

京都大学	博士	(医学)	氏 名	谷崎 英昭
論文題目	Rho-mDia1 pathway is required for adhesion, migration, and T cell stimulation in dendritic cells (Rho-mDia1 経路は、細胞接着・遊走・T 細胞への活性化に関与し、樹状細胞の免疫応答において重要な役割を担う)			
(論文内容の要旨)				
アクチンの重合化に関わることで細胞骨格の形成を制御し、細胞の遊走や分裂、癌化などに関わる因子として Rho ファミリーが知られている。そのエフェクター分子の 1 つである mDia1 について、近年 T 細胞の胸腺からの出動、リンパ節へのホーミングなどへの関与が報告され、同時に mDia1KO マウスの接触皮膚炎反応が抑制されることも示された。これは細胞骨格制御因子が皮膚免疫応答に関与する可能性を示唆している。しかしながら、細胞の食食・遊走・抗原提示などの根源的役割を司るアクチン制御機構の樹状細胞における役割は、これまで重要課題とされながら、全く明らかにされていなかった。 本研究では、抗原提示細胞として皮膚免疫応答に重要な役割を果たす樹状細胞に焦点を当て、接触皮膚炎反応をモデルとしながら mDia1 分子の機能を解明するとともに、二光子励起顕微鏡によるリアルタイムイメージング法を世界に先駆けて皮膚に応用し、細胞遊走のビデオモニタリングを可能とする新規システムなどを皮膚免疫研究の領域に導入した。 初めに、B6 マウス、mDia1 KO マウスの骨髓由来樹状細胞、皮膚樹状細胞、脾臓樹状細胞における mDia1 分子の発現について検討し、mDia 分子の 3 つあるサブタイプの中で、mDia1 が最も優位に発現していることを確認した。 次に、蛍光ハプテン捕捉後の皮膚樹状細胞の遊走について、mDia1 KO マウスで優位に低下することを、in vitro においても、CCL21 に対するケモタクシスにおいて皮膚基底膜を模した時などに遊走能が低下することを見出した。また、無刺激時、ケモカイン CCL21 誘導時において、mDia1 分子欠損時には細胞の伸展が不十分であり、細胞先端のフィロポディア形成に差があることを形態学的に確認した。更に、細胞周囲組織への接着能、樹状細胞-T 細胞間での接着時間に関して 2 光子顕微鏡を用いてリアルタイムに観察したところ、mDia1 分子欠損下では有意に低下が認められた。これらの結果より、mDia1 分子による形態制御が、接触皮膚炎反応形成における各段階で関与していると考えられた。 続いて、細胞-細胞間の接着時間による意義について検討した。骨髓由来樹状細胞と T 細胞との共培養下で細胞増殖能、IFNγ 産生能、樹状細胞の活性化について評価を行い、T 細胞刺激能においても mDia1 分子が重要な役割を果たすことを見出した。 細胞遊走、細胞接着、T 細胞刺激能に関して個々に mDia1 分子の関与が示されたことより、免疫応答の場である所属リンパ節内における T 細胞分化能に関して解析を行ったところ、CD4T 細胞、CD8T 細胞に対する分化能は、mDia1 KO マウスにおいて共に低下していることが示された。最後に骨髓由来樹状細胞を B6 マウス後ろ足に投与して感作を成立し、所属リンパ節において獲得免疫を生じさせ、前足において惹起するという接触皮膚炎反応で総合的に確認したところ、mDia1 KO マウス由来の骨髓由来樹状細胞を用いた群で接触皮膚炎反応が低下していることが示された。 要約しますと、細胞骨格制御分子 Rho ファミリーの 1 つである mDia1 が、皮膚樹状細胞の食食、遊走、接着、免疫シナプスの形成に必須の役割を果たすことを示し、その結果獲得免疫の形成にも重要な役割を果たすことが確認しました。さらに、本システムを障害させると接触皮膚炎反応の形成が成立しないことも見出しました。 本研究の成果は、皮膚免疫・アレルギー疾患の制御機構への応用に繋がりをのみならず、樹状				

細胞の細胞生物学、免疫学の進展にも寄与するものと考えられます。
(論文審査の結果の要旨)
本研究は、従来重要課題とされながら解明されていなかった、接触皮膚炎の発症機序において皮膚樹状細胞の根源的役割について解明を試みたものである。
皮膚は、個体の最外層部のバリアーの維持や、免疫器官として重要な臓器である。たえず変化する外的環境に対して、皮膚樹状細胞はダイナミックに遊走し、形態を変化させることによって外来抗原の食食、所属リンパ節への遊走、他の免疫担当細胞への抗原提示など多彩な免疫応答を担っている。
今回、接触皮膚炎反応の感作相をモデルとして、細胞骨格制御分子 Rho ファミリーの 1 つである mDia1 が、in vivo における蛍光ハプテン捕捉後の遊走能や in vitro における CCL21 に対するケモタクシス時の遊走能、細胞周囲組織への接着能、2 光子顕微鏡を用いてリアルタイムに細胞動態を観察することによって明らかとなった樹状細胞-T 細胞間での免疫シナプスの形成能や T 細胞刺激能に必須の役割を果たすことを示し、さらに、本システムを障害させると接触皮膚炎反応が減弱することを示した。
本研究の成果は、皮膚樹状細胞の細胞骨格制御分子を介した皮膚免疫・アレルギー疾患の更なる解明や制御機構への応用に繋がりうるのみならず、樹状細胞の細胞生物学、免疫学の進展にも寄与するものであると考えられた。
以上の研究は、接触皮膚炎反応感作相における皮膚樹状細胞の機能の解明に貢献し、今後の皮膚樹状細胞の更なる機能解析に寄与するところが多い。
したがって、本論文は博士（ 医学 ）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 23 年 2 月 9 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