

氏名	いよだとも のり 伊 豫 田 智 典
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 2555 号
学位授与の日付	平 成 14 年 5 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	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	生体内樹状細胞の性状と機能の解析

論文調査委員 (主査) 教授 稲葉カヨ 教授 西田利貞 教授 米井脩治

### 論 文 内 容 の 要 旨

未感作の T 細胞を活性化できる強力な抗原提示細胞機能を有する樹状細胞 (DC) は、獲得免疫応答の誘導に必須の細胞として知られる。DC は末梢組織に未成熟な状態で存在し、病原体をはじめとする異物の侵襲に対して、それらを捕食し所属リンパ節へと移動を開始する。それと同時に、炎症性応答に伴う成熟刺激を受けて取り込んだ抗原を消化分解して主要組織適合性抗原に結合して細胞表面へと提示し、T 細胞活性化に必要な種々の細胞接着分子や共刺激分子の発現を増強する。リンパ節へ移動してきた DC は主に T 細胞領域に分布し、そこで抗原を提示することで特異的 T 細胞を活性化する。これまでの研究により、生体内に分布する DC には表現型で分けられるサブセットが存在することが明らかとなってきた。本論文において申請者は、CD8 $\alpha$ 、CD11b、CD205 の発現強度の違いにより分類可能なマウス DC サブセットの性状と機能について検討している。

第一部では、消化器官や脾臓などからの多量の血液が絶えず流入することが知られる肝臓を取り上げ、そこに存在する DC を CD11c 陽性細胞として調製し、表現型と機能ならびにそのターンオーバーを脾臓 DC と比較することにより検討している。その結果、脾臓に分布する CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>CD205<sup>+</sup> と CD8 $\alpha$ <sup>-</sup>CD205<sup>-</sup> という 2 つのサブセットに対応する DC サブセットが肝臓においても存在することを明らかにした。しかし、肝 DC の CD8 $\alpha$  の発現強度のサブセット間での差が小さいため、CD11b の発現がサブセット同定の指標としてより適切であることを見いだしている。これをもとに、CD11b<sup>low</sup>CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> と CD11b<sup>high</sup>CD8 $\alpha$ <sup>-</sup> の 2 つの DC サブセットについて CD80、CD86、CD40、CD54 等の分子の発現と同時に、それらの形態、MHC クラス II 分子の発現、T 細胞活性化能を細胞調製直後と成熟刺激を与えた後のものについてそれぞれ比較検討している。その結果、調製直後の肝 DC サブセットにおいては、MHC クラス II 分子は主に細胞内に存在するが、成熟後細胞表面に発現されることを確認するとともに、成熟に伴い種々の共刺激分子の発現も増強することを示した。また、調製直後の肝 DC サブセットの T 細胞活性化能は脾 DC サブセットに比べて微弱であるが、成熟後には強力な T 細胞活性化能を獲得して差は認められないこと、また、*in vivo* におけるラテックス粒子の貪食能が脾 DC サブセットに比較して高いことを明らかにした。これらの結果から、肝 DC サブセットが対応する脾 DC サブセットに比べて未熟であると結論している。さらに、BrdU 投与により標識される DC を経時的に計測することにより、肝 DC 内には細胞分裂周期にある細胞が脾 DC に比べて多く存在することを示唆する結果を得ている。

第二部では、DC サブセット間の死細胞に対する捕捉活性の差を検討し、細胞由来抗原の提示能、いわゆるクロスプレゼンテーション能を比較した。その結果、可溶性タンパクやラテックス粒子に対しては両 DC サブセットが同程度の捕捉活性を示すことが *in vivo*、*invitro* の両実験系で確認されたにも拘わらず、生体に投与された異系、同系、腫瘍などのアポトーシス細胞は専ら脾 CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>DC によって捕捉されることを示している。また、異系生細胞を投与した場合は、生体内の NK 細胞により短時間の内に殺傷され、それらもまた CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>DC によってのみ貪食される。そして、このような貪食 DC は脾臓のみならず、肝や体表リンパ節にも存在することを明らかにした。また、この死細胞に対する CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>DC 特有な食

作用は *in vivo* だけでなく、*in vitro* においても認められる差異であることを確認している。さらに抗原の捕捉は、抗原提示機能に必須であることを示し、しかも死細胞由来の抗原は CD4<sup>+</sup>T 細胞だけでなく、CD8<sup>+</sup>T 細胞の活性化をも誘導することから、生体内において CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>DC は細胞に由来する抗原に対する免疫応答の誘導に重要な役割を持つと考察している。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、生体内樹状細胞 (DC) の性状と機能解析を行ったもので、2部から構成される。

第1部は、肝 DC が脾 DC と同様に大きく2つのサブセットにより構成され、それらは、ともに脾 DC に比べて成熟度が低く、しかも、骨髄前駆細胞に由来する肝 DC サブセットはどちらもその一部が細胞分裂周期にあることを示唆したものである。これまでの研究で、脾臓や気道 DC のターンオーバーは短く、絶えず幹細胞からの補給を受けて生体内での数が一定に保たれていることが示されていた。そして、本研究の結果は、肝 DC が脾 DC と比べてもさらに短い期間の内に置き換わっていることを示す新たな知見を与えるものである。肝臓における2つの DC サブセットの存在は既に米国のグループにより報告されてしまっているが、その論文では肝 DC の数が少ないために Flt-3L を投与して細胞数を増加させている。そのため、真に定常状態の DC の性状を反映したものであるかどうかは定かではない。それに比べ、本研究では、正常マウスを用いて細胞調製法を長年にわたる綿密な検討から確立した上で行った実験であることは大きく評価され、結果的には後れをとったことにはなるが、研究の価値を大きく損なうものではない。一方、実験方法の確立のための努力と忍耐は、研究者としての資質の一端として大きく評価される。

第2部では、移植拒絶応答や感染免疫応答の誘導や臓器特異的免疫寛容を考える上で大変重要な DC のクロスプレゼンテーション能を検討したものである。この研究の中で、タンパク抗原やラテックス粒子などに対する捕捉能には DC サブセット間での大きな差は認められないが、CD8<sup>+</sup>、CD11b<sup>low</sup> の表現型を有する DC のみが死細胞を捕捉することができることを明らかにしている。またさらに、移植抗原の提示と深く関わる異系生細胞のアポトーシス誘導には、生体内の NK 細胞が関与していることを明らかにしている。生体内の NK 細胞が異系細胞の殺傷に関与することにより DC によるクロスプレゼンテーションを引き起こすことは、これまで全く知られておらず、最初の報告として大きな評価が与えられるものである。

以上、論文の審査と申請者との論議の結果から、審査委員会は申請者が本専攻の学位審査基準を十分に満たしているものと判定し、合格と認めた。