

論文名 : RASAL3, a novel hematopoietic RasGAP protein, regulates the number and functions of NKT cells

(RASAL3 は血球系細胞に特異的に発現する新規の RasGAP であり、NKT 細胞の数と機能を制御する)

新潟大学大学院医歯学総合研究科

氏名 齋藤 卓

---

Ras 蛋白は発生、細胞増殖、細胞分化および活性化に関するシグナル伝達分子である。Ras 蛋白は活性化型 (Ras-GTP) から不活性化型 (Ras-GDP) に瞬時に変換され、シグナル伝達における分子スイッチとして機能する。細胞外からのシグナルに応答し、Ras-GDP はグアニンヌクレオチド交換因子により Ras-GTP へ変換され、シグナルを下流へ伝える。その後、Ras-GTP は RasGAP (Ras GTPase activating protein) によって、Ras-GDP に変換される。従って、RasGAP による Ras 機能の抑制的制御は組織および個体の恒常性の維持において重要であり、Ras 経路の過剰な活性化は細胞の分化異常あるいは過剰増殖をもたらす、癌を含む様々な病態に関与する。これまでに 14 個の RasGAP が同定されているが、血球系細胞において特異的に機能する RasGAP は同定されていない。

我々は、血球系特異的に発現する新規の RasGAP として RASAL3 を同定した。そして、RASAL3 のノックアウトマウスを作製し、生体内における RASAL3 の機能について明らかにした。

マウスにおいて RASAL3 mRNA はリンパ系器官である胸腺、脾臓および血液において特異的に高発現を示した。マウスの脾臓と肝臓から精製した T 細胞および NKT 細胞においても RASAL3 mRNA は高発現していた。また、13 種類のヒトリンパ球系細胞株は全て RASAL3 蛋白を発現していた。

ヒト B 細胞株 Raji を用いて RASAL3 のノックダウン細胞を作製した。RASAL3 ノックダウン細胞は野生型細胞よりも Ras-GTP の量が増加しており、RASAL3 はヒトの B 細胞株において RasGAP 活性を有することが示された。

RASAL3-KO マウスの血球系細胞数をフローサイトメトリーにより解析したところ、3 種類の血球系細胞で異常が観察された。それらは、肝臓特異的な NKT 細胞の減少、肝臓の B 細胞の増加および骨髄の顆粒球の増加だった。これらの中で最も顕著だったのは、NKT 細胞の減少であった。肝臓特異的な NKT 細胞数の減少機構を解明することを目的として、胸腺での NKT 細胞の分化を、NKT の分化マーカーである CD44 と NK1.1 を用いて調べたが、RASAL3-KO マウスに顕著な異常は観察されなかった。また、胸腺から肝臓への NKT 細胞の移行に関与する CXCR6 と LFA-1 の発現にも RASAL3-KO と野生型マウスとの間には違いは観察されなかった。

$\alpha$ -GalCer は NKT 細胞の T 細胞受容体を特異的に活性化し、サイトカイン産生を誘導す

## 【別紙 2】

る。RASAL3-KO マウスに  $\alpha$ -GalCer を投与したところ、NKT 細胞より産生されるサイトカイン (IL-4, IFN- $\gamma$ ) 量が血清中および肝臓の NKT 細胞中で低下していた。更に、RASAL3-KO マウスでは、NKT 細胞依存性に  $\alpha$ -GalCer によって誘導される急性の肝障害が軽減した。

RASAL3-KO マウスの肝臓から調製した NKT 細胞を  $\alpha$ -GalCer により活性化したところ、リン酸化 Erk の発現量が野生型 NKT 細胞よりも増加していた。Erk のリン酸化は Ras の活性化により誘導されることから、RASAL3 欠損 NKT 細胞では Ras 経路の活性化が亢進することが示された。

RASAL3-KO マウスの解析から、RASAL3 が肝臓の NKT の細胞数の維持と機能において重要な役割を果たすことが明らかになった。RASAL3 ノックアウトマウスにおいては、 $\alpha$ -GalCer 投与によって発症する急性の肝障害が軽減した。この肝障害は NKT 細胞に依存することから、NKT 細胞数の低下と機能不全が発症の軽減に関与することが示唆された。本研究では、RASAL3 が NKT 細胞の機能において重要な役割を果たすことを明らかにしたが、RASAL3 は NKT 細胞以外の血球系細胞にも発現することから、RASAL3 は NKT 細胞以外の血球系細胞においても重要な機能を有する可能性を持つ。