインマウスに対して抗 RANKL 抗体を投与すると、同抗体による mTEC の分化阻害作用を反映して hAGF レポーター蛋白陽性 mTEC が経時的に減少したことから、このレポーター蛋白は特異性も有することが示された。</p> <p>次に、Aire 遺伝子座に diphtheria toxin receptor-GFP (DTR-GFP) 融合遺伝子を挿入した Aire/DTR-GFP ノックインマウスを用い、diphtheria toxin を長期間連続投与することによって Aire 陽性 mTEC を消去し続けたところ、ほとんどすべての mTEC^{high} が消失した。同様に、Aire/DTR-GFP ノックインマウス由来の胎児胸腺を RANKL と DT の存在下に培養すると、RANKL の刺激によって分化が促進された結果生じる mTEC^{high} のほとんどが消失した。</p> <p>【考察・まとめ】</p> <p>hAGF レポーター蛋白は、その検出感度が高いために、従来のモノクローナル抗体よりも多くの Aire 陽性 mTEC を検出可能であったと考えられる。本研究の結果から、Aire 陽性 mTEC は特定の lineage に属するのではなく、すべての mTEC は、特定の分化段階になるか、あるいは未知の条件を満たした場合に Aire を発現することができる機能を有する可能性が示唆された。このことは、mTEC という限られた細胞集団において、Aire という単一分子が非常に多種多様な TRA の発現を制御していることを説明しうる知見のひとつとして有用であると考えられた。</p>				