

審査の結果の要旨

氏名 中村 有孝

本研究は、粘膜において管腔中の抗原を取り込み、直下の抗原提示細胞に受け渡す役割を有する上皮細胞である M 細胞の腸管粘膜感染防御に対する貢献を明らかにするため、M 細胞欠損マウスに対して感染実験を実施し、得られたフェノタイプから特に細胞性免疫に着目して解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. M 細胞欠損マウスモデルとして実験に供した *Spib*<sup>-/-</sup>マウスの腸管関連リンパ組織(小腸パイエル板、盲腸 Cecal patch、大腸 Colonic patch)を解析した結果、組織の縮小と免疫誘導活性の指標となる胚中心 B 細胞の減少が認められた。これらの変化は、過去に報告のある別の M 細胞欠損マウスモデルの結果と一致しており、*Spib*<sup>-/-</sup>マウスにおける腸管関連リンパ組織の縮小は、成熟 M 細胞の欠損によるものと推測された。
2. *Spib*<sup>-/-</sup>マウス大腸におけるリンパ球についてフローサイトメトリー(FCM)解析を実施したところ、IgA 陽性 B 細胞および CD4 陽性 T(ヘルパーT : Th)細胞の減少が認められた。Th 細胞についてさらに詳しく解析を行ったところ、*Spib*<sup>-/-</sup>マウスの大腸では、免疫機能に関与する記憶 Th 細胞の減少が認められた。つまり、*Spib*<sup>-/-</sup>マウスでは、大腸における免疫機能の低下が示唆された。
3. *Spib*<sup>-/-</sup>マウスに対し、ヒト腸管病原性大腸菌モデルである *Citrobacter rodentium* を感染させた。*Spib*<sup>-/-</sup>マウスは、野生型マウスに比べ、感染初期(7 日目)から下痢および血便の悪化、脾臓への細菌移行を示し、感染に対して高感受性であった。また、骨髄キメラマウスを用いた実験より、*C. rodentium* 感染した *Spib*<sup>-/-</sup>マウスにおける重篤な大腸炎は、非骨髄系細胞の Spi-B 欠損に原因があり、骨髄系細胞における Spi-B 欠損はフェノタイプに関与しないことが示された。この結果は、Spi-B を高発現する非骨髄系細胞である M 細胞が、*C. rodentium* 感染に対して防御的な貢献をしていることを強く示唆していた。
4. 感染期間中の大腸における *C. rodentium* 特異的 Th 細胞を検出したところ、感染 16 日目の *Spib*<sup>-/-</sup>マウスにおいて多くの *C. rodentium* 特異的 Th 細胞が検出された。しかしながら、*Spib*<sup>-/-</sup>マウスでは、感染初期より下痢や血便、細菌の脾臓への移行が起り、*C. rodentium* 特異的 Th 細胞は感染初期には両群共に検出されないことから、この増加は多くの *C. rodentium* が体内に侵入した二次的な影響であると推測された。
5. *C. rodentium* 感染期間中の大腸における腸内細菌特異的 Th 細胞を検出したところ、感染前および感染初期の *Spib*<sup>-/-</sup>マウス大腸において腸内細菌特異的 Th 細胞は有意に減

少していた。つまり、感染前に誘導されていた腸内細菌特異的 Th 細胞の違いが、*C. rodentium* 感染時における感受性の違いを生み出している可能性が推測された。非感染の野生型マウスおよび *Spib*<sup>-/-</sup>マウスのパイエル板、盲腸、大腸から CD4 陽性細胞を採取し、成熟した T 細胞および B 細胞を欠損する *Rag1*<sup>-/-</sup>マウスに移植、感染実験を行ったところ、このマウスは、*C. rodentium* に対するドナーマウスの感受性をほぼ完全に再現した。つまり、M 細胞に依存して誘導された腸内細菌特異的 Th 細胞が、*C. rodentium* 感染に対する宿主防御に重要な貢献をしていることが示唆された。

6. *C. rodentium* 感染期間中の *Spib*<sup>-/-</sup>マウスにおける上皮の増殖およびターンオーバーを EdU の *in vivo* 取り込み試験により解析した。感染 5-7 日目の野生型マウスの大腸上皮細胞において上皮増殖、ターンオーバーの加速が観察された一方、*Spib*<sup>-/-</sup>マウスの上皮細胞では上皮ターンオーバーが抑制されていた。非感染時の上皮増殖、ターンオーバーには、両群間の差は認められなかったため、上皮ターンオーバーの加速は、*C. rodentium* 感染に対して応答性のものであることが示された。

以上、本研究では、M 細胞による抗原取り込みが、腸内細菌特異的 Th 細胞の誘導を介して *C. rodentium* 感染に対する宿主防御に貢献しているという、新たな組織恒常性維持機構を発見した。本研究は、粘膜感染症に対する新たな予防、治療戦略を見出す基盤となる研究であると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。