

審査の結果の要旨

氏名 瀬尾 幸子

本研究は接着分子であるインテグリンの下流にあるアダプター分子 **Cas-L (Crk-associated substrate lymphocyte type)** がリンパ球の分化・機能においてどのように作用しているかを個体レベルで明らかにするため、遺伝子欠損マウスを作製することによりその生理的役割を明らかにしたものである。以下のような結果が得られた。

- 1 **Cas-L** ノックアウトマウスは、正常に出生し、外観、血算、各臓器の組織学的検査では異常は認められなかった。骨髄、脾臓、胸腺、リンパ節、腹腔洗浄液、および末梢血に関して、**Flow cytometry** を用いた一般的なリンパ球分画の解析を行ったところ、脾臓において総細胞数の軽度減少が認められた以外は、コントロールマウスに比べて明らかな違いは認められなかった。しかしながら、末梢B細胞の分化を解析したところ、**marginal zone B細胞**の消失が明らかとなり、同時に濾胞B細胞の軽度増加が認められた。この **marginal zone B細胞**の消失を組織レベルで確認するため、免疫染色を行ったところ、**IgM 陽性、IgD 陰性細胞**である **marginal zone B細胞**がコントロールマウスでは認められるのに対して、ノックアウトマウスでは消失していることが確認された。
- 2 **marginal zone B細胞**の消失が血球系細胞由来のものであるのか、あるいは支持組織などの環境因子によるものであるのかを鑑別するため、骨髄移植実験を施行した結果、野生型マウスに移植されたノックアウトマウス由来の骨髄からは **marginal zone B細胞**はほとんど検出されなかったが、ノックアウトマウスに移植されたコントロールマウス由来の骨髄からは正常に **marginal zone B細胞**が認められた。従って、**Cas-L** ノックアウトマウスにおける **marginal zone B細胞**の消失は **Cas-L** 欠損B細胞自身に由来することが明らかとなった。
- 3 B細胞受容体 (**BCR**) を介したシグナル伝達に異常がないかを検索するため、各

種抗原刺激に対する細胞内カルシウム濃度の測定とB細胞増殖実験を行った。その結果、BCRからのシグナル伝達に明らかな異常は認められなかった。

- 4 **Cas-L** ノックアウトマウスのリンパ球の遊走能を確認するため、末梢リンパ球に対する強い遊走活性化因子である **SDF-1 α** と **BLC** を用いた遊走実験を試みた結果、**Cas-L** 欠損B細胞で明らかに遊走能が低下していることが分かった。さらに辺縁帯での接着能が正常か否か確認するため、辺縁帯における接着に関連していると考えられている **ICAM-1** と **VCAM-1** を用いて解析を行ったところ、予想どおり接着能の低下が認められた。
- 5 遊走能や接着能の低下が各種ケモカインや接着因子に対する受容体の発現の低下と関連しているかどうか調べるため、**flow cytometry** により各分画ごとに各種受容体の発現を調べた。その結果、インテグリン受容体の発現はどの分画でも明らかな差異は認められなかったが、**SDF-1 α** の受容体、**CXCR4** は **marginal zone** B細胞で有意に上昇していることが判明した。このデータの再確認のため、メッセンジャーRNA レベルでの **CXCR4** の発現を定量 **PCR** で調べたところ、**flow cytometry** の結果と同様、ノックアウトマウスで発現の上昇が認められた。

以上、申請者の研究は、インテグリン下流のアダプター分子である **Cas-L** 遺伝子が **marginal zone** B細胞の維持に不可欠であることを明らかにした。**Marginal zone** B細胞は近年、初期免疫に関与する特異的なB細胞分画であることが明らかになってきており、申請者の研究はその維持において細胞接着が重要な役割を担っていることを個体レベルで示した初めての研究である。従って、当研究は学位の授与に十分値するものと考えられる。