

氏名（本籍） 吉澤 勇一（長野県）
 学位の種類 博士（医学）
 学位記番号 博甲第 7020 号
 学位授与年月 平成 26 年 3 月 25 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 審査研究科 人間総合科学研究科
 学位論文題目 粘膜免疫における Fc α / μ 受容体の機能解析

主	査	筑波大学教授	医学博士	有波 忠雄
副	査	筑波大学准教授	博士（医学）	楊 景堯
副	査	筑波大学講師	博士（理学）	松田 学
副	査	筑波大学講師	博士（医学）	坪井 洋人

論文の内容の要旨

（目的）

抗体は Fc 部分の違いにより IgM, IgG, IgA, IgE, IgD の 5 種類に分類される。免疫細胞上には抗体の Fc 部分に対する受容体である Fc 受容体が発現しており、抗原複合体を形成した抗体との結合の結果、様々な免疫応答を誘導することが知られている。これまでに複数の Fc 受容体が同定され、食食、細胞障害活性には IgG を介した反応が、アレルギー反応には IgE を介した反応が必須であることが明らかにされてきた。マウスでは IgM および IgA に対する Fc 受容体はこれまで同定されておらず、その構造や機能は謎に包まれていた。渋谷らが同定した Fc α / μ 受容体(Fc α / μ R, CD351) は、IgM および IgA に対する Fc 受容体である。

これまでの研究により Fc α / μ R は小腸に高発現することが明らかとなっているが、各細胞レベルでの Fc α / μ R の発現量の比較検討はこれまで行われていなかった。そこで本研究では Fc α / μ R を高発現する細胞の特定およびその発現制御機構の解明を第一の目的とした。

IgA は粘膜における感染防御機構において重要な働きを担っているが、Fc 受容体を介した免疫応答については未だ不明である。Fc α / μ R の生理的な意義は未だ明らかにされていないが、Fc α / μ R は小腸に高発現することから、腸管粘膜免疫における重要性が期待される。そこで本研究では粘膜免疫応答における Fc α / μ R の役割を解明することを第二の目的とした。

（対象と方法）

遺伝背景がいずれも C57BL/6 である野生型マウス、Fc α / μ R 遺伝子欠損マウス、TRIF 遺伝子

欠損マウス、MyD88 遺伝子欠損マウス、無菌(GF)マウスを用いた。Fca/μR 遺伝子の発現定量には定量 PCR 法を、Fca/μR の発現解析には免疫蛍光染色法を用いた。小腸パイエル板からのフローサイトメトリー法による濾胞樹状細胞(FDC)の単離には、抗 CD45.2 抗体と FDC-M2 を用いた。脾臓の FDC の単離には抗 CD45.2 抗体と抗 CD54 抗体を用いた。脾臓およびパイエル板の B 細胞の単離には抗 CD45.2 抗体と抗 CD45R 抗体を用いた。感染実験にはサルモネラ菌(χ3304 株)を使用した。

(結果)

小腸のリンパ組織であるパイエル板と小腸からパイエル板を除いた部位における Fca/μR 遺伝子の発現量を調べたところ、Fca/μR はパイエル板に高発現することが明らかとなった。そこでパイエル板において Fca/μR を発現している細胞を調べたところ、FDC に Fca/μR の強い発現が認められた。パイエル板から FDC を単離し、パイエル板の FDC と B 細胞および脾臓の FDC と B 細胞における Fca/μR の発現量を比較したところ、脾臓の B 細胞に比べてパイエル板の B 細胞において、脾臓の FDC に比べてパイエル板の FDC において、それぞれ Fca/μR 遺伝子の発現量が有意に高いことが明らかとなった。FDC および、B 細胞の両者における Fca/μR 遺伝子の発現が、脾臓に比べてパイエル板の細胞で高かったことから、Fca/μR の遺伝子発現制御機構に腸内細菌叢の関与が示唆された。そこで無菌(GF)マウスパイエル板の FDC における Fca/μR 遺伝子の発現量を調べたところ、GF マウスでは SPF マウスに比べておよそ 6 分の 1 にまで Fca/μR 遺伝子の発現量が低下していた。細菌やウイルス由来の分子パターンを認識する主要な受容体として TLR ファミリーが挙げられる。TLR ファミリーは下流因子である TRIF または MyD88 またはその両者を介してシグナルを伝達するが、野生型マウスに比べ TRIF 遺伝子欠損マウスパイエル板の FDC において Fca/μR 遺伝子の発現低下が認められた。TRIF 経路を利用する TLR の種類は TLR3 および TLR4 に絞られる。すなわち、FDC 上の Fca/μR 遺伝子の発現量は TLR3 または TLR4 刺激により亢進されることが示唆された。

サルモネラ菌の主な侵入経路としては小腸パイエル板が知られている。サルモネラ菌を経口的に投与した Fca/μR 遺伝子欠損および野生型マウスの生存率および、体重減少率を比較したが、生存率および体重減少率ともに両マウス間で有意な差は認められなかった。同様に経口投与から 1 日および 5 日後の、各種臓器に伝播したサルモネラ菌体量を比較したが、両マウスにおける差は認められなかった。

(考察)

本研究により Fca/μR 遺伝子の発現量はパイエル板の FDC および B 細胞上に高い発現が認められ、FDC 上の Fca/μR 遺伝子の発現は TLR3 または MyD88 非依存的な TLR4 シグナルにより制御されることが示唆された。TLR3 および TLR4 の生理的なりガンドは、それぞれウイルス由来の dsRNA および細菌由来の LPS であり、それらは TI 抗原に分類することができる。Fca/μR 欠損マウスは TI 抗原に対する抗体産生応答をはじめとした液性免疫応答の亢進が認められる。一方で、腸内細菌への応答の結果、産生される自然抗体 IgA は T 細胞非依存的に産生されることが報告されている。このことから Fca/μR は腸管におけるウイルス由来の dsRNA や細菌由来の LPS に反応する IgA 抗体産生の抑制に働くことが示唆された。

Fca/μR が小腸パイエル板の FDC に高発現していた事実と FDC が抗体産生応答に重要な働き

をすることから、パイエル板 FDC 上の Fcα/μR は粘膜局所における IgA 産生の調整に関与していることが示唆される。本実験からはサルモネラ感染における Fcα/μR の生理的機能を明らかにすることはできなかったが、今後よりきめ細かい解析により、Fcα/μR の腸管免疫における重要性が明らかにされると推測される。

審査の結果の要旨

(批評)

本論文は、IgM および IgA に対する Fc 受容体である Fcα/μR が小腸パイエル板で高発現し、感染で発現が亢進し、TLR3 または TLR4 刺激が関与していることを報告している。サルモネラ菌を使った実験では証拠は得られなかったものの、Fcα/μR の役割解明には、より詳細な解析が必要であることの報告であり、Fcα/μR の機能に関して重要な報告と評価できる。

平成 25 年 12 月 26 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。