

審査の結果の要旨

氏名 高 鵬

本論文は「Integrin CD11b provides a new marker of IgA⁺ B cells entering germinal centers in murine Peyer's patches (インテグリン CD11b は、マウスパイエル板の胚中心に移行する IgA⁺ B 細胞の新しいマーカーである)」を題とし、6 章から構成されている。

第 1 章の序論では、以下の 4 点について研究の背景を記載している。まず、B 細胞が発現する B 細胞受容体としての immunoglobulin (Ig) と B 細胞が分化した抗体産生細胞が産生・分泌する抗体分子について記載し、次に宿主の免疫系が外敵に対してより有効な抗体を産生し選択する反応の場が、リンパ組織内の胚中心と呼ばれる構造であることを説明している。ワクチンにより有効な抗体が体内で誘導されるためには、この胚中心反応を効率よく誘導することが重要であるが、抗原刺激を受けて活性化された B 細胞のうち、ほんの一部が胚中心応答に関わることがわかっており、未だ解明されていない免疫学の課題「どのような刺激をうけた B 細胞が胚中心に入るか」を自身の研究の問うべき疑問としている。

特に最近のコロナ感染を考えると、ウイルスや細菌などの病原体の侵入経路は全身の粘膜であるため、粘膜免疫をワクチンで強化することが世界的に重要な課題であるが、現在実施されている注射によるワクチンが全身の獲得免疫系を誘導して特異的な抗体を血中で誘導することが可能であるのに対して、粘膜獲得免疫系を効率よく誘導するワクチンアジュバントは開発途上である。この問題を解決するには粘膜獲得免疫系の特徴を理解することが重要であり、とくに高親和性抗体が産生・選択される場である、小腸のパイエル板胚中心応答について注目して研究を進めたことが説明されている。さらに申請者はパイエル板 B 細胞の中で、ごく少数しか存在しない CD11b を細胞表面に発現する IgA⁺B 細胞が胚中心に入るプレ胚中心 B 細胞であると仮説を持った。その理由として CD11b というインテグリン分子についての知見を述べている。最近の論文で、CD11b はマクロファージなどの骨髄系細胞だけではなく、ある種の B 細胞にも発現しており、B 細胞受容体からのシグナルを負に調節することが示されている。実際にヒトのゲノム解析から、CD11b 遺伝子の異常と自己免疫疾患の強い関連が報告されている。すなわち、CD11b 分子の B 細胞での発現が、過剰もしくは異常な B 細胞増殖を抑制し、胚中心における正常な抗体の親和性成熟に重要であることが示唆されており、CD11b⁺IgA⁺細胞がプレ胚中心 B 細胞ではないかと推察している。

第 2 章、第 3 章と第 4 章では、上記の仮説を検証するための実験方法、実験結果と考察が述べられている。まず、マウスパイエル板には B 細胞全体の 0.1 % を占める CD11b⁺IgA⁺B 細胞が存在することをフローサイトメトリーにより示した。1 匹のマウスから約 800 細胞しか分離できないほど少数の細胞ではあるが、多くのマウス個体を使って CD11b⁺IgA⁺ B 細胞をパイエル板からセルソーターで分離した。CD11b⁻IgA⁺ B 細胞も同時に分離し、それぞれ

れの細胞から RNA を抽出して、マイクロアレイ解析と定量的 RT-PCR 法で CD11b⁺IgA⁺ B 細胞が遺伝子発現から他の細胞と区別される細胞集団であることを確認した。続いて、胚中心 B 細胞やプレ胚中心 B 細胞で発現していると報告がある遺伝子の発現パターンについて詳細に解析を行い、遺伝子発現情報から CD11b⁺IgA⁺ B 細胞がプレ胚中心 B 細胞であるという一つの証拠を提示した。

プレ胚中心 B 細胞の他の条件として、胚中心の外に局在すること、胚中心に入る前に CD4⁺ T 細胞と相互作用すること、が挙げられ、これらに関して免疫組織染色とコンフォーカル蛍光顕微鏡観察で、CD11b⁺IgA⁺ B 細胞がそれらの条件を満たすことを示した。続いて、プレ胚中心 B 細胞であるなら、CD4⁺ T 細胞と相互作用したのちに胚中心へ移動するはずであり、マウスパイエル板から分離した CD11b⁺IgA⁺ B 細胞を色素でラベルした後、パイエル板に直接細胞を注入して *in vivo* での細胞の挙動をコンフォーカル蛍光顕微鏡で観察した。注入直後には胚中心を取り囲むように局在する CD11b⁺IgA⁺ B 細胞が 40 時間後には胚中心に移動していることを証明した。以上のように、遺伝子発現パターン、T 細胞との相互作用、*in vivo* のパイエル板内での局在と細胞の移動、という多面的な解析から、CD11b⁺IgA⁺ B 細胞がプレ胚中心 B 細胞であると結論し、CD11b がプレ胚中心 B 細胞の新しい表面マーカーとなることを示した。

次の疑問は、プレ胚中心 B 細胞を誘導、すなわち CD11b を B 細胞に発現誘導する刺激は何か？である。B 細胞受容体だけではなく、Toll 様受容体 (TLR) などのリガンドで脾臓のナイーブ B 細胞を刺激した。その結果、TLR2 と TLR4 を刺激する細菌由来分子がその候補として見つかった。さらに細菌のうちでも乳酸菌・ビフィズス菌などの発酵菌ではなく大腸菌のような有害菌、しかもオートクレーブ処理した死滅した大腸菌がナイーブ B 細胞に CD11b を誘導することを見出し、実際に大腸菌 (死滅) をマウスに経口投与すると、2 日目にはパイエル板の胚中心 B 細胞数が増加することを示した。これにより、B 細胞に CD11b を誘導する物質が有効な粘膜ワクチンアジュバントとなる可能性を示した。最後に大腸菌 (死滅) をアジュバントとして卵白アルブミン (OVA) を抗原としてただ混ぜて溶液のままマウスに経口投与したところ、便中に OVA 特異的 IgA 抗体が誘導されることを示した。

以上の結果から、新しく見つけたプレ胚中心 B 細胞の表面マーカーとなる CD11b は、単なるマーカーとして有用なだけでなく、実際に CD11b を B 細胞に発現させる誘導物質を選択する鍵となる分子であり、現在ワクチン開発で課題となっている粘膜ワクチンアジュバントの選択に CD11b 誘導を目安にすることが可能である、という将来への展望も示した学位論文である。

よって本論文は博士 (医科学) の学位請求論文として合格と認められる。

以上 2303 字