

氏名（本籍）	戸塚 直也
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博乙第 2723 号
学位授与年月	平成 27 年 2 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	炎症性単球における免疫受容体 MAIR-II の機能解明

主査	筑波大学教授	医学博士	高橋 智
副査	筑波大学教授	博士（医学）	檜澤 伸之
副査	筑波大学准教授	博士（薬学）	鈴木 裕之
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	松本 功

論文の内容の要旨

(目的)

MAIR-II (myeloid-associated immunoglobulin-like receptor-II)は、マクロファージと B 細胞に発現し、細胞質内に ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif)を有する DAP12 または FcR □鎖と呼ばれるアダプター分子と会合する。マクロファージ上の MAIR-II を抗 MAIR-II 抗体で刺激すると、活性化シグナルを伝達し、炎症性サイトカイン産生を誘導する。B 細胞上の MAIR-II が、DAP12 依存的に獲得免疫応答を負に制御することが報告されていたが、マクロファージ/単球系での MAIR-II の生理的役割の多くは未だ明らかではない。本論文では、炎症性単球における MAIR-II の生理的役割を明らかにすることを目的とした。

(対象と方法)

野生型マウスまたは MAIR-II 遺伝子欠損マウスに対し、盲腸の先端から 7 mm で結紮し、25 G の注射針で 2 回穴を開ける CLP (cecal ligation and puncture : 盲腸結紮穿孔法)を実施した。MAIR-II と TLR4、DAP12、FcR □鎖との会合、また DAP12 および FcR □鎖のチロシンリン酸化、Syk のリン酸化を検討するため、免疫沈降法およびウエスタンブロット法を用いた。最後に、炎症性単球における VLA-4 を介した接着能を検討するため、VCAM-1 を固相化した培養ディッシュを用いて LPS 刺激後 20 時間の接着細胞の数を顕微鏡により解析した。

(結果)

MAIR-II 遺伝子欠損マウスは、野生型マウスに比べ、CLP による腹膜炎敗血症モデルにおいて感受

性が高かった。また MAIR-II 遺伝子欠損マウスでは、マクロファージ/単球の腹腔へ動員される細胞数が増加していなかった。野生型マウスと MAIR-II 遺伝子欠損マウスにおける腹腔内ケモカイン量や、炎症性単球上の CCR2 の発現に有意な差が見られなかったが、インテグリンである VLA-4 の抗体投与によって、腹腔へ遊走する野生型炎症性単球の細胞数は、MAIR-II 遺伝子欠損炎症性単球の細胞数と同等の数まで低下していた。次に、マクロファージにおける MAIR-II と TLR4 や MyD88 との関係を解析したところ、MyD88 遺伝子欠損および TLR4 遺伝子欠損炎症性単球移入群は、腹腔へ遊走する炎症性単球がほとんど見られず、CLP 実施後の生存率に関しても、野生型に比べ有意に低下していた。これらのことから、炎症性単球は、CLP 実施後の腹腔への遊走に TLR4 および MyD88 を必要とすることが明らかになった。また免疫沈降・ウェスタンブロット法により、MAIR-II は LPS 刺激により、TLR4 と物理的に会合することと、DAP12 ではなく、FcR γ と会合するようになり、下流のシグナル伝達分子である Syk のリン酸化を誘導することを発見した。Syk は、VLA-4 の活性化を促進することが報告されているため、炎症性単球における VLA-4 を介した VCAM-1 への接着能を調べたところ、MAIR-II 遺伝子欠損炎症性単球は、野生型炎症性単球に比べ、有意に低下していた。DAP12 遺伝子欠損炎症性単球は野生型炎症性単球と変わらないが、FcR γ 欠損炎症性単球は、MAIR-II 遺伝子欠損炎症性単球と同様に VCAM-1 への接着能が低下していた。これらの結果から、炎症性単球は CLP 実施後の腹腔への遊走に DAP12 ではなく、FcR γ を必要とすることが明らかになった。

(考察)

本論文では、MAIR-II が炎症性単球における TLR4 を介した VCAM-1 への細胞接着を正に制御していることを明らかにした。このことは、MAIR-II に対するリガンドが炎症性単球の遊走を制御している可能性を示唆している。近年、CD300 ファミリー分子は、細胞外脂質と結合することが報告されており、MAIR-II においても、リガンドとしてリン脂質等の細胞外脂質を認識する可能性がある。*in vivo* での MAIR-II の機能を明らかにするために、MAIR-II リガンドも含めたさらなる研究が必要である。

審査の結果の要旨

(批評)

本論文では、TLR4/MyD88 を介したシグナル伝達による MAIR-II/FcR γ の活性化が、炎症性単球における VLA-4 を介した血液中から感染および炎症局所への遊走に、重要な役割を果たしていることを明らかにした。MAIR-II の炎症性単球における機能および分子機構を明らかにした研究として、高く評価できる。

平成 26 年 12 月 17 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。