

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 浅井和美

経口免疫寛容とは、生命を維持しエネルギー源となる食物抗原に対して、それが異物であるにもかかわらず免疫反応を起こさない現象であり、その機構にはCD4 T細胞が重要な役割を担っていることが知られている。近年、この経口免疫寛容が自己免疫疾患やアレルギーの治療などに応用されて成果を挙げているが、その機構については未だ不明な点が多い。本論文は、経口免疫寛容のCD4 T細胞の情報伝達系について解析したもので、その解析を容易に行うことが可能な卵白アルブミン (OVA) に特異的なT細胞抗原レセプター (TCR) を発現するトランスジェニックマウス (OVA23-3 Tgマウス) を用いており、序論と3章、結語より構成されている。

序論において研究の背景を述べた後、第1章では、抗原の経口摂取により誘導されるCD4 T細胞の特性を検討した結果を述べている。OVA抗原の長期経口摂取によりOVA23-3 Tgマウスの脾臓CD4 T細胞はin vivoで抗原感作されてやや活性化されるが、特異的抗原であるOVAの再刺激に対しては、増殖応答やサイトカイン産生の低下および活性化T細胞表面マーカーCD40Lの発現能の低下など、抗原の経口摂取により誘導されるCD4 T細胞は低応答性を示し、経口免疫寛容が誘導されることが示された。また、経口免疫寛容状態におけるCD4 T細胞が、TCRを介さず細胞内を直接刺激する薬剤イオノマイシンとPMAに対しては正常に応答していることを明らかにし、経口免疫寛容状態のCD4 T細胞には、TCR近傍に障害があることが示唆された。

第2章では、経口免疫寛容の低応答性CD4 T細胞におけるTCRを介したシグナル伝達系をウエスタンブロット解析を中心に検討し、その結果を述べている。抗原提示細胞によって提示された抗原をTCRが認識すると、細胞内の情報伝達物質がリン酸化などの修飾を受けてT細胞が活性化され、その経路は主にCa/CN系とRas/MAPK系に大別できる。経口免疫寛容の低応答性CD4 T細胞では、情報伝達分子PLC $\gamma$ -1タンパク質のリン酸化の低下、細胞内カルシウム反応の障害、転写因子NF-ATの核内移行への障害が明らかになり、Ca/CN系の障害が示された。さらにTCR近傍の情報伝達分子LAT、ZAP-70、TCR- $\zeta$ のリン酸化が減弱していることが示され、TCR近傍にも障害があることを確認し、第1章の結果を裏付けた。しかし、ERK/MAPKとSAPK/MAPKの活性は正常であり、Ras/MAPK系には障害がないことが示された。副刺激を欠落した抗原刺激によって誘導され、IL-2サイトカイン産生と細胞増殖が起こらない状態はクラシカルアナジーと呼ばれる。このクラシカルアナジーの不応答性はIL-2の付加により回復し、またそのT細胞内情報伝達ではRas/MAPK系に障害が多いことが知られている。しかし、経口免疫寛容の低応答性CD4 T細胞は、IL-2の付加によってもその低応答性は回復せず、MAPK系に障害がないことから、クラシカルなアナジーとは異なる機構によって低応答化して

いることが示唆された。

第3章では、IL-2の付加により低応答性が回復しないことに着目し、経口免疫寛容の低応答性CD4 T細胞のIL-2情報伝達系を検討した結果を述べている。IL-2受容体を介するこの情報伝達系は、主にJAK-STAT系により制御され、この系によって誘導される負のフィードバック調節因子CIS1によりこの系が抑制されることが近年明らかになっている。経口免疫寛容の低応答性CD4 T細胞のJAK-STAT系では、情報伝達分子STAT5のリン酸化およびCIS1の発現量が正常であることが示され、JAK-STAT系に障害がないことが示された。しかし、IL-2によって誘導される別の情報伝達経路、PI3K/PKB系によって分解される細胞増殖応答の抑制因子であるp27kip1分子が、経口免疫寛容の低応答性CD4 T細胞では蓄積しており、その結果IL-2を付加してもその低応答性が回復しないことが示された。

結語では、本研究の成果とこれまでの知見を基に、総合的な討論を行っている。

以上、本論文は、経口免疫寛容における低応答性T細胞の細胞内情報伝達系について解析を行い、TCR近傍の障害に続くCa/CN系の障害によりTCRからの情報伝達に異常が起きていること、またIL-2情報伝達系においてはp27<sup>kip</sup>の蓄積による細胞増殖応答の抑制が起きていること示し、これまでに報告のあるクラシカルなアナジーT細胞とは異なる機構によって経口免疫寛容の低応答性が制御されていることを明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが多い。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値のあるものと認めた。