

審査の結果の要旨

谷口 香織

本研究は、2型糖尿病の主因と考えられる肥満脂肪組織炎症の生じるメカニズムについて、自己免疫疾患の側面から解析を試みたものである。肥満進行の各段階に於ける脂肪組織浸潤 T 細胞の解析により特定の時期に浸潤増加が見られる特定の T 細胞を同定し、さらに、今後の肥満脂肪組織炎症研究に於ける有用な新規モデル動物の創成を目指し、同定した T 細胞を持つ T 細胞受容体 (TCR) -トランスジェニック (TG) マウスを作製した。本研究により得られた結果は以下の通りである。

1. 近年問題となっている肥満人口の増加は、食生活の欧米化による脂質の過剰摂取が大きく影響しているものと考えられる為、それを模倣するモデルとして高脂肪食 (High fat diet: HFD) 給餌による肥満モデルを用いた。インスリン抵抗性が生じるとされる HFD 負荷後 12 週を上限とし、肥満進行の各段階に於ける脂肪組織浸潤 T 細胞を解析したところ、HFD 負荷後 9 週で $V\alpha 5$ を発現する T 細胞 (以下 $V\alpha 5T$ 細胞) の割合に著しい増加が見出された。さらにそれらを 1 細胞毎にシーケンス解析を行った結果、同一の CDR3 を持つ細胞の存在が確認され、 $V\alpha 5T$ 細胞のクローン増殖が生じた事が示唆された。
2. $V\alpha 5T$ 細胞による T 細胞依存性の適応免疫応答が生じていると推測された事から、 $V\alpha 5T$ 細胞が肥満脂肪組織炎症の惹起もしくは進行に関与すると考え、体内の殆ど全ての $\alpha\beta T$ 細胞が $V\alpha 5T$ 細胞となる TCR-TG/TCR $\alpha^{-/-}$ マウスを作製した。 $V\alpha 5T$ 細胞は自己応答性であると考えられる為、まず胸腺に於ける T 細胞の分化成熟について検証した。その結果、TCR-TG/TCR $\alpha^{-/-}$ マウスの $V\alpha 5T$ 細胞は胸腺に於ける正の選択を受け、CD4T 細胞、CD8T 細胞双方へと分化成熟する事が示された。
3. 胸腺で CD4T 細胞或いは CD8T 細胞へと分化し、末梢へ遊走した成熟 $V\alpha 5T$ 細胞について TCR の発現を確認したところ、野生型 (WT) マウスと比較して発現量が著しく低下している事が明らかとなった。胸腺で正の選択を受けた CD4SP 胸腺細胞、CD8SP 胸腺細胞は共に WT マウスの胸腺細胞と同程度の TCR 発現量を呈した事から、末梢へ遊走后に TCR 発現量が非常に低く制御されている事が示された。
4. 末梢にて $V\alpha 5T$ 細胞の TCR 発現量が著しく低下している原因として、 $V\alpha 5T$ 細胞が自己応答性であるが故に免疫寛容機構が働いたと考えられた。その場合、 $V\alpha 5T$ 細胞が機能不全となっている可能性が浮上した為、まず Concanavalin A を用いた強力な汎 T

細胞刺激を与え T 細胞の応答性を検証した。その結果、この様な TCR 非依存的な刺激に対して、WT マウスの T 細胞と同程度の活性化状態が誘導される事が確認された。

5. TCR-TG/TCR $\alpha^{-/-}$ マウスの V α 5T 細胞は機能不全ではない事が確認された為、TCR を介した刺激に対しても同様に応答可能であるかを検証した。抗 CD3 ϵ 抗体、或いは抗 TCR β 鎖抗体を用いて TCR を介した刺激を模倣し、T 細胞が TCR 刺激に応答する際に分泌する事が知られている IL-2 量の変化について解析を行った。その結果、TCR-TG/TCR $\alpha^{-/-}$ マウスの V α 5T 細胞も WT マウスの T 細胞も共に刺激強度に依存した IL-2 分泌量を示し、さらに TCR-TG/TCR $\alpha^{-/-}$ マウスの V α 5T 細胞でより多くの IL-2 分泌量が確認された事から、より強い応答性を示す性質が明らかとなった。

以上、本論文は肥満脂肪組織炎症への関与が疑われる特定の T 細胞を同定し、体内の殆ど全ての T 細胞が同定した T 細胞となる TCR-TG マウスの作製、及び得られた TCR-TG マウス T 細胞の解析結果を示した。今回作製された TCR-TG マウスは、今後 V α 5T 細胞の選択的な肥満脂肪組織浸潤及び活性化が確認された後には、肥満脂肪組織炎症の全容解明に於いて有用なモデル動物となる事が期待される。また一方で、末梢へ遊走した後に TCR 発現量が低く制御される機構に関する TCR-TG マウスを用いた解析は、新たな免疫寛容機構の提案に重要な貢献を成すと考えられる。以上の理由から、学位の授与に値するものと考えられる。