京都大学	博士（医科学）	氏　名	河　本　新　平
論文題目	Preferential Generation of Follicular B Helper T Cells from Foxp3$^+$ T Cells in Gut Peyer's Patches （腸管のパイエル板における Foxp3 陽性 T 細胞から濾胞性 B ヘルパーT 細胞への選択的分化）		

（論文内容の要旨）

腸管内には 100 兆個に及ぶ腸内細菌が存在し、宿主免疫系との間で密接な相互作用を保っている。宿主と腸内細菌との恒常性維持において重要な役割を果たしている腸管のIgA陽性B細胞は、主にパイエル板の胚中心においてT細胞依存的に産生されることが明らかとなっている。濾胞性Bヘルパー T細胞（以下、T_{FH}細胞）は、胚中心の形成に必須のT細胞サブセットであり、腸管IgAの産生に重要な役割を果たしている事が示唆されている。しかしながら、このT細胞が腸管に存在するT細胞のうちどの細胞から分化してくるのかについては不明である。本研究では、腸管IgA産生に重要な役割を果たすT細胞サブセットを同定することを目的として、遺伝的にT細胞を欠損したマウス（CD3ε欠損マウス）に、腸管免疫系に特徴的なFoxp3 陽性（Foxp3$^+$）の制御性T細胞やRORγt陽性（RORγt$^+$）のTh17 細胞を移入して、それぞれのT細胞の胚中心及びIgA産生の誘導能を比較した。

T細胞欠損マウスのパイエル板では、T細胞からのヘルプを受けられないため、胚中心は形成されない。そこで、このマウスにFoxp3-GFP レポーターマウス及びRORγt-GFP レポーターマウスより単離したFoxp3$^+$ T 細胞やRORγt$^+$ T細胞を移入した。その結果、RORγt$^+$ T細胞やFoxp3$^-$ T細胞、分画していないCD4$^+$ T細胞と比較して、免疫応答に抑制的に働くと考えられてきたFoxp3$^+$ T細胞を投与したマウスのパイエル板で胚中心が非常に効率よく形成された。免疫組織化学染色を用いてFoxp3$^+$ T細胞を移入したマウスのパイエル板を詳細に観察したところ、多くのT細胞が胚中心内部に存在する一方で、これらのT細胞ではFoxp3の発現が消失していることが明らかとなった。Foxp3 の発現を消失したT細胞は、濾胞内部に局在するのみならず、T_{FH}細胞と同一の表面マーカー（CXCR5$^+$、CD40L$^+$、PD-1^{hi}）を発現し、さらにT_{FH}細胞と同様の遺伝子発現を示したことから、T_{FH}細胞へと分化していることが示された。

この現象がB細胞に依存した現象であるのか検討するため、末梢のT細胞及びB細胞を欠くRAG欠損マウスにFoxp3$^+$ T細胞を移入したところ、Foxp3 発現の消失は確認されたもののT_{FH}細胞への分化は認められなかった。また、Foxp3$^+$T細胞を移入したマウスに、CD40L中和抗体を投与したところ、T_{FH}細胞の分化は認められなかった。以上の結果より、パイエル板においてはCD40-CD40Lを介したB細胞との相互作用によりFoxp3$^+$ T細胞がT_{FH}細胞に分化し、胚中心の誘導及びIgA産生に関与していることが示された。

最後に、Foxp3$^+$ T細胞からT_{FH}細胞への分化転換が、腸管特異的な現象であるのかどうかを明らかにするため、脾臓における胚中心の形成の有無を検討した。Foxp3$^+$ T細胞を移入したマウスにおいては、羊赤血球を用いて免疫をしても脾臓における胚中心の形成は認められなかった。一方、Foxp3$^-$ T細胞を移入したマウスにおいてはパイエル板に胚中心の形成が確認されなかったにも関わらず、羊赤血球を用いた免疫により脾臓に胚中心が形成された。このことから、Foxp3$^+$ T細胞がT_{FH}細胞に分化し胚中心を誘導するという現象は腸管特異的な現象であることが示された。

以上の結果から、Foxp3$^+$ T細胞からT_{FH}細胞への分化は、Foxp3 発現の消失に引き続いて進み、その過程においてB細胞を介した相互作用と腸管特異的な環境が必要であることが明らかとなった。これらの知見は、制御性T細胞が可塑性をもつ事を明らかにするとともに、腸管恒常性維持においてこれまで認識されていなかった機能をもつ事を示唆しており、粘膜ワクチンや炎症性腸疾患の新規治療法の開発につながる事が期待される。

（論文審査の結果の要旨）

腸管内の恒常性維持に重要であるIgAは、主にパイエル板の胚中心においてT細胞依存的に誘導される。近年同定された濾胞性Bヘルパー T細胞（T_{FH}）は、胚中心の形成に必須のT細胞サブセットであり、IgAの産生に重要な役割を果たしていることが示唆されている。しかしながら、このT細胞が腸管に存在するT細胞のうちどの細胞から分化してくるのかについては不明である。

本研究は、腸管に存在するT細胞サブセットのうちFoxp3 陽性（Foxp3$^+$）の制御性T細胞に注目し、T細胞欠損マウスに移入する系を用いて、このT細胞の胚中心及びIgA産生の誘導能を検討した。その結果、免疫応答に抑制的に働くと考えられてきたFoxp3$^+$ T細胞が、T_{FH}細胞に分化することで胚中心及びIgAを誘導することを見いだした。この分化は、Foxp3 発現の消失に引き続いて進み、その過程においてCD40-CD40Lを介したB細胞との相互作用が重要であることが明らかとなった。また、Foxp3$^+$ T細胞を移入したマウスに羊赤血球を用いた免疫を行っても脾臓において胚中心が形成されなかったことから、この現象は腸管特異的な現象であることが示された。

以上の研究は、制御性 T 細胞のもつ可塑性を示すとともに、腸管恒常性維持における制御性 T 細胞の新たな機能の解明に貢献し、粘膜ワクチンや炎症性腸疾患の新規治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成２２年１２月２４日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降