T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	CLIP-170は細胞接着面におけるダイニン配置を制御することにより T細胞活性化における中心体の細胞接着面近傍への移動に必須の役割を果たしている
Title(English)	CLIP-170 is essential for MTOC repositioning during T cell activation by regulating dynein localisation on the cell surface
著者(和文)	LimWei Ming
Author(English)	Wei Ming Lim
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11101号, 授与年月日:2019年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:德永 万喜洋,粂 昭苑,山口 雄輝,川上 厚志,立花 和則
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11101号, Conferred date:2019/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

別　紙　1（論文博士）

論文審査の要旨及び審査員

（2000字程度）

報告番号	乙 第　　号	学位申請者	Lim Wei Ming	
論文審査員	氏　　名	職　名	氏　　名	職　名
	主査　徳永　万喜洋	教授	立花 和則	准教授
	粂 昭苑	教授		
	山口 雄輝	教授		
	川上 厚志	准教授		

本論文は英文で書かれ、「CLIP-170 is essential for MTOC repositioning during T cell activation by regulating dynein localization on the cell surface（CLIP-170は細胞接着面におけるダイニン配置を制御することによりT細胞活性化における中心体の細胞接着面近傍への移動に必須の役割を果たしている）」と題し、４章から構成されている。

第１章「General Introduction」では、獲得免疫システムの司令塔として働くリンパ球T細胞の活性化には、抗原提示細胞との接着面の細胞表面近くに、T細胞の中心体（微小管形成中心）が引き寄せられることが必須であると説明している。中心体移動により、免疫を司るサイトカインと呼ばれる種々のタンパク質を分泌する等の免疫応答がもたらされるが、中心体移動の機構は未解明であると述べている。また、微小管プラス端集積因子タンパク質CLIP-170が、モーター分子ダイニン等を微小管プラス端側（細胞膜側）に運ぶ作用について概説し、本研究の目的と意義について述べている。

第２章「CLIP-170 regulates MTOC repositioning and T cell activation」では、CLIP-170に注目している。CLIP-170ノックダウン細胞ではサイトカイン産生が抑制されることから、T細胞活性化にCLIP-170が必須であることを示している。中心体移動には、細胞膜に平行な方向と垂直な方向との２方向があり、CLIP-170ノックダウンは平行方向の移動のみを阻害することを示している。AMP活性化プロテインキナーゼ（AMPK）阻害剤が、CLIP-170ノックダウンと同様の効果を示し、AMPKによるCLIP-170リン酸化が中心体移動に必要であると結論している。さらに、リン酸化阻害変異体CLIP-170 S312Aは、中心体移動とT細胞活性化の双方を阻害すること、リン酸化模倣変異体CLIP-170 S312Dは、AMKP阻害剤の効果を打ち消すことを明らかにしている。これらから、CLIP-170の312番目セリンのAMPKによるリン酸化が、中心体移動に必要不可欠であることを見いだしている。

第３章「CLIP-170 up-regulates the microtubule plus-end and dynein dynamics」では、まず、CLIP-170のセリン312のリン酸化が、微小管プラス端の伸長速度等の動的特性を制御していることを示している。次に、2色同時蛍光分子イメージングを用いて、中心体移動にはT細胞刺激とCLIP-170リン酸化の双方が必須であることを示している。免疫刺激T細胞においては、ダイニンとCLIP-170とが共に細胞接着面の中心領域に集まること、ダイニンクラスターにはマイナス端（中心部方向）へ運動するものと、CLIP-170クラスターと共局在してプラス端方向へ移動するものの両方があることを示している。免疫刺激しないと、ダイニンは中心領域に集まらず、マイナス端方向へ運動するダイニンクラスターが減少し、CLIP-170と共局在してプラス端方向へ移動するダイニンクラスターがほとんど見られないこと、中心体移動が起こらないことを示している。リン酸化阻害変異体CLIP-170 S312Aを発現したT細胞を免疫刺激すると、ダイニンは中心領域に集まらず、マイナス端方向へ運動するダイニンクラスターが細胞中心領域で大きく減少していること、CLIP-170と共局在しプラス端方向へ動くダイニンクラスターが全く見られないこと、中心体は細胞膜近傍へ垂直方向には移動するが、平行方向の移動は阻害され周辺領域に留まることを見出している。

第４章「Conclusion」では、以上の結果をまとめるとともに、微小管のマイナス端方向とプラス端方向の両方向へのダイニン移動が共存することが重要で、ダイニンが細胞接着面の中央領域すなわち免疫シナプスに集まり、中心体が細胞接着面の中心近傍に移動し、T細胞が活性化されると結論づけている。

また、T細胞内におけるダイニンのマイナス端方向への速さが中心体の移動速度と良く一致していることから、細胞膜に固定されている活性化ダイニンが微小管を引き寄せ、その結果、中心体を移動させているという分子機構を提示している。

これを要するに、本論文は、微小管プラス端集積因子CLIP-170が、ダイニンの細胞内配置を変化させて、中心体移動とT細胞活性化を制御していることを明らかにし、さらにその機能の解明に重要な知見を与えており、工学上貢献するところが大きい。よって本論文は博士（工学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。