

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 医学 )	氏名	白 榊 絃子
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ①・2 項該当		
論文題目 Potential role of inducible GPR3 expression under stimulated T cell conditions (T 細胞刺激による GPR3 発現誘導とその役割)			
論文審査担当者			
主 査	教授	一戸 辰夫	印
審査委員	教授	神沼 修	
審査委員	准教授	河野 洋平	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>GPR3 はリガンド非存在下に恒常的 <math>G\alpha_s</math> 活性化能を有する G 蛋白質共役型受容体である。GPR3 は中枢神経系、卵母細胞に豊富に発現し、中枢神経系では神経突起伸長・生存・分化への関与、卵母細胞では減数分裂停止の維持への関与、病態においてはアルツハイマー病、多発性硬化症、脳梗塞との関連性が報告されている。近年、多発性硬化症において、末梢血単核細胞における GPR3 発現低下と予後不良の相関性が報告された。しかしながら、免疫細胞における GPR3 の機能や役割は不明であり、本研究では T 細胞における GPR3 発現と機能について検討した。</p> <p>ヒト T 細胞株 Jurkat 細胞では、PKC 活性化剤 PMA とカルシウムイオノフォアの ionomycin 刺激により、刺激後 2 時間で顕著な GPR3 発現が観察され、さらにその発現は 8 時間まで持続した。T 細胞における GPR3 発現の役割を検索するため、Jurkat 細胞において GPR3 発現抑制下で変化する遺伝子群をマイクロアレイで解析した。細胞刺激後 6 時間で GPR3 発現抑制条件下における強い発現低下を認めた遺伝子として転写因子 NR4A2 を同定した。リアルタイム RT-PCR 法による NR4A 受容体発現解析においても、Jurkat 細胞刺激後 6 時間および 12 時間で NR4A2 発現の有意な低下を認めたが、NR4A1 および NR4A3 の有意な変化を認めなかった。一方、GPR3 発現上昇により NR4A1-3 全ての発現誘導を認めた。以上の結果から、T 細胞刺激による GPR3 の持続的発現上昇が、NR4A2 発現を誘導することが明らかとなった。</p> <p>次に、GPR3 を介した NR4A2 発現誘導のシグナル伝達経路を検討した。Jurkat 細胞では PMA/ionomycin 刺激による NR4A2 発現誘導は、PKC、p38MAPK、MEK 阻害剤によって有意に抑制され、GPR3 導入細胞においても、PKC、PKA、p38 MAPK、MEK 阻害剤で有意に抑制された。以上の結果から GPR3 を介した NR4A2 発現誘導には、PKA および MAPK シグナル経路の関与が示唆された。</p> <p>NR4A 受容体は、NBRE プロモーター領域にモノマーとして、NurRE プロモーター領域にホモまたはヘテロダイマーとして結合し、転写活性を上昇させる。NBRE または NurRE プロモーター領域をルシフェラーゼの上流に挿入したコンストラクトを用いた検討では、Jurkat 細胞において NBRE・NurRE プロモーター活性は、PMA/Ionomycin 刺激 12 時間まで発現増加がみられ、GPR3 発現抑制により刺激後 12 時間において NBRE・NurRE プロモーター活性の有意な減少を認めた。一方で、GPR3 過剰発現により刺激後 4 時間で顕著で有意な NBRE・NurRE プロモーター活性増加を認めた。したがって、GPR3 発現と NBRE・NurRE プロモーター活性には正の相関を認めた。</p> <p>さらに、マウス初代脾臓 T 細胞を用いて、T 細胞における GPR3 の役割を検索した。予想通り、マウス CD4+脾臓細胞における GPR3 発現は、CD3/28 または PMA/ionomycin 刺激後 1 時間で誘導されたが、この発現はそれぞれ一過性または持続的であった。T 細胞では NR4A2 発現により、Treg 細胞分化の制御が報告されていることから、野生型マウス (WT) または GPR3 ノックアウト (GPR3KO) マウスを用いて、胸腺や脾臓細胞における Treg 細胞分化を検討した。胸腺と脾臓における T 細胞数や Treg 細胞割合について、WT と GPR3KO で差異を認めなかった。また、T 細胞刺激条件下で WT と GPR3KO の間で、NR4A1-3 発現に有意な差異を認めなかった。一方で、GPR3KO マウスでは、CD4+および CD8+ T 細胞両分画において、</p>			

エフェクターT細胞（CD44+CD62L<sup>-</sup>）の有意な割合増加を認めた。

本研究において、T細胞ではGPR3が細胞刺激後早期に発現誘導し、持続的なGPR3発現はNR4A2発現やNR4Aプロモーター活性に影響を与えることを明らかにした。また、GPR3発現レベルの持続はシグナル入力により異なり、一過性のGPR3発現はNR4A2発現に影響を与えなかった。一方で、GPR3は総じてエフェクターT細胞活性の抑制に寄与することが明らかになった。T細胞におけるGPR3発現レベルと持続時間が、抗原受容体のシグナル伝達を調節し、T細胞寛容性などに影響を与える可能性が示唆された。

このように、本研究はT細胞におけるGPR3の役割の一端を明らかにし、T細胞が関わる免疫疾患の病態生理の理解に大きな貢献をもたらした。よって審査委員会委員全員は、本論文が白榊紘子に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。