

## 審査の結果の要旨

氏名 矢澤 徳仁

本研究は、獲得免疫において中心的役割をしている B 細胞に特異的に発現する CD19 が、自然免疫において如何にそのシグナル伝達を制御しているか検討している。野生型マウスと CD19 ノックアウトマウス、また野生型および CD19 陰性 B 細胞系列をそれぞれ用いて、LPS、RP105 などの刺激を加えることにより、そのメカニズムについて下記の結果を得ている。

1. B 細胞の自然免疫におけるシグナル伝達に関わる種々のノックアウトマウスを用いて、細胞増殖能を検討している。これまで LPS のシグナル伝達に中心的役割をしている MyD88 のノックアウトマウスの細胞では RP105 刺激に対し正常に増殖するが、CD19 ノックアウト細胞では RP105 刺激による増殖反応が抑制されていた。以上より RP105 刺激、LPS 刺激による B 細胞のシグナル伝達はこれまで他の細胞で明らかにされているような MyD88 を介する経路ではなく CD19 やさらに他の B 細胞特異的な分子を介しそのシグナル伝達をしている可能性が示された。
2. CD19 ノックアウトマウスの細胞表面上の TLR-4/MD-2、RP105 発現量を検討し、その発現は野生型マウスと同程度であった。CD19 ノックアウトマウスの RP105 刺激、LPS 刺激による B 細胞の増殖反応の抑制は細胞表面の発現量によるものではないことが示された。
3. 野生型マウス B 細胞、野生型 B 細胞系列を用いて、LPS と抗 RP105 抗体刺激を加えたところ、CD19 のリン酸化がみられた。また RP105 刺激により CD19 は抗原受容体刺激における主要なシグナル伝達分子である Lyn、Vav、PI-3kinase との結合が示された。RP105 と CD19 の直接の結合は示しては不在だが、ともに RP105 刺激によりラフトへ移行し、シグナル伝達をしている可能性が示された。

4. B細胞系列を用いて検討したところ、CD19の欠損はRP105刺激における種々のシグナルタンパクのリン酸化を減弱していることが示された。またRP105シグナルによりLyn、Vavのリン酸化がみられた。以上よりCD19はRP105刺激において、シグナル伝達分子であるLyn、Vavのリン酸化を制御していることが示された。
5. RP105刺激におけるシグナル伝達経路の下流について検討を加え、CD19欠損細胞ではERKのリン酸化は正常であったが、JNKのリン酸化は減弱していた。以上よりCD19はRP105刺激においてJNK活性を制御していることが示された。
6. RP105刺激によりCD19がPI-3kinaseと結合がみられたことから、細胞内へのカルシウム流入について検討を加えている。RP105刺激により細胞内カルシウムの濃度の上昇はCD19欠損細胞では野生型細胞と比較してその上昇は緩徐であったが、ピークの濃度は同程度であることが示された。以上よりCD19とPI-3kinaseはRP105刺激におけるカルシウム反応を独立的に制御していることが示された。

本研究によりB細胞においてこれまでよく知られているLPSシグナル伝達経路であるTLR4-MyD88を介したシグナル伝達経路ではなく、RP105を介したこれまでに報告されていないシグナル伝達経路を介して、CD19はLPSに対する反応を調節していることが明らかとなった。これはエンドトキシンであるLPSにB細胞がどのように反応しているのかを説明できる新しい概念と考えられる。また本研究によりこれまでB細胞においてTLRのシグナル伝達経路での関与が報告されていない様々のシグナル伝達分子の欠損によりLPS刺激反応が抑制される事実を裏付ける結果を得ている。

以上より、本研究はこれまで解析が進んでいなかった自然免疫シグナル伝達におけるCD19分子の制御機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。