

氏名	かな ぎわ のぶ お 雄 金 澤 伸 雄
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2252 号
学位授与の日付	平 成 12 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Fractalkine and macrophage-derived chemokine: T cell attracting chemokines expressed in T cell area dendritic cells (T 細胞領域樹状細胞に発現し T 細胞に対して遊走能を持つケモカイン, フラクタルカインとマクロファージ由来ケモカインに関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 西川伸一 教授 湊 長博 教授 宮地良樹

論 文 内 容 の 要 旨

樹状細胞 (DC) は抗原特異的 T 細胞を活性化する抗原提示細胞である。末梢に存在する未成熟 DC は抗原を取り込むと所属リンパ組織の T 細胞領域へ移動し成熟 DC となり, 抗原ペプチドを T 細胞に提示する。これまでに異なるファミリーに属する複数のケモカインが DC の移動に関与することが報告されていたが, さらに DC が CC (β) ケモカインを産生し T 細胞を引き寄せることが報告されつつあった。DC-CK 1 と ELC はナイーブ T 細胞を, 一方マクロファージ由来ケモカイン (MDC) は活性化 T 細胞を引き寄せることが明らかにされている。しかし抗原提示細胞である DC 自身が T 細胞を誘引する他のケモカイン, 特に他のファミリーに属するケモカインを産生する可能性を検討することは意義深いことであり, またさまざまな組織由来の DC についても検討を加える必要があった。

申請者は, DC が発現するサイトカインや増殖因子, それらの受容体の遺伝子を単離する目的で, これまでに SDF-1, TARC という新規のケモカインの単離に有効であったシグナルシークエンストラップ (SST) 法を用いて, マウス骨髄由来成熟樹状細胞から作成した cDNA ライブラリーのスクリーニングを行った。その結果, 多数の既知, 未知の遺伝子とともにフラクタルカイン (FKN), MDC という最近発見された新しいケモカインが単離された。ヒトの FKN と MDC の遺伝子は 16 番染色体上に連鎖していることが判明しているが, これらは各々 CX3C (δ) と CC ケモカインという異なるファミリーに属する。特に FKN は唯一の CX3C ケモカインであり, 通常のケモカインドメインのほかに膜貫通ドメインをもち接着分子としても働くユニークな分子である。FKN の発現は臓器非特異的であり特に発現の強い脳で主に研究され, 免疫系においては活性化血管内皮細胞株に発現することから血管外遊出に関して研究がすすめられていた。一方 MDC は胸腺とリンパ節に特異的に発現し, すでにマクロファージや樹状細胞での発現が報告されていた。この報告は樹状細胞での FKN の発現を最初に示したものである。

申請者はノーザンハイブリダイゼーション法にて FKN, MDC とともに骨髄から培養した DC の成熟に伴い発現が増加すること, また RT-PCR 法にてともに脾臓, 皮感から培養した CD 86 高発現成熟 DC に発現することを示した。また 293 T 細胞を用いた真核細胞発現系にてこれらケモカインの蛋白質を培養上清中に確認し, 細胞内領域を含む全長 FKN を遺伝子導入した場合に細胞外領域のみの場合と同じ 80 kDa の大分子量の可溶性蛋白質が出現することを示した。これは FKN が膜貫通部直上で切断されるという仮説を支持するものである。これらの培養上清を用いた細胞遊走実験により, この可溶性 FKN が FKN のケモカインドメインのみと同等, また MDC よりはやや弱くマウス T 細胞株の EL 4 と ConA 刺激マウス脾細胞に対して遊走能をもち, いずれの場合も CD 4, CD 8 陽性細胞とも遊走することを明らかにした。さらに FACS で分離したリンパ節細胞の中ではともに樹状細胞を含む CD 11c 陽性 B 220 陰性細胞画分に特異的に発現し, in situ ハイブリダイゼーション法によりその本態が T 細胞領域指状嵌入細胞であることを明らかにした。以上のことから CC ケモカインの MDC,

CX3CケモカインのFKNともに培養樹状細胞のみならずT細胞領域樹状細胞に恒常的に産生され、免疫応答において活性化T細胞を成熟樹状細胞へ引き寄せる役割を持つことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者は、抗原特異的T細胞を活性化する抗原提示細胞である樹状細胞(DC)が発現するサイトカインや増殖因子、それらの受容体の遺伝子を単離する目的で、シグナルシーケンストラップ法を用いて、マウス骨髄由来成熟DCから作成したcDNAライブラリーのスクリーニングを行い、フラクタルカイン(FKN)、マクロファージ由来ケモカイン(MDC)という最近発見された新しいケモカインを単離した。特にFKNは唯一のCX3Cケモカインで、ケモカインドメインのほかに膜貫通部をもち接着分子としても働くユニークな分子であり、この報告はDCでのFKNの発現を最初に示したものである。申請者はFKN、MDCともに骨髄から培養したDCの成熟に伴い発現が増加し、脾臓、皮膚から培養したCD86高発現成熟DCに発現することを示した。また細胞遊走実験により、膜貫通部直上で切断されたと考えられる可溶性FKNがFKNのケモカインドメインのみと同等、またMDCよりやや弱くマウスT細胞株のEL4とConA刺激マウス脾細胞に対して遊走能をもち、いずれの場合もCD4、CD8陽性細胞とも遊走することを明らかにした。さらにリンパ節の中ではDCを含むCD11c陽性B220陰性細胞画分に特異的に発現し、その本態がT細胞領域指状嵌入細胞であることを明らかにした。

以上の研究は二次リンパ組織T細胞領域での樹状細胞とT細胞の相互作用の解明に貢献し、免疫系の恒常性維持機構の解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年3月7日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。