

氏名	はら 原	たか 崇	ひろ 裕
学位(専攻分野)	博士(生命科学)		
学位記番号	生博第78号		
学位授与の日付	平成18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	生命科学研究所高次生命科学専攻		
学位論文題目	リンパ節細網線維芽細胞による傍皮質内T細胞の動態制御		

論文調査委員 (主査) 教授 清水 章 教授 稲葉 カヨ 教授 佐邊 嘉孝

論文内容の要旨

リンパ節内では種々の免疫細胞が整然と配置され、それぞれに固有の存在領域が合理的に形成されている。この組織内区画化によって、一連の免疫応答が円滑に行われると考えられる。特に傍皮質領域は、体内を循環する免疫細胞がリンパ節に移入し、T細胞と樹状細胞が相互作用する場所として知られている。この領域の立体構造は間葉系ストローマ細胞の一種である細網線維芽細胞(FRC)が支えており、これらは免疫細胞の「足場」となって移動や局在の決定に関与していると考えられる。しかしながら、傍皮質領域における免疫細胞の動態について詳細な解析がなされておらず、FRCとの関わりも未だ明らかではない。

そこで本論文ではマウスリンパ節からFRC様間葉系細胞株BLS4を樹立し、リンパ節におけるFRCの機能解析を行った。

BLS4をTNF α で刺激すると、培養上清は顕著な細胞遊走活性を示す。RT-PCR法による解析から、BLS4は炎症性サイトカイン刺激で細胞膜結合型ケモカインCXCL16を発現することが明らかになった。TNF α によるCXCL16発現誘導は、NF κ B、p38 MAPKおよびPKAに依存していることが判明した。また、活性化CD8陽性T細胞はIL-12の刺激によって、受容体CXCR6の発現が増強した。この細胞は、TNF α で刺激したBLS4培養上清に顕著な遊走能を示し、可溶性CXCL16の活性が部分的に寄与していた。

さらに単層BLS4との共培養から、膜型CXCL16はVCAM-1と協調して接着を媒介することが明らかになった。マウスリンパ節切片および単離したFRCの染色から、FRCがCXCL16を発現していることを確認した。以上のことからFRCはCXCL16を介して免疫細胞を適切な場所に誘引、保持する役割を担っていることが示唆された。

またBLS4において、Th1環境型(IFF γ およびTNF α)の刺激ではCXCL9、CXCL10などのTh1遊走因子の発現が進み、Th2環境型(IL-4およびTNF α)刺激ではTh2遊走因子であるCCL11、CCL17の発現が誘導されることが判明した。従って、傍皮質内のTh1およびTh2の存在領域の決定にも寄与している可能性も示唆される。

論文審査の結果の要旨

リンパ節内では種々の免疫細胞が整然と配置され、それぞれに固有の存在領域が合理的に形成されている。この組織内区画化によって、一連の免疫応答が円滑に行われると考えられる。特に傍皮質領域は、体内を循環する免疫細胞がリンパ節に移入し、T細胞と樹状細胞が相互作用する場所として知られている。この領域の立体構造は間葉系ストローマ細胞の一種である細網線維芽細胞(FRC)が支えており、これらは免疫細胞の「足場」となって移動や局在の決定に関与しているのではないかと考えられている。しかしながら、傍皮質領域における免疫細胞の動態について詳細な解析がなされておらず、FRCとの関わりも未だ明らかにされていない。

本論文はマウスリンパ節からFRC様間葉系細胞株BLS4を樹立し、リンパ節におけるFRCの機能解析を行ったもので

ある。

BLS4 を $\text{TNF}\alpha$ で刺激すると、培養上清は顕著な細胞遊走活性を示した。RT-PCR 法による解析から、BLS4 は炎症性サイトカイン刺激で細胞膜結合型ケモカイン CXCL16 を発現することが明らかにされた。 $\text{TNF}\alpha$ による CXCL16 発現誘導は、 $\text{NF}\kappa\text{B}$ 、p38 MAPK および PKA に依存していることが判明した。また、活性化 CD8 陽性 T 細胞は IL-12 の刺激によって、受容体 CXCR6 の発現が増強した。この細胞は、 $\text{TNF}\alpha$ で刺激した BLS4 培養上清に顕著な遊走能を示し、可溶性 CXCL16 の活性が部分的に寄与していた。

さらに単層 BLS4 との共培養から、膜型 CXCL16 は VCAM-1 と協調して接着を媒介することを明らかにした。マウスリンパ節切片および単離した FRC の染色から、FRC が CXCL16 を発現していることが確認された。以上のことから FRC は CXCL16 を介して免疫細胞を適切な場所に誘引、保持する役割を担っていることが示唆された。

また BLS4 において、Th1 環境型 ($\text{IFN}\gamma$ および $\text{TNF}\alpha$) の刺激では CXCL9、CXCL10 などの Th1 遊走因子の発現が亢進し、Th2 環境型刺激 (IL-4 および $\text{TNF}\alpha$) では Th2 遊走因子である CCL11、CCL17 の発現が誘導されることが判明した。従って、傍皮質内の Th1 および Th2 の存在領域の決定にも FRC が寄与している可能性も示唆される。

以上の結果は、リンパ節細網繊維芽細胞によって傍皮質内 T 細胞の動態が制御されている可能性を明らかにしたものであり、細胞生物学、免疫学の発展に大きく寄与するものであると考える。従って本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

なお本学位申請者は、平成18年1月24日に実施された論文内容とそれに関連した口頭試問を受け合格と認められた。