

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	長岡 孝治
論文題目	C型レクチンSIGNR3の発現および樹状細胞の分化の解析		
(論文内容の要旨)			
C型レクチンは、微生物の糖鎖を認識することが知られており、ヒト樹状細胞に同定されたDC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin)はHIVのgp120を認識して取り込み、T細胞への感染を誘導することやナイーブT細胞に発現するICAM-3に結合して、その活性化を促すことで注目されている分子である。そのホモログとしてマウスには8種が同定されており、そのうちの一つのSIGNR1は腸管粘膜固有層のDCに加え、腹腔マクロファージの一部や周縁洞のマクロファージ、リンパ節髄質のマクロファージに発現され、マンノースを認識することにより種々の菌体を補足すると共に、サイトカイン産生や抗菌作用などの細胞応答に関与することが明らかである。しかし、SIGNR3については、ヒトDC-SIGNと糖鎖認識における特異性が酷似することが知られており、結核菌感染時に肺胞マクロファージや出現する巨核細胞に発現が誘導され、初期の自然免疫を介する生体防御において重要な役割を担うことが報告されたが、正常生体内における発現細胞は明らかにされていない。そのため、申請者は、 特異的monoclonal antibodyを作製して、発現細胞の同定を行った。 その結果、以下の結果を得た。まず、皮膚では真皮の樹状細胞およびマクロファージの一部、骨髄中や末梢血中の内Ly6C弱陽性の単球にSIGNR3が発現されていた。また、脾臓においては、SIGNR3陽性細胞は白脾髄、赤脾髄、周縁洞などに広く分布しており、CD11b陽性で樹状細胞のマーカーであるCD11cは弱陽性であった。肺においても同様の表現型を示すミエロイド系の細胞として同定された。一方、体表リンパ節では、濾胞間ならびに高内皮性小静脈周辺の細胞にSIGNR3の発現が認められた。しかし、腸間膜リンパ節においては濾胞間にはSIGNR3発現細胞は認められないことから、濾胞間の細胞は真皮樹状細胞に由来すると推測された。そこで、FITCを塗布して移動してきたSIGNR3を発現する真皮樹状細胞が所属リンパ節に移行してくることを確認した。また、高内皮性小静脈周辺の細胞については、骨髄中のLy6C陽性単球の移入実験を行い、経時的にSIGNR3の発現を各臓器で検討したところ、Ly6Cの発現低下に伴いSIGNR3の発現上昇が認められることをしめし、さらに体表リンパ節においては、高内皮性小静脈から組織内へ入った後に一過性にSIGNR3を発現し、その後にCD11c^{high}樹状細胞へと分化することを明らかにした。しかし、同様にLy6c^{high}単球が移行する腸間膜リンパ節では樹状細胞への分化はほとんど認められなかった。また肺や脾臓では、Ly6C^{high}とLy6C^{low}の両方の単球が流入するが、Ly6C^{high}単球の樹状細胞への分化は認められないことを明らかにした。 本研究において申請者は、SIGNR3が単球サブセット同定の新たなマーカーとなることを示すと同時に、樹状細胞への分化の過程で発現されることを明らかにした。これらの結果は、今後感染や炎症応答における単球系細胞の分化やその機能を解析していく上で貴重なマーカーとなることが期待される。			

(論文審査の結果の要旨)

生体内に分布する樹状細胞(DC)はその表現型から多様なサブセットから構成されることが知られる。例えば、末梢非リンパ系組織ではLy6C^{high}単球からCD103⁺ DCが、Ly6C^{low}単球からCD11b⁺ DCが分化するのに対して、リンパ系組織である脾臓では、血行性の前駆細胞からCD8⁺DCとCD8⁻(CD11b⁺)DCが分化してくることに加えてpDCが存在し、さらにリンパ節では末梢組織に由来するDCサブセットと血行性前駆細胞に由来するDCサブセットが存在する。これらDCサブセットの内、単球に由来するDCがリンパ組織にも存在するのかどうかは明らかではない。本研究は、樹状細胞やマクロファージ系細胞に発現されるC型レクチンの内、解析が進んでいるヒトDC-SIGNのホモログでとして同定されたSIGNRファミリーの内、有効な特異抗体が無く、蛋白レベルでの発現細胞の同定すらなされていないSIGNR3に着目して、特異的な単クローン抗体を樹立して、発現細胞の同定を試みたものである。

申請者は、RT-PCRでSIGNR3の発現臓器を検討すると共に、作製した単クローン抗体を用いてWestern blotや免疫組織学的ならびにflow cytometryによる解析を行った。その結果、SIGNR3が真皮や体表リンパ節の一部のDCやリンパ器官内のCD11b⁺単球様細胞に加えてLy6C^{low}単球に発現することに着目し、高内皮小静脈周辺のSIGNR3細胞がDCへの分化する可能性を血液単球ならびに骨髓Ly6C^{high}単球の移入実験を行い、Ly6C^{low}SIGNR3⁺単球に由来するのではなく、Ly6C^{high}単球が分化してLy6C^{low}となりSIGNR3を発現することを明らかにし、さらに体表リンパ節においてのみCD11b⁺ DCへと分化することを示した。

これらの結果は、体表リンパ節においては、common DC precursor以外にLy6C^{high}単球に由来するDCも存在することを明らかにした新規の知見であり、機能解析を進めることによりさらに意義深いものとなることが期待される。

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。なお、平成22年11月26日、論文内容とそれに関する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。

要旨公開可能日： 年 月 日