

## 論文内容の要旨

論文題目      L-selectin は integrin と協奏してリンパ球の移行を制御し  
免疫応答を司る  
指導教官      玉置邦彦教授  
東京大学大学院医学系研究科  
外科学専攻  感覚・運動機能医学講座  
皮膚科学教室  
氏名      門野岳史

白血球が血管内皮細胞を通り抜けリンパ組織などの血管外の組織へと移行することはリンパ球のホーミング及び炎症局所における生体防御機構において重要である。白血球が血管内皮細胞を通り抜けるメカニズムとして multistep model が提唱されている。それによると、血球はまず血管内皮細胞に対して tethering を起こし、引き続きローリングを開始する。その後血球は固着 (firm adhesion) に至り、transmigration を起こして血管外に脱出すると考えられている。L-selectin は細胞接着分子の一つで、殆どの白血球に恒常的に発現し、血球と血管内皮との間の tethering およびローリングの基盤となる。血球の固着を導く分子としては  $\beta_2$  integrin が知られており、これには LFA-1 及び Mac-1 が含まれ、リガンドとしては血管内皮に発現される ICAM-1 などが知られている。

従来、血球のローリングと固着とは別の機構によるもので連続的に起こると考えられていた。しかし、プラスチック上に固着した ICAM-1 を用いたところ  $\beta_2$  integrin は tethering 及びローリングを導くことが報告され、また in vivo の実験でも、ICAM-1 がローリングに関与することを示唆する結果が得られた。従って、 $\beta_2$  integrin が白血球の固着のみならず tethering およびローリングにも働き、ローリングから固着への綱渡しをすることが考えられた。しかしながら、in vivo では様々な細胞接着因子やケモカインが作用しているため個々の分子の役割のみを検証するのは困難であり、またリンパ球と好中球を鑑別するのも難しい。今回我々はプラスチック上に固着した精製タンパクを用いるのではなく、培養血管内皮細胞に L-selectin のリガンドと ICAM-1 を発現させることにより、L-selectin と  $\beta_2$  integrin とが協奏的にリンパ球のローリングに働いていることをしめした。

具体的には血管内皮由来の hy. 926 細胞に FtVII cDNA をトランスフェクトすること

により L-selectin のリガンドを細胞表面に発現させたもの (926-FtVII 細胞)、および更にこれに ICAM-1 cDNA をトランスフェクトしたものを実験に供し、これらのトランスフェクタントを用いて in vitro にて flow chamber assay を行った。926-FtVII 細胞に ICAM-1 の発現が加わると人リンパ球のローリングは有意に増加し、これはリンパ球のローリングの速度の低下によると考えられた。更に CD18 の発現が低下しているマウスのリンパ球は野生型マウスリンパ球と比べてローリング数が減少し、またローリングの速度も増加していた。また、この CD18 の発現が低下しているマウスのリンパ球は末梢リンパ節への移行が野生型マウスリンパ球と比べて減少していた。同様にレシピエントとして ICAM-1 欠損マウスを用いて野生型リンパ球を移入したところ、野生型リンパ球の末梢リンパ節への移行はレシピエントとして野生型マウスを用いた場合と比較して有意に低下していた。今回の結果により、L-selectin 単独で最初の tethering やそれに引き続くローリングが生じるが、更に ICAM-1 が血管内皮に発現した場合、ICAM-1 は固着を誘導するのみならずリンパ球の L-selectin に依存するローリングを一層効率的にすることを明らかにした。

他の血球の固着を導く分子としては $\beta_7$  integrin が知られている。L-selectin 及び $\beta_7$  integrin は殆どのリンパ球に発現しているが、そのリガンドの分布には組織特異性が見られる。L-selectin のリガンドは主として末梢リンパ節や腸管膜リンパ節の高内皮細静脈に恒常的に見られる一方、 $\alpha_4\beta_7$  integrin のリガンドである MAdCAM-1 は腸管のパイエル板や腸管膜リンパ節の高内皮細静脈及び腸管粘膜固有層の血管に発現している。そのため、L-selectin が欠損するとリンパ球の末梢リンパ節への移行が低下し、 $\beta_7$  integrin が欠損するとパイエル板への移行が低下する。また、この両者が欠損すると末梢リンパ節、パイエル板に加えて腸管膜リンパ節へのリンパ球の移行が低下する。

第2部では、L-selectin 及び $\beta_7$  integrin を欠損したマウスを用いて種々の経路で免疫を行い、こうしたリンパ組織への移行の低下が免疫反応にどのような影響をもたらすかについて検討した。経口免疫を行ったところ、L-selectin 及び $\beta_7$  integrin の両者が欠損すると全ての抗原特異的抗体産生が著しく低下したが、 $\beta_7$  integrin 単独欠損では抗原特異的 IgA 産生のみが低下した。次に、経鼻免疫を行ったところ同じ粘膜組織でも経口免疫とは異なる反応を示した。すなわち抗原特異的抗体産生は L-selectin 単独欠損により著明に減少し、 $\beta_7$  integrin はその補助的役割を示すのみであり、この反応はむしろ経皮免疫に類似した。この結果は、同じ粘膜組織であっても鼻咽頭関連リンパ組織へのリンパ球の移行は $\alpha_4\beta_7$  integrin よりも L-selectin に依

存しており、NALT 及び頸部リンパ節における高内皮細静脈では主として L-selectin のリガンドが発現していることによると考えられた。L-selectin 及び $\beta_7$  integrin の欠損では全身の免疫反応の低下は見られず、また腸管及び腸管関連リンパ組織でのエフェクター細胞数や CD11c 陽性細胞数の減少は明らかでなかった。以上より、L-selectin 及び $\beta_7$  integrin は主としてナイーブリンパ球のリンパ組織への移行を司ることにより組織特異的に免疫応答を制御すると考えられた。