

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 磯部 優理

本研究は、免疫細胞の機能制御において重要な役割を果たすと考えられるペア型受容体 **Leukocyte mono-immunoglobulin-like receptor 6 (LMIR6)** について、その発現分布、機能、リガンドを解明すべく解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. マウス **LMIR6 mRNA** の発現パターンを **qRT-PCR** を用いて調べたところ、マウス組織では末梢血単核球に高い発現が認められた。マウス **LMIR6** 特異的抗体を作成し、フローサイトメトリー法を用いて末梢血単核球の各分画におけるマウス **LMIR6** の細胞表面発現を調べたところ、**CD11c^{high}CD80^{high}** の細胞集団に特異的に発現することが確認された。この細胞は **Ly6C^{low}CD115^{high}** で特徴付けられる、**non-inflammatory monocyte** と呼ばれる細胞群に一致することが確認された。一方ヒト **LMIR6** の発現を同様に調べたところ、同じく健康人末梢血単核球において高い発現が認められたが、ヒトの場合には **non-inflammatory monocyte** に限らず単球全般に発現することが判明した。
2. マウス **LMIR6** とアダプター分子 (**DAP12, FcR γ**) における共沈実験において、マウス **LMIR6** は **DAP12, FcR γ** 双方と結合することが確認された。マウス **LMIR6** と **DAP12, FcR γ** を骨髄由来マスト細胞に共発現させる系において、**DAP12** 欠損、**FcR γ** 欠損、**DAP12/FcR γ** 両欠損におけるマウス **LMIR6** の発現強度には変化が見られなかった。このことは、マウス **LMIR6** がアダプター分子と結合するが、マウス **LMIR6** の発現強度はアダプター分子に依存しないことを示唆する。
3. 骨髄由来マスト細胞にマウス **LMIR6** を導入し、特異的抗体を用いて架橋刺激したところ、炎症性サイトカイン **IL-6** の産生を認めた。さらに、アダプター分子欠損マウスを用いた検討により、これら活性型受容体としての現象は **DAP12** 及び **FcR γ** に依存することも証明された。また、ヒト **LMIR6** においても同様の現象が認められ、活性型受容体として機能することが示唆された。
4. **LMIR6**-ヒト **IgGFc** プローブ蛋白を用いた実験により、マウス **LMIR6** とヒト **LMIR6** がスフィンゴミエリンに結合することが確認された。また、**LMIR6-CD3 ζ** 分子と **NFAT** で活性化される **GFP** を導入した **2B4** レポーター細胞の系により、マウス **LMIR6** とヒト **LMIR6** の生理的リガンド候補としてスフィンゴミエリンが挙げられた。骨髄由来マスト細胞にマウス・ヒトそれぞれの **LMIR6** を導入し、スフィンゴミエリンを用いて刺激したところ、特異的抗体で刺激した場合と同様に **IL-6** の産生が認められた。ま

た、マウス LMIR6 を導入した骨髄由来マスト細胞における IL-6 の産生は、アダプター分子欠損マウスを用いた検討により、特異的抗体で刺激した場合と同様に DAP12 及び FcR γ に依存することが示された。

5. ヒト non-classical monocyte は LMIR6 を発現するが、この細胞に対しヒト LMIR6 特異的抗体による架橋もしくはスフィンゴリエリンを用いて刺激を加えると、炎症性サイトカイン TNF α が産生されることが示された。一方で、non-classical monocyte には、スフィンゴリエリンを認識する抑制型受容体ヒト LMIR3 が発現している。このため、スフィンゴリエリン刺激下にヒト LMIR6 特異的阻害抗体・ヒト LMIR3 特異的阻害抗体を用いて実験したところ、スフィンゴリエリン刺激における TNF α 産生において、LMIR6 と LMIR3 は拮抗する作用を持つことが示された。このことは、特定の脂質の存在下において、ヒト末梢血単球が活性型・抑制型 LMIR によって相対的に制御され得ることを示唆している。

以上、本論文は新規ペア型免疫受容体である LMIR6 が特定の単球系細胞に発現しており、活性化受容体としての機能を持つこと、また、ヒトにおいては脂質スフィンゴリエリンを認識し、抑制型受容体 LMIR3 と拮抗するように作用することを明らかにしたものである。その発現分布や機能から、LMIR6 が自然免疫・炎症に関与する可能性が示唆され、免疫関連疾病の予防・治療において貢献することが予想されるため、学位の授与に値すると考えられる。