

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	服部 祐季
論文題目	結核菌由来ミコール酸脂質グリセロールモノミコール酸に対する自然免疫応答の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>ミコール酸は、結核菌 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> に固有の長鎖分岐脂肪酸であり、細胞壁多糖層に共有結合する形でペプチドグリカンとともに細胞壁骨格を構築する。一方、細胞壁最表層には、ミコール酸含有脂質および糖脂質が遊離型として存在し、宿主免疫系との接点において多様な生物活性を示す。なかでも、トレハロースジミコール酸 (TDM) は培養結核菌において多量に発現するミコール酸含有糖脂質であり、強いアジュバント作用を有することから精力的に研究が進められてきた。TDMを認識する宿主受容体は長らく不明であったが、近年C型レクチン受容体の一種であるMacrophage inducible C-type lectin (Mincle) が主要な受容体として同定された。一方、グリセロールモノミコール酸 (GroMM) はグリセロール存在下で産生が誘導されるミコール酸含有脂質であり、感染の長期化に伴って結核菌が特異的に産生する脂質であることが示唆されている。しかしながら、標準的な人工培地ではほとんど発現しないことから、解析はこれまでほとんど進んでいなかった。そこで申請者は、GroMMの生物活性を検証し、その宿主受容体を同定する研究を展開した。</p> <p>GroMMは疎水性であるためリポソームと複合体を形成させ、それをモルモットの皮膚に接種したところ、好酸球浸潤を主体とした皮膚炎症を認めた。これはTDMに対する皮膚応答と類似するものであったことから、GroMMがMincleのリガンドとして機能する可能性を考えた。そこで、Mincleを発現するNFAT-GFPレポーター細胞を用い、GroMMの認識能について調べたところ、マウスMincleはGroMMを認識しないが、ヒトMincleはこれを認識できることが明らかとなった。実際、ヒト末梢血由来マクロファージはGroMMに応答してTNF-αを産生し、この応答は独自に作製した抗ヒトMincle抗体により阻害された。ヒトおよびマウスMincleの細胞外ドメインを相互に置換したキメラ分子の解析ならびに部位特異的変異導入の実験から、細胞外領域に存在するGroMMの認識に重要な二か所の短いアミノ酸配列を同定した。さらに、ヒトMincleトランスジェニックマウスの骨髄由来マクロファージはGroMMへの応答性を示したのに対し、野生型マウスのマクロファージは反応しなかったことから、MincleによるGroMMの認識には種差が存在することが実証された。また、このヒトMincleトランスジェニックマウスの皮膚にGroMMリポソームを接種すると、モルモットにおいて観察された応答と同様の好酸球浸潤が再現された。</p> <p>以上より、本研究はGroMMのヒト自然免疫受容体を同定するとともに、Mincleによる結核菌由来リガンドの認識には種差が存在することを初めて実証した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

結核菌細胞壁に発現するミコール酸含有脂質群は多様な生物活性を通して菌の病原性に深く関与しており、その分子機序の解明は結核病態の理解に不可欠である。申請者はこれまでほとんど解析がなされていなかったグリセロールモノミコール酸 (GroMM) に着目し、その機能を明らかにする研究を行った。

申請者はまず、GroMM包含リポソームを接種した非感作モルモット皮膚において、好酸球浸潤を主体とした組織炎症が誘起されることを見だし、GroMMを認識する宿主自然免疫受容体の存在を推測した。実際、C型レクチン受容体である Macrophage inducible C-type lectin (Mincle) を発現したレポーター細胞を用いて、GroMMがヒトMincleのリガンドとなることを示した。一方マウスMincleはGroMMを認識しないことを示し、ヒトおよびマウスMincleの細胞外ドメインを相互に置換したキメラ分子ならびに部位特異的変異導入分子の解析から、GroMMの認識に重要なアミノ酸配列を同定した。さらにヒトマクロファージのGroMMに対する応答が抗ヒトMincle抗体により阻害されること、またヒトMincleトランスジェニックマウスの骨髄由来マクロファージは、野生型マウスの骨髄由来マクロファージと異なり、GroMMへの応答性を獲得することを実証した。最後に、GroMMを接種したヒトMincleトランスジェニックマウス皮膚において、モルモットにおいて観察された組織応答と同様の好酸球性炎症が誘起されることを示した。したがって本研究は、GroMMがヒトMincleの新規リガンドとして機能することを3つの独立した手法、すなわちレポーターアッセイ、マクロファージを用いた *in vitro* の解析、およびトランスジェニックマウスを用いた *in vivo* の解析により明快に実証した。さらに本研究は、自然免疫受容体であるMincleがヒトとマウスにおいて異なるリガンド認識能を有することを示しており、両種間の免疫病態の違いを分子レベルで解明したものとして注目される。

以上、本論文はヒト自然免疫受容体の新規天然リガンドを同定し、その分子機構ならびに免疫学的意義を明らかにしたものであり、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見と概念を提示している。よって、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。また平成27年2月10日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日