

審査の結果の要旨

氏名 井上 真以亜

本研究は、翻訳後修飾の一つであるタンパク質アルギニンメチル化の T 細胞における役割を明らかにするために、タンパク質アルギニンメチル基転移酵素 5 (PRMT5) を T 細胞特異的に欠損するマウスを作成し、各 T 細胞分画の細胞数や PRMT5 によって制御される分子を解析し、以下の結果を得ている。

1. T 細胞の活性化に伴い、PRMT5 の発現が増加し、9 つある PRMT ファミリー分子のうち最も高かった。さらに PRMT5 によって触媒される対称性ジメチルアルギニンレベルが増加したことから、T 細胞の活性化により発現上昇した PRMT5 が、アルギニン対称性ジメチル化を促進することが示唆された。
2. T 細胞における PRMT5 の機能を生体レベルで解析するため、T 細胞特異的 *Prmt5* 遺伝子欠損マウスを作製して解析した。当該マウスでは胸腺の DP、SP 細胞の数は正常であった一方、末梢の CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞数が有意に低下していた。また、胸腺および末梢の invariant NKT (iNKT) 細胞がほぼ欠失していた。従って PRMT5 は iNKT 細胞の胸腺での分化と、CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞の末梢における維持に重要であることが示された。
3. 胸腺の iNKT 細胞は DP 細胞から分化し、stage 0~3 へと成熟していく。このうち T 細胞特異的 *Prmt5* 遺伝子欠損マウスでは stage 1、2、3 細胞の数が低下していたため、PRMT5 は iNKT 細胞の分化早期に寄与することが示された。さらに、*Prmt5* 欠損 iNKT 細胞では、iNKT 細胞分化に必須の IL-7 や IL-15 の受容体に共有される共通サイトカイン受容体 γ_c の発現が低下していた。
4. 末梢の T 細胞における PRMT5 の役割を解析するために、*Prmt5* 欠損ナイーブ T 細胞を抗 CD3/CD28 抗体及び IL-2 存在下で培養した結果、細胞増殖と生存が障害された。胸腺細胞、末梢のナイーブ T 細胞、及び活性化した T 細胞における γ_c の発現を解析した結果、PRMT5 の欠損により、末梢の T 細胞の γ_c 発現が低下することが認められた。さらに、末梢の T 細胞における TCR 誘導性の JAK3 の発現が、*Prmt5* 欠損細胞ではほとんど認められなかった。従って、PRMT5 は γ_c と JAK3 を制御することが示唆された。
5. PRMT5 欠損による γ_c ファミリーサイトカインシグナルへの影響を解析するために、IL-2 または IL-7 刺激下の STAT5 のリン酸化を解析したところ、*Prmt5* 欠損 T 細胞では STAT5 のリン酸化が有意に低下した。さらに、レトロウイルスを用いて *Prmt5* 欠損 T 細胞に γ_c と JAK3 を遺伝子導入した結果、細胞増殖と生存が有意に回復することを認

めた。従って、PRMT5 は γc と JAK3 の発現促進を介して、iNKT 細胞の分化や末梢の CD4^+ および CD8^+ T 細胞の維持に寄与する可能性が示された。

6. PRMT5 による γc と JAK3 の発現制御メカニズムを検証した。*Prmt5* 欠損 T 細胞では、スプライソソーム構成因子の SmD3 のアルギニンメチル化が認められなかったことから、 γc と JAK3 のスプライシングが障害されていることが考えられた。定量 RT-PCR 解析により、*Prmt5* 欠損 T 細胞では γc と JAK3 のスプライシング前の転写産物の割合が増加していた。そのため、PRMT5 はスプライシングを促進することによって γc と JAK3 の発現促進に寄与することが考えられた。

以上、本論文は、PRMT5 を介したタンパク質アルギニンメチル化が、 γc と JAK3 の発現制御を通して、iNKT 細胞の分化と CD4^+ 及び CD8^+ T 細胞の維持や活性化に必要な γc ファミリーサイトカインシグナルを促進することを明らかにした。T 細胞におけるアルギニンメチル化の機能の理解は、PRMT 阻害剤のがん或いは自己免疫疾患治療薬の研究開発に際して重要な知見となることが期待され、学位の授与に値するものと考えられる。