

論 文 内 容 要 旨

題目 Survival of mature T cells depends on signaling through HOIP
(成熟 T 細胞の生存は HOIP を介するシグナルに依存する)

著者 Kazumi Okamura, Akiko Kitamura, Yoshiteru Sasaki, Doo Hyun Chung, Shoji Kagami, Kazuhiro Iwai, Koji Yasutomo
平成 28 年 10 月発行 Scientific Reports 第 6 巻 36135 に発表済

内容要旨

HOIP 遺伝子は SHARPIN 及び、HOIL-1L と LUBAC complex を形成する。LUBAC complex は E3 ligase 活性を持ち、NEMO に直鎖状ユビキチンを結合することにより、NF κ B のシグナルにおいて必須であることが知られている。しかし、HOIP の T 細胞分化や活性化における機能は不明であり、これらを解明するために T 細胞特異的に HOIP を欠損したマウス (T-HOIP Δ^{linear}) を用いて検討した。

T-HOIP Δ^{linear} マウスの胸腺細胞の表現型を観察したところ、CD4SP、CD8SP の減少を認めた。またそれらの細胞のうち、CD24 発現の低い細胞の割合が少なく、胸腺内における T 細胞の分化が障害されていると考えられた。次に末梢組織における T 細胞を脾臓及び、リンパ節を用いて検討した結果、著明な T 細胞の減少が認められた。またこれらの T 細胞では CD44 発現が高い細胞の割合が多かった。胸腺また肝臓において CD1d テトラマーを用いて NKT 細胞を検討した結果、いずれも T-HOIP Δ^{linear} マウスにおいてその割合が減少しており、HOIP の欠損により NKT 細胞の分化が障害されることが判明した。

CFSE を用いて細胞の増殖を検討したところ、T-HOIP Δ^{linear} マウスにおいて CD4 陽性 T 細胞の増殖が障害されていることがわかった。また、OVA を用いてマウスに免疫を行った結果、T-HOIP Δ^{linear} マウスにおいては IFN γ の産生及び、抗原特異的な抗体産生も障害されていることが明らかになった。

次に T-HOIP Δ^{linear} マウスにおいて NF κ B 及び JNK シグナルへの影響を検討した。抗 CD3 抗体を用いて刺激を行ったところ、I κ B α および JNK のリン酸化が障害されていた。次に共焦点顕微鏡を用いて p65 の核内移行を検討した結果、T-HOIP Δ^{linear} マウス由来 T 細胞では p65 の核内移行が障害されており、NF κ B 活性化及び、JNK のリン酸化もコントロールと比較して低下している事が判明した。また T-HOIP Δ^{linear} マウスの胸腺及び脾臓の CD4、CD8T 細胞では AnnexinV 陽性細

様式 (8)

胞の割合が増えており、*in vitro* 及び、*in vivo* における実験においてもコントロールと比較して、より細胞死が誘導されやすい状態であることが判明した。サイトカインレセプターの発現を検討した所、胸腺の CD4SP、CD8SP 細胞において IL7R α である CD127 の発現の低下を認めた。T-HOIP Δ^{linear} マウスの胎児胸腺に CD127 を強制発現させた結果、CD8SP の population の回復が認められ、CD127 の低発現が CD8SP 細胞の減少の原因と考えられた。

以上の結果から、HOIP の ligase 活性は T 細胞の分化、増殖や機能また細胞の生存にとって重要な役割を果たしている事が明らかになった。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1314 号	氏名	岡村 和美
審査委員	主査	安倍 正博	教授
	副査	西岡 安彦	教授
	副査	松本 満	教授

題目 Survival of mature T cells depends on signaling through HOIP
(成熟 T 細胞の生存は HOIP を介するシグナルに依存する)

著者 Kazumi Okamura, Akiko Kitamura, Yoshiteru Sasaki, Doo Hyun Chung, Shoji Kagami, Kazuhiro Iwai, Koji Yasutomo
平成 28 年 10 月発行 Scientific Reports 第 6 巻 36135 に発表済
(主任教授 香美 祥二)

要旨 HOIP は SHARPIN および HOIL-1L と linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC) を形成する。LUBAC は TNF α 刺激下において NEMO を直鎖状ポリユビキチン化し、canonical NF- κ B シグナルを活性化する。NF- κ B シグナルは T 細胞分化を制御しているが、LUBAC の T 細胞分化や活性化における役割は不明である。そこで、T 細胞特異的に HOIP 遺伝子を欠損させたマウス (T-HOIP Δ^{linear}) を作成し、LUBAC の T 細胞分化、活性化における役割を検討した。得られた結果は以下の通りである。

1) T-HOIP Δ^{linear} マウスの胸腺では CD4 $^+$ CD8 $^+$ double positive T 細胞 (DP) が保たれていたが、胸腺および末梢組織の脾臓やリンパ節での CD4 $^+$ CD8 $^-$ single positive T 細胞 (CD4SP) と CD4 $^-$ CD8 $^+$ single positive T 細胞 (CD8SP) の割合がともに減少していた。また、胸

腺および肝臓の NKT 細胞も減少していた。

2) T-HOIP^{Δlinear} マウスの CD4SP は、T 細胞受容体 (TCR) を介する刺激による細胞増殖が障害されており、卵白アルブミンに対する抗原特異的抗体産生能も障害されていた。

3) T-HOIP^{Δlinear} マウスの CD4SP では、TCR を介する刺激による NF- κ B の活性化、JNK のリン酸化が低下していた。

4) T-HOIP^{Δlinear} マウスでは胸腺および脾臓の CD4SP と CD8SP における annexin V 陽性細胞の割合が増えていた。

5) T-HOIP^{Δlinear} マウスでは胸腺の CD4SP と CD8SP の IL7R α (CD127) の発現が低下していたが、T-HOIP^{Δlinear} マウスの胎児胸腺に CD127 を強制発現させると CD8SP の細胞比率が回復した。

以上の結果より、HOIP 遺伝子を欠損させ LUBAC の E3 ligase 活性を消失させると、胸腺における DP 以降の T 細胞の分化・生存活性が障害され、特に CD127 の発現低下が DP から CD8SP への分化に関与していることが示された。また、TCR を介した NF- κ B の活性化における LUBAC の関与も明らかとなった。本研究は、LUBAC の E3 ligase 活性が T 細胞の胸腺での分化や TCR を介する活性化および T 細胞の生存に重要な役割を果たしている事を明らかにしたものであり、その学術的意義は大きく、学位授与に値すると判定した。