

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	大植 隆 司
論文題目	Studies on the regulatory responses of mucosal immunity to the environmental changes in the gastrointestinal tract (消化管内環境の変動に伴う粘膜免疫系の制御性応答に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
消化管の第一の機能は、食餌に由来する栄養素の吸収である。一方、消化管は、栄養素の吸収と同時に、食餌や共生する腸内細菌および侵入する微生物に由来する多種多様な抗原に曝されている。そのため、消化管には、自己に対して無害な抗原と有害な抗原とを正確かつ迅速に識別し、適切に応答する生体防御系が具備されていなければならない。腸管関連リンパ組織と呼ばれる組織を中心に発達した生体防御系によって、前者には免疫寛容が、後者には正の免疫応答が誘導されることで、消化管における免疫恒常性が維持されている。しかし、抗原の種類と量に応じてどのように粘膜免疫系が制御されるかについては不明な点が多い。このような背景に基づいて、本研究は、消化管内の環境が大きく変動する二つの時期における熱ショックタンパク質 (Heat shock proteins: HSPs) の作用と、抗原提示の鍵細胞である樹状細胞 (Dendritic cells: DCs) の変動に着目し粘膜免疫系の制御性応答を明らかにすることを目的としたものである。その主な内容は以下のとおりである。			
1. 腸内細菌由来HSPsによるCD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ 制御性T細胞の産生誘導			
哺乳類の消化管内環境は、生後、二つの時期において大きく変化する。第一は出生直後であり、消化管内に腸内細菌が共生を開始する時期である。生物に普遍的に存在するHSPsが制御性免疫応答の形成に寄与するか否かについて検討した。まず、三種類の近交系 (BALB/c, C57BL/6, C3H/HeJ) と一種類のクローズド系 (ICR) の通常飼育マウスの腸管内容物を解析し、無菌マウスと比較したところ、消化管管腔内には腸内細菌由来のHSP60様物質とその分解物が存在することが示された。次に、大腸菌由来HSP60であるGroELでマウス脾細胞を刺激したところ、無菌マウス由来の脾細胞では細胞増殖が観察されたが、通常飼育マウス由来の脾細胞では観察されなかった。このことから、腸内細菌の存在がHSPsによる全身性の制御性応答に関与する可能性が示唆された。また、C57BL/6マウスの腸間膜リンパ節由来のナイーブT細胞と抗原提示細胞をGroEL存在下で培養したところ、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性T細胞が有意に産生誘導された。以上の結果から、消化管内に共生する腸内細菌由来のHSPsが制御性T細胞の産生誘導に重要な役割を果たすことを明らかにした。			
2. 離乳期において外来性抗原が誘導する小腸粘膜固有層の樹状細胞			
哺乳類の消化管内環境が大きく変化する第二の時期は、哺乳動物の離乳期であり、乳以外の多種多様な食餌抗原を多量に摂取し始める時期である。この時期は外来性の食餌抗原に対して獲得される経口免疫寛容の成立過程において中心的役割を果たすと考えられており、T細胞と相互作用する樹状細胞 (DCs) の変化について解析した。その結果、小腸の粘膜固有層には、表面抗原の発現量の違いから、CD11b⁻CD11c^{hi}、CD11b^{hi}CD11c^{med}、CD11b^{hi}CD11c^{hi} の表現型を示す亜集団が存在し			

た。離乳期に、外来性の食餌抗原として卵白アルブミン(OVA)を経口投与し、粘膜固有層に存在する制御性DCsの亜集団を解析したところ、OVA投与2日後においてPDCA-1⁺の表現型を示すDCsが有意に増加した。この結果から、離乳期に、食餌性タンパク質抗原が消化管内に負荷されることによって粘膜固有層に制御性DCsが迅速に集積されることを明らかにした。

3. 制御性CD103⁺樹状細胞の誘導にかかわる消化管上皮細胞のはたらき

消化管の上皮細胞(IECs)は、単層の細胞層を形成しているにすぎないが、生体内の環境と消化管管腔内の外環境とを的確に区別している。食餌成分や腸内細菌の影響を受けているIECsが粘膜固有層のDCsに与える影響について、骨髓由来DCsを用いて解析した。その結果、成熟型DCsよりも未成熟型DCsにおいて抗原取り込み能が高いこと、また、細胞内においてMHCクラスII経路に外来性抗原を取り込むことが示された。マウス結腸由来上皮細胞株CMT-93の培養上清を用いて未成熟型DCsを培養すると、DCsの細胞表面上において、T細胞の活性化に必要な共刺激分子であるCD86の発現が抑制され、逆に、消化管組織への定着に必要なCD103の発現が亢進された。以上の結果から、DCsが、上皮細胞CMT-93の寄与により免疫制御性の表現型を獲得していることを明らかにした。

以上のように、本研究により、消化管内環境の変動に伴う粘膜免疫系の制御性応答の形成過程について明らかにした。このことは、自己に対して無害な抗原と有害な抗原とを正確にかつ迅速に識別し、適切に応答する消化管における免疫恒常性を維持することにおいて重要な知見となり得る。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

消化管は、自己に対して無害な抗原と有害な抗原とを正確かつ迅速に識別する。前者には免疫寛容を、後者には正の免疫応答を誘導することで、消化管における免疫恒常性を維持している。しかし、抗原の種類と量に応じてどのように粘膜免疫系が制御されるかについては不明な点が多い。複雑な細胞間ネットワークにより形成されるこの応答機構を明らかにするために、消化管内環境の変動に伴い粘膜免疫系の制御性応答が大きく反映されると期待できる出生直後と離乳期に着目していることは重要である。本研究では、熱ショックタンパク質(Heat shock proteins: HSPs)による作用と、抗原提示の鍵細胞である樹状細胞(Dendritic cells: DCs)の変動という二方向からこの問題を検討している。評価すべき主要な点は以下のとおりである。

1. 通常飼育マウスの消化管管腔内には腸内細菌由来のHSP60様物質とその分解物が存在すること、腸内細菌が存在することによってHSPsに応答する全身性の制御性応答がはたらくことを明らかにした。また、大腸菌由来HSP60であるGroELは、腸間膜リンパ節由来のナイーブT細胞をCD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性T細胞に産生誘導することを明らかにした。
2. 小腸粘膜固有層には、CD11b⁻CD11c^{hi}、CD11b^{hi}CD11c^{med}、CD11b^{hi}CD11c^{hi}の表現型を示すDCs亜集団が存在することを見出した。離乳期において外来性食餌抗原として卵白アルブミンを経口投与した場合、投与2日後においてPDCA-1⁺の表現型を示す制御性のDCsが迅速に集積されることを明らかにした。
3. 消化管上皮細胞がDCsの機能に与える影響について解析した結果、成熟型DCsよりも未成熟型DCsにおいて抗原取り込み能が高いこと、細胞内においてMHCクラスII経路に外来性抗原を取り込むことを明らかにした。また、マウス結腸由来上皮細胞株CMT-93は、DCsに対して免疫制御性の表現型を獲得させることを明らかにした。

以上のように、本論文は、腸内細菌由来HSPsによりCD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性T細胞が産生誘導されること、消化管への抗原負荷や上皮細胞により粘膜免疫系の制御性応答が形成されることについて明らかにしたものであり、食環境学、栄養化学、生体防御学および酵素化学に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成24年2月13日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。
要旨公開可能日： 年 月 日以降