

氏名	Alla Bradley		
学位の種類	博 士 (理学)		
学位記番号	博 甲 第 9 2 2 8 号		
学位授与年月日	平成 3 1 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Differential Regulation of Activation and Differentiation Processes in CD4+ T Cell Subsets Revealed by Multidimensional Analysis (CD4陽性T細胞亜集団特異的な活性化・分化過程の多次元解析による解明)		
主査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	中田 和人
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	稲垣 祐司
副査	筑波大学教授	博士 (医学)	千葉 智樹
副査	Imperial College London Senior Lecturer	博士 (医学)	小野 昌弘

論 文 の 要 旨

T細胞受容体 (TCR) のシグナルは、T細胞の活性化と分化に関わる関連因子の転写を促す。FOXP3を発現している制御性T細胞 (Treg) は、末梢において抑制的機能を発揮するためにTCRのシグナルを必要とするが、それがどのようにTregの転写を制御しているのかは不明である。ほとんどの先行研究は、Tregの転写物の特徴をナイーブT細胞と比較して解析しているため、TregとメモリーT細胞 (Tmem) やエフェクターT細胞 (Teff) などの非ナイーブT細胞とTregの関係についてはほとんど理解されていない。本論文の著者は、独立に解析されたさまざまな遺伝子発現データに対し、正準対応分析 (canonical correspondence analysis, CCA) を適応することにより、Tregと他のT細胞サブセットとの関係に関する多変量解析を試みた。

本論文のINTRODUCTIONの章において、著者は、本研究に関連する免疫学の研究動向とデータ解析の手法についてレビューを行っている。まず、著者は、獲得免疫の進化について動物の系統進化史に即して議論し、TCRとMHCの進化に関する最新の知見をまとめ、T細胞が関与する細胞性免疫と免疫寛容の概要について説明した。次に、本研究の主な解析対象であるTregに関する最新の分子細胞生物学的解析の成果を紹介した。とくに、Tregが関与するT細胞制御における“Lineage model” (古典モデル) と“Feedback control model” (新モデル) を対照させ議論した。最後に、著者は、本研究の解析に用いられるCCAの方法論について、CA

(correspondence analysis) およびPCA (principal component analysis) との関連性に触れ、生物学におけるこれらの多変量解析手法の適用例について、個体群生態学における例を引用して紹介

し、遺伝子発現データへの適用例についても紹介した。さらに、CCAの方法論の数学的側面とグラフィカル表現について、数式や概念図を用いて概説した。

MATERIALS AND METHODSの章において、著者は、本研究で行った、従来のCCAの適用によるデータの解析と、SC4A (single-cell combinatorial CCA) の適用による単一細胞レベルのデータの解析のそれぞれについて、方法論の概略、説明変数の選択、データプロセッシングなどについて述べている。

RESULTSの章において、著者は、各データ解析の成果について詳細に述べている。まず、T細胞の活性化のレベルをTregと他のCD4+ T細胞集団で比較するために、CCA解析を行った。その結果、著者は、TregがTmemやTeffとほぼ同様の活性化状態にあることを明らかにし、TregをFOXP3が発現しているT細胞と定義するのが妥当と考えた。次に、著者は、活性化と分化の過程がTregと他のT細胞とでどのように異なるのかを明らかにするために、メラノーマ組織を構成する細胞群の単一細胞レベルの遺伝子発現データを、CCAを用いて解析した。その結果、FOXP3を発現しているTreg (FOXP3+ Treg) がさまざまな活性化状態にあることを示し、活性化型か休止期型かの別とFOXP3の発現の有無 (Tregか否か) により4つの細胞集団が存在することを明らかにした。また、SC4Aによりこれら4つの細胞集団の識別に関連する遺伝子として、PDCD1, FOXP3, CTLA4, CCR7を同定し、CTLA4がTregか否かを問わず全ての活性化T細胞で発現上昇していることを示した。また、初期のT細胞でIL-2の発現が誘導されること、IL-2Rが活性化とTregへの分化の過程で発現上昇することを示した。

以上の結果をもとにDISCUSSIONの章において、著者は、CTLA4の発現上昇に伴ってT細胞の活性化の程度が増大し、活性化Teffと活性化Tregへと分岐すると考えられること、CTLA4はかつていわれていたようにTreg特異的なマーカーではなく、活性化T細胞のマーカーであると考えられること、T細胞の活性化とともにIL-2が多量に放出されると、Treg細胞表層のIL-2Rに捉えられてFOXP3が発現上昇し、TregがT細胞の活性化を負に制御すると考えられること、などの点に関して考察を行った。

審 査 の 要 旨

本論文において著者は、IL-2 シグナル、FOXP3、および CTLA4 の動的な発現制御が T 細胞の抗原認識において負の制御機構を担っているとのモデルを提示した。これは、「Treg は免疫抑制に特化した明確で安定な細胞系譜で FOXP3 を恒常的に発現している」とする古典モデルを覆し、“Feedback control model” を明確に支持する成果であり、T 細胞の活性化と分化に関連する研究分野において大きな意義をもつ。著者が、既存の膨大なデータに対し洗練された多変量統計学の手法を適用して丁寧で厳密なデータ解析を行い、有意義な結論を導き出した点は高く評価できる。また、本解析は、単一細胞レベルの遺伝子発現データに多変量解析を適用した新しい試みでもあり、今後の当該分野のデータ解析の規範とされるべき重要なものといえる。

平成31年1月9日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。