

# 利用成果報告書

- 1 課題番号 H26-007
- 2 報告者 永井 重徳 国立大学法人東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子免疫学分野
- 3 利用区分 成果公開有償利用
- 4 利用課題名 T細胞分化・機能におけるシグナル伝達経路の解明
- 5 使用装置名 ルミノイメージアナライザー LAS4010(GEヘルスケア社製)
- 6 利用期間 平成 26年 7月 22日 ~ 平成 27年 3月 31日

- 7 利用成果・実績の概要
- 免疫細胞の中でもヘルパーT (Th) 細胞は、ナイーブ(抗原未感作)なTh細胞から様々なThサブセットへと分化することができ、それぞれのサブセットは生体内で異なる免疫機能を発揮するため、これらサブセットの分化機構を明らかにすることは、免疫疾患の治療に重要である。申請者らはこれまでに、ヘルパーT (Th) 細胞サブセットの一つでありIL-17を主に産生し、炎症性疾患や自己免疫疾患に関わるTh17細胞分化において、PI3K-Akt-mTORC1経路が分化を正に制御していることを明らかにしている。そこで、Th17細胞以外のヘルパーT細胞サブセットについてもこの経路が関与する可能性があるため、申請者らは制御性サブセットについても同様に検討することとした。そこでまず、野生型マウスの脾臓からナイーブTh細胞を単離し、in vitroにおいて、このシグナル経路を阻害する薬剤を加えた場合と加えない場合の二通りで分化させた。両者の分化の割合をフローサイトメーターを用いて確認したところ、阻害剤添加の有無でその割合に変化が見られた。そこでこれらの細胞からライセートを調製し、このシグナル経路に関与する分子に対する抗体、およびこれら分子のリン酸化を検出する抗体でウェスタンブロットを行い、このシグナル経路が分化にどのように関わっているかを明らかにすることによって、この経路の重要性を証明したいと考えている。このウェスタンブロットにおけるシグナルの検出に、ルミノイメージアナライザー LAS4010を使用しており、今年度は抗体濃度や抗体反応時間など、抗体反応の至適条件の検討を行った。これらの検討結果は、今後行うウェスタンブロットによるシグナル分子の詳細な解析に、大いに役立つと考えられる。
- 8 社会・経済への波及効果 制御性Th細胞は過剰な免疫応答の抑制に関わる細胞であるため、この細胞の分化の制御機構を明らかにすることは、新規抑制方法の確立につながると思われる。

## 9 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果(発表題目、口頭・ポスター発表の別)	発表者氏名	発表した場所(学会等名)	発表した時期	国内・外の別
Phosphorylation of Akt and Foxos induced by TGF- $\beta$ negatively controls the differentiation of Induced Regulatory T Cells. (ポスター)	Shigenori Nagai, Yutaka Kurebayashi, Yukiko Baba, Akiko Minowa, Miyuki Azuma, Akihiko Yoshimura, Shigeo Koyasu.	Vancouver, Canada.(PI 3-Kinase Signaling Pathways in Disease (Keystone Symposium))	2015 Jan	国外
Phosphorylation of Akt and Foxos induced by TGF- $\beta$ negatively controls the differentiation of Induced Regulatory T Cells. (口頭発表)	Shigenori Nagai, Yutaka Kurebayashi, Miyuki Azuma, Akihiro Yoshimura, Shigeo Koyasu.	京都(第43回日本免疫学会総会・学術集会)	2014 Dec	国内
TGF- $\beta$ によるAktおよびFoxoのリン酸化はiTreg分化を負に制御する。(ポスター)	永井重徳, 紅林泰, 東みゆき, 吉村昭彦, 小安重夫.	横浜(第37回日本分子生物学会年会)	2014 Nov	国内

## 10 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会誌・雑誌等名)	発表した時期	国内・外の別
A novel model of soft-tissue infection using bioluminescence imaging allows noninvasive, real-time monitoring of bacterial growth.	Yoshioka K, *Ishii K, Kuramoto T, Nagai S, Funao H, Ishihama H, Shiono Y, Sasaki A, Aizawa M, Okada Y, Koyasu S, Toyama Y, Matsumoto M.	<i>PLoS One</i> .	2014 Sep	国外