

[ 別紙 2 ]

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 文 炳 坤

本研究は、キメラ受容体を用いて示唆された、IL-5 依存性の細胞増殖と分化のシグナル伝達系が IL-5R  $\alpha$  鎖の異なる細胞内領域に依存している可能性について、より生理的な条件下に検討すること、また腹腔内 B-1 細胞の恒常性維持における IL-5/IL-5R 系の役割、腹腔や腸管において IL-5 を産生供給する細胞群を同定することを研究目的として、秘蔵 B 細胞および腹腔内 B 細胞にて、解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1) 野生型 IL-5R  $\alpha$  鎖 (WT)、細胞内 C 末端領域の 6 アミノ酸を欠失した  $\alpha$  鎖 (DC3)、およびプロリンに富む領域に変異を持つ  $\alpha$  鎖 (ApvA) を B 細胞で発現する TG マウスを作製し、これらの TG マウスを 5R  $\alpha^{-/-}$  マウスと交配して全ての B 細胞が導入遺伝子由来の  $\alpha$  鎖のみを発現するマウス (TG-5R  $\alpha^{-/-}$ ) を得て脾臓 B 細胞の IL-5 依存性の細胞増殖、分化反応を解析した。ApvA-5R  $\alpha^{-/-}$  の B 細胞では IL-5 依存性の増殖および IgM、IgG 1 の産生とも全くみられないこと、DC 3-5R  $\alpha^{-/-}$  の B 細胞では増殖、IgM 産生はおこるものの、IgG1 産生量が著しく低下していることから、B 細胞の増殖および分化シグナル伝達に IL-5R  $\alpha$  鎖細胞内領域のプロリンに富む領域が必須であること、これに対し IL-5R  $\alpha$  鎖に特有な C-末端領域の一部である DC 3 部位は増殖および IgM 産生細胞への分化誘導には重要ではないが、IgG1 産生細胞へのクラス変換組み換えに重要であることが示された。

2) IL-3R  $\alpha$  と GM-CSFR  $\alpha$  には、DC 3 部位を含む細胞内 C-末端領域が存在しない。WT マウスの脾臓 B 細胞を anti-CD38 と IL-3 あるいは GM-CSF で刺激すると、増殖反応は観察されたが、抗体産生反応は誘導されなかった。この結果から、IL-5R  $\alpha$  鎖に特有な C-末端領域は増殖 signal の伝達には必須ではないものの分化 signal 誘導

には必須であることが示唆された。またこの C 末端領域を持っていない IL-3R $\alpha$  と GM-CSFR $\alpha$  の場合、IL-5R $\alpha$  と機能的な差があることが今回新たに示唆された。

3) 正常マウスにて、IL-5 が B-1 細胞の生存維持に関与するか調べるため、7 週齢の野生マウスに抗 IL-5 抗体を腹腔内投与し解析した。投与後 6 日目に細胞数、細胞径ともに 5R $\alpha^{-/-}$  マウスと同程度に減少し、正常に分化した B-1 細胞の維持に IL-5/IL-5R 系が重要であることが示唆された。そこで、正常細胞数存在下の B-1 細胞生存における IL-5 の役割を調べるため、野生あるいは 5R $\alpha^{-/-}$  マウスより得た腹腔内細胞を野生マウスに移入する実験を行った。5R $\alpha^{-/-}$  B-1 細胞は移入 20 日後の生存率が野生 B-1 細胞に比べ 50%に減少した。次に B-1 細胞が減少した環境下での恒常性維持のための増殖における IL-5 の役割を調べるため、CFSE 染色した腹腔内細胞を全リンパ球を欠損している RAG2 $^{-/-}$  マウスに移入した。野生 B-1 細胞数は移入 20 日後 2 倍に増加し、活発な増殖を反映して CFSE 輝度の低下が顕著であった。しかし、5R $\alpha^{-/-}$  B-1 細胞を移入した場合、その細胞数は 1/2 に減少し、CFSE 輝度も保たれていた。これらの結果から、IL-5 は成熟な B-1 細胞が正常数存在する定常状態における生存、B-1 細胞が減少した環境下での恒常性維持のための増殖を制御するなど、B-1 細胞の恒常性維持に重要であることが初めて明らかになった。

4) 腹腔内で IL-5 を B-1 細胞に供給する細胞を探すため、 $\alpha\beta$ T 細胞を欠失する nu/nu マウス、 $\gamma\delta$ T 細胞を欠失する TCR $\delta^{-/-}$  マウス、T 細胞を欠失する TCR $\beta^{-/-}\delta^{-/-}$  マウス、肥満細胞を欠失する W/W $v$  マウスの B-1 細胞の数、細胞径を解析した。nu/nu および TCR $\delta^{-/-}$  マウスでは B-1 細胞数が減少していたが、細胞径は正常であった。W/W $v$  マウスでは細胞数、細胞径ともに正常であった。これらのマウスおよび TCR $\beta^{-/-}\delta^{-/-}$  マウスに抗 IL-5 抗体を腹腔内投与すると全てのマウスの B-1 細胞径の縮小が見られた。T 細胞あるいは肥満細胞のいずれかを欠損させても B-1 細胞の維持に必要な IL-5 の供給は障害されないことから、IL-5 がこれらの複数の細胞群から産生されることが示唆された。

以上、本論文は秘蔵 B 細胞および腹腔内 B 細胞にての解析から、IL-5/IL-5R 系による B 細胞の増殖、分化および維持機構について明らかにした。本研究は、未だ明らかにされていない IL-5 による B 細胞の生体内免疫活性化における意義の解明に重要な貢献をもたらすと思われ、学位の授与に値するものと考えられる。