

[別紙 2]

## 審査の結果の要旨

氏名 小林 俊彦

本研究は細菌感染初期に産生される IgG3 クラスの抗体産生メカニズムを明らかにするため、感染初期応答に重要だと考えられている Toll-like receptor (TLR)の機能と IgG3 産生の関係について TLR の遺伝子 KO マウスを用いて解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. TLR とその下流のシグナル伝達分子の KO マウスの血清中の抗体価を解析した結果、ほとんどの TLR シグナルに関与する MyD88 の KO マウスでは顕著な IgG3 の低下を示した。特に、TLR2xTLR4 double KO マウスの KO マウスにおいて MyD88 KO マウス同様に IgG3 の減少が認められたことから、TLR2 あるいは TLR4 のリガンドである LPS やリポペプチドといった細菌表層成分の認識が IgG3 クラスの抗体産生に必要である可能性が示された。
2. RP105 とその共受容体である MD-1 の KO マウスにおいても IgG3 の減少が認められたことについて、RP105 KO B 細胞が TLR2 および TLR4 リガンドに対して増殖応答性が低下し、さらに増殖に伴う Activation-induced cytidine deaminase (AID)の誘導が低下することにその原因を見出した。
3. RP105 KO マウスを用いて *in vivo* における TLR2 および TLR4 リガンド刺激により誘導される抗体産生、および形質細胞への分化を検討した。RP105 KO マウスに TLR2 あるいは TLR4 リガンド投与を行った結果、WT では誘導される IgG3 クラスの抗体産生が RP105 KO マウスでは起こらなかった。それは、RP105 KO マウスでは抗体を産生する Blimp-1<sup>hi</sup>、CD138<sup>+</sup>形質細胞が正常に誘導されな

いことに起因することを示した。

4. RP105 KO、MD-1 KO、TLR2xTLR4 double KO、および MyD88 KO マウスにおける血清中の IgG3 減少の原因が、IgG3 mRNA である $\gamma$ 3 germline transcript ( $\gamma$ 3GLT)の発現低下にあることを定量的 RT-PCR を用いて示した。一方 IgM mRNA である( $\mu$  GLT)には発現量の変動は認められないことを示した。
5.  $\gamma$ 3GLT の制御因子である NF- $\kappa$ B1 の活性化について検討を行った。その結果、B 細胞では RP105 の架橋刺激により NF- $\kappa$ B1 のリン酸化が認められ、また RP105 KO B 細胞では LPS 刺激時の NF- $\kappa$ B1 のリン酸化が減弱していることを発見した。よって RP105 が NF- $\kappa$ B1 を活性化して $\gamma$ 3 GLT の転写を制御している可能性を示した。

以上、本論文はマウス血清 IgG3 の産生機構の解明を目的として、微生物表層に存在する糖や脂質に対する B 細胞活性化の分子機構について詳細に検討を行った。そのメカニズムは TLR2 および TLR4/MD-2 が微生物表層成分を認識し、活性化シグナルを伝達するとともに RP105/MD-1 と会合することで同時に RP105/MD-1 からのシグナルも活性化することであることを示した。本研究は、抗体産生に代表される、病原体に対する宿主の免疫応答への理解を深めるための分子基盤として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。