

氏名（本籍）	三木 春香
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博甲第 7454 号
学位授与年月	平成 27 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	Apoptotic cells promote Th2 responses by stimulating inflammatory dendritic cells via CD300a immunoreceptor (アポトーシス細胞は炎症性樹状細胞上の CD300a を介して Th2 誘導を促進する)
主査	筑波大学教授 博士（医学） 檜澤 伸之
副査	筑波大学教授 医学博士 高橋 智
副査	筑波大学准教授 博士（医学） 矢作 直也
副査	筑波大学講師 博士（医学） 栗田 尚樹

## 論文の内容の要旨

### (目的)

動物モデルでアレルギー性気道炎症誘導のためのアジュバントとして用いられる水酸化アルミニウム (Alum) は、古くからワクチンのアジュバントとして使用されてきたが、ワクチンの免疫賦活化作用とともに Th2 型の獲得免疫を誘導し、抗原特異的な IgE 抗体の産生に関与することが明らかになっている。この Alum アジュバントによる Th2 応答誘導の機序は未だ詳細が明らかになっていないが、近年 Alum の細胞障害活性により誘導される細胞死が Th2 応答、IgE 抗体産生に寄与するということが報告されている。一方で、気道におけるアポトーシス細胞の除去機構の破綻が喘息の重症化に関与するということも報告されており、アポトーシス細胞が Th2 応答の誘導を介して、アレルギー性炎症の悪化に関与している可能性が示唆されている。

骨髄球系細胞の免疫応答に働く分子として新規に同定された CD300 (MAIR: Myeloid-associated immunoglobulin-like receptor) 分子群は、細胞外に免疫グロブリン様ドメインをひとつ持つ I 型膜貫通型糖タンパク質で、そのうち CD300a (MAIR-I) は、細胞内に ITIM (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif) を持ち抑制性シグナルを伝える免疫受容体である。CD300a は樹状細胞やマクロファージ、肥満細胞などに発現し、近年そのリガンドがアポトーシス細胞上で発現するリン脂質成分である

フォスファチジルセリン(PS: Phosphatidylserine)であることが同定された。本研究ではマウス喘息モデルを用いて、アレルギー炎症における CD300a の機能解析と、アポトーシス細胞による CD300a を介したアレルギー制御の可能性を明らかにすることを目的とした。

#### (対象と方法)

野生型、あるいは CD300a 遺伝子欠損型の C57BL/6J マウスに、OVA を Alum アジュバントとともに 0, 7, 14 日目に腹腔内投与し、21, 22, 23 日目に 10%OVA をネブライザー投与して 2 日後に気管支肺胞洗浄液(BALF)、気道抵抗の解析を行った。また所属リンパ節におけるサイトカイン産生の比較、血清 IgE 値の経時的な評価を行った。CD300a 発現細胞の Th2 応答制御の評価のため、野生型由来または CD300a 遺伝子欠損マウス由来の腹腔洗浄液中の炎症性樹状細胞をフローサイトメトリー法で分離採取し、OT-II マウス由来のナイーブ CD4 陽性 T 細胞と共培養して培養液中のサイトカイン産生を比較した。さらに、感作期に CD300a の中和抗体を投与して気道炎症を誘導し、BALF と血清 IgE 抗体価の評価を行った。

#### (結果)

CD300a 遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスに比べ、BALF 中の総細胞数、好酸球数が有意に低下し、気道抵抗の改善、肺への細胞浸潤と粘液産生の減少が認められた。また、CD300a 遺伝子欠損マウスでは血清中の IgE 抗体産生が喘息の誘導期(感作期)より有意に抑制されていた。

CD300a は腹腔内で炎症性単球由来の樹状細胞に高発現しており、野生型由来または CD300a 遺伝子欠損マウス由来の炎症性樹状細胞とナイーブ CD4 陽性 T 細胞と共培養すると、CD300a 遺伝子欠損マウス由来の樹状細胞と共培養した T 細胞からの IL-4 産生が野生型に比べ有意に低下していた。また、Alum アジュバント投与後の腹腔中では経時的に CD300a のリガンドである PS を発現するアポトーシス細胞が増加しており、樹状細胞が、CD300a 依存的にアポトーシス細胞に結合することが確認された。さらに、抗 CD300a 中和抗体の投与により、喘息誘導後の BALF 中の総細胞数、好酸球数、血清中の IgE 抗体産生がコントロール抗体投与群に比べ有意に減少した。

#### (考察)

アポトーシス細胞が CD300a を介して樹状細胞と結合し、Th2 応答を促進するということはこれまで明らかにされていない知見である。このことは、ワクチンアジュバントである Alum により誘導されたアポトーシス細胞が、樹状細胞上の CD300a を介して Th2 応答の誘導に寄与している可能性が示唆される。さらに、アポトーシス細胞と CD300a の結合阻害によりアレルギー性気道炎症が改善するという結果から、CD300a を介した Th2 応答の促進が、気道におけるアポトーシス細胞の蓄積により喘息の重症化につながる機序のひとつである可能性が考えられる。これらの新規の知見は、アレルギー発症あるいは炎症の制御、予防につながる重要な知見であると考えられる。

## 審査の結果の要旨

#### (批評)

本研究は動物モデルにおいてアレルギー性気道炎症誘導のためのアジュバントとして用いられる水酸化アルミニウム (Alum) が Th2 型の獲得免疫を誘導し、抗原特異的な IgE 抗体の産生に関与する新規のメカニズムとしてアポトーシス細胞による CD300a を介した経路を明らかにした。さらに、アレルギー性気管支喘息の動物モデルにおいて CD300a を阻害することで、気道のアレルギー性炎症が軽減され

ることを示し、将来的にはアポトーシス細胞の除去機構の破綻と関連した重症のヒト気管支喘息においても CD300a が治療の標的になりうる可能性を示した、重要な基礎的研究である。

平成 27 年 1 月 6 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。