

氏 名	お 尾 まつ よし き 松 芳 樹
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 53 号
学位授与の日付	平 成 17 年 11 月 24 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 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	マウス形質細胞様樹状細胞の性状と機能

論文調査委員 (主 査) 教 授 稲 葉 カ ヨ 教 授 米 原 伸 教 授 湊 長 博

論 文 内 容 の 要 旨

生体防御機構には自然免疫と適応免疫がある。後者は抗原特異的な T 細胞および B 細胞などのリンパ球応答であり、その成立には外来性ならびに内因性の抗原を提示する樹状細胞 (DC) が必須の役割を果たすことが知られている。この DC は非リンパ系器官を含め、生体内に広く分布し、抗原の捕捉・プロセッシング、所属リンパ器官への移動、リンパ球への抗原情報の提示を行うが、これまでの研究で表現型の異なる複数のサブセットにより構成されることも明らかである。一方、自然免疫に関与する細胞として、マクロファージ、好中球、NK 細胞、NKT 細胞が存在する。これらに加えて、ウイルス感染などに対して大量の I 型 IFN を産生する IFN-producing cell (IPC) が存在することが知られていたが、この細胞は形質細胞 (plasma cell) 様の形態をもち、活性化により DC 様に分化することから、形質細胞様 DC (plasmacytoid DC: PDC) と呼ばれ、従来から研究が進められてきた conventional DC と区別されている。

本研究では、新規 Ly49 分子である Ly49Q が Gr-1 (Ly6C/G) 陽性の骨髓系細胞 (マクロファージ、好中球) に加え、末梢リンパ系器官においては PDC に発現されるが、骨髓中の PDC における発現は一様でないことに注目し、骨髓 PDC の性状と機能を解析した。

PDC を CD11c^{low} B220⁺ Gr-1⁺ として、種々の器官について検討したところ、骨髓においてのみ Ly49Q の発現が認められない細胞が多数存在した。しかし、PDC 特異的 PDCA-1 抗体で染色したところ陽性であった。そこで、Ly49Q の発現を指標に MHC クラス II ならびに Ly6C の発現や CD4 と CD8 の発現を検討したところ、Ly49Q の発現上昇に伴って、これらの分子の発現も増大することが確認された。更に、精製した Ly49Q⁻ PDC は単に培養するだけで、時間と共に Ly49Q を発現するようになることを示した。また、BrdU 投与による細胞分裂の解析でも、Ly49Q⁻ PDC の標識率が高いことから、未熟な細胞であることを示唆している。さらに、TLR9 のリガンドである CpG-ODN や HVJ を用いて刺激すると、Ly49Q⁻ PDC と Ly49Q⁺ PDC は共に MHC クラス II や CD86 の発現を上昇させた。しかし、Ly49Q⁻ PDC は Ly49Q⁺ PDC に比べて TNF- α 産生には遜色はないが、IFN- α/β 、IL-6、IL-12 の産生は低下していることを明らかにした。また、TLR2 リガンド刺激に対しても Ly49Q⁺ PDC は TNF- α を産生したが、Ly49Q⁻ PDC の能力は低いことを示した。ところが、CpG-ODN で刺激した Ly49Q⁻ PDC は Ly49Q⁺ PDC に比べて、より強い CD4 T 細胞の増殖応答を誘導したが、その結果活性化された T 細胞は多量の IL-10 を産生することを明らかにした。

以上の研究から、Ly49Q は PDC の機能的成熟マーカーとして有用であることが明らかとなったことに加え、未成熟 PDC は適応免疫応答において制御作用を及ぼす可能性を示唆した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

plasmacytoid dendritic cell (PDC) はヒト扁桃の T 細胞領域に存在する形質細胞様 T 細胞あるいは形質細胞様単球として同定された CD11c⁻ 細胞である。その後の解析から、末梢血中にも存在し、ウイルス感染において TLR9、TLR7 を介す

る刺激を受けて多量の I 型 IFN (IFN- α/β) を産生し、樹状細胞 (DC) へと分化し、T 細胞活性化能を獲得することが明らかにされた。一方、マウスにおいては CD11c^{low} B220⁺ Gr-1⁺ 細胞として同定され、従来の CD11c^{high} B220⁻ Gr-1⁻ DC (conventional DC: cDC) とは区別される。cDC の分化成熟については、in vitro ならびに in vivo における精力的な解析が進められており、未成熟な末梢非リンパ系組織・器官に分布する細胞は食作用能をもち、抗原を捕捉して所属リンパ器官に移動して、抗原を提示することにより免疫応答ならびに寛容の誘導・維持に働いていることが明らかとなっている。ところが、PDC に関しては、その分化成熟に伴う機能的変化に関する情報は皆無であり、in vitro における分化誘導に関する研究でも、IFN 産生能が唯一の指標とされてきた。

申請者の研究は、新規 Ly49 ファミリー分子として同定された Ly49Q が末梢 PDC には一様に発現しているが、骨髄 PDC には陰性のものが存在することに注目して、その機能解析を行ったものである。

まず、従来の CD11c^{low} B220⁺ Gr-1⁺ 細胞としての同定と PDC 特異的抗体 (PDCA-1) を用いた解析により、骨髄 PDC の Ly49Q の発現が均一ではないことを確認した後、FACS による解析を行っている。その中で、Ly49Q の発現程度を指標に他のマーカーによる染色結果と合わせて、Ly49Q の発現上昇と共に Ly6C, MHC クラス II だけでなく、CD4, CD8 の発現上昇が認められることを明らかにした。更に、Ly49Q⁻ PDC は培養するだけで Ly49Q を発現すること、骨髄中では、細胞分裂をしている前駆細胞から Ly49Q⁻ PDC が出現することも示している。また、TLR9 を介する CpG-ODN 刺激により、MHC クラス II や CD86 を発現することを確認した。さらに、サイトカイン産生能や T 細胞活性化における機能的な差異の検討も行い、Ly49Q⁻ PDC は IFN- α/β , IL-6, IL-12p70 の産生能が Ly49Q⁺ PDC に比べて低いことを示した。これに加え、CpG-ODN で刺激された Ly49Q⁻ PDC は CD4 T 細胞の増殖応答誘導能が高いが、活性化された T 細胞は多量の IL-10 を産生する制御性 T 細胞へと分化していることも明らかにした。

以上の結果は、骨髄内での PDC の分化成熟に関する新たな知見を加えるものであり、自然免疫と適応免疫の両面における PDC の機能と役割を示した意味で、免疫学的に意味深いものである。したがって、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られる。

なお、本学位授与申請は平成17年10月12日に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。