

氏名（本籍）	船越 舟一		
学位の種類	博 士（ 理 学 ）		
学位記番号	博 甲 第	7339	号
学位授与年月日	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	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Study on the Roles of BILL-cadherin/Cadherin-17 in the B Lymphocyte Differentiation and Antibody Response (BILL-カドヘリン/カドヘリン17のBリンパ球分化および抗体応答における役割に関する研究)		
主査	筑波大学教授（連携大学院）	理学博士	大西 和夫
副査	筑波大学教授	理学博士	林 純一
副査	筑波大学教授	理学博士	沼田 治
副査	筑波大学教授	博士（理学）	中田 和人

論 文 の 要 旨

脊椎動物に発達した適応免疫系の重要な性質として免疫記憶がある。これにより、生体は同一病原体による二度目の感染に対して、顕著な抵抗性を獲得することができる。この性質は、感染症に対する最も有効な予防法として、現在広く普及しているワクチン接種法の基盤となっている。免疫記憶成立の分子機序の解明は、現代免疫学の最も重要な研究対象の一つであり、大きく分けて二つの問題に分けられる。すなわち、記憶細胞分化の分子機構、及び記憶細胞長期保持の分子機構である。特に、後者については、これまでほとんど手懸りが掴めていなかった。本研究で、免疫系B細胞系列に特異的に発現するカドヘリン分子の生物学的役割を詳細に検討した結果、記憶B細胞を長期間保持する分子機構に深く関与する事が明らかになった。また、その作用機序の基軸となる細胞間相互作用の枠組みを明らかにし、想定されていた免疫学的概念である「記憶B細胞ニッチ」について、具体例を初めて提示した。

Ca²⁺依存性細胞接着因子であるBILL-カドヘリン/カドヘリン17 (CDH17) は、リンパ球に発現する唯一のカドヘリン・ファミリー分子であり、B細胞の発生・分化にともなって、時空間特異的 (spatiotemporal) に発現制御される。本研究で、フローサイトメトリー法を用いてB細胞の後期分化過程に伴う発現パターンを詳細に明らかにした。その結果、骨髄で発生したB細胞が二次リンパ組織に到達したTransitional-B細胞と辺縁帯 (Marginal zone)-B細胞で高発現しているにもかかわらず、二次リンパ組織で後期分化が進むMature-B細胞、胚中心 (Germinal center)-B細胞、Plasma細胞ではその発現が消失し、最も後期に分化する記憶B細胞ではその50%にCDH17の発現が再び上昇する事を明らかにした。このことは、記憶B細胞はCDH17陽性と陰性の2つの亜群に分けられ、CDH17が記憶B細胞の機能に何らかの役割を果たしている事を示唆している。

B細胞の後期分化過程におけるCDH17の役割を明らかにするためにカドヘリン17遺伝子欠損マウスを用いて解析を進めた。古典的なハプテン・キャリア抗原であるNP-CGGに対する抗体応答を遺伝子欠損マウス (KO) と同腹子野生型 (WT) で比較した。その結果、一次免疫応答の初期反応は両者で全く差が無いのに対し、長期間経過後 (4-45週間後) の高親和性抗体力価がKOで有意に低下し、高親和性抗体記憶B細胞に何らかの異常がある事を示唆した。実際に追加抗原刺激を行ってみると、二次抗体応答がKOで顕著に低下した。このことから、CDH17がB細胞免疫記憶機能に何らかの形で寄与している事が明らかになった。

次に、CDH17がどのように関与しているかを知るために、免疫後の抗原特異的記憶B細胞の保持数の変化を長期間に渡って観察した。その結果、抗原特異的記憶B細胞の初期形成数はKOとWTで差が無いのに対し、約60週間後のKOの記憶B細胞保持数はWTの1/3に低下していた。また、記憶B

細胞の細胞周期をフローサイトメトリー法で解析した結果、KOでは細胞周期の進行がWTに比べて有意に抑制されていた。この事は、記憶B細胞の長期生存に必要な恒常的細胞増殖がCDH17欠損下で抑制され、それが原因で記憶B細胞数の低下を引き起こしている事を示唆した。

CDH17は細胞間接着因子であり、相手細胞のCDH17とホモティピックに接着する。記憶B細胞表面に再帰的に発現するCDH17の作用機作について、その相手細胞を同定する事が必要であると考え、詳細な探索を進めた結果、主要二次リンパ器官である脾臓のストロマ細胞のうち、マーカー分子MAdCAM-1が陽性の血管内皮細胞がCDH17陽性である事を突き止めた。免疫蛍光抗体法による組織内局在性解析の結果、このMAdCAM-1陽性血管内皮細胞は脾臓辺縁洞(Marginal sinus)近傍に散在し、記憶B細胞様IgG1陽性細胞と共局在し、さらにKOでは記憶B細胞様IgG1陽性細胞の辺縁洞への局在が有意に減少する事を示した。

以上の結果を総合すると、記憶B細胞で再帰的に発現するCDH17は、記憶B細胞の長期生存の分子機構に重要な役割を果たしており、それは、CDH17陽性MAdCAM-1陽性血管内皮細胞が脾臓内で形成する微小環境において、記憶B細胞の恒常的細胞増殖を支持する事によると考えられた。すなわち、CDH17は記憶B細胞生存ニッチを規定し、B細胞免疫記憶の長期維持に重要な役割を果たしている事を初めて明らかにした

審 査 の 要 旨

本学位論文において船越舟一氏は、抗体産生B細胞に発現するBILL-カドヘリン/カドヘリン17 (CDH17) 分子の機能解析を入念に行い、それが適応免疫系における免疫記憶維持機構に重要な働きをしている事を突き止めて、初めて記憶B細胞ニッチの存在を示すことに成功した。この研究過程において、カドヘリン17遺伝子欠損マウスの免疫記憶能を非常に長期間にわたり詳細に観察して、その機能異常を明らかにした事は特筆すべき粘り強さである。さらに、その現象の作用機作の解析にあたり、極度に存在頻度が低い記憶B細胞のマウス個体内における動態について、困難な実験を何度も正確に繰り返して統計的有意性を判断出来るまでに観察結果の質を高めた。非常に高度な免疫学的技術である、特異細胞集団の細胞周期解析や増感蛍光免疫組織染色法についても自ら工夫して世界トップクラスの観測レベルを達成した。研究の論理の進め方についても、良く当該分野の研究動向を理解した上で練られており、卓越している。本研究は、免疫学に残された重要な問題の一つである、免疫記憶長期保持の分子機構を理解する上で突破口となる結果を得る事に世界で初めて成功した点で、極めて学術的価値が高い。

平成27年2月3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に論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

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