

## 審査の結果の要旨

氏名 小松 邦 光

「植物レクチンを利用したヒト末梢血単球のプロファイリングと細胞の分画法」と題する本論文は、ヒト末梢血単球に含まれる未知の亜集団を植物レクチンである Jacalin を用いて同定し、さらに分画することによって、その特異的な機能を探索した結果を述べたものである。全体は「序論」、植物レクチンによる単球亜集団の同定: Jacalin 低結合および高結合単球亜集団、「植物レクチンを利用した単球亜集団の分画法: 新規単球亜集団に特異的な機能の探索」、及び「結語」から成る。

最近、植物レクチンのアレイや遺伝子工学技術による改変レクチンライブラリーの作製によって、多数のレクチンと種々の糖タンパク質もしくは細胞との結合パターンを測定し、これによって糖鎖構造を推定し、さらに細胞表面糖鎖に基づく細胞のプロファイリングを行うことが可能になった。本論文の第一章ではこれらの新技術のアウトラインが述べられている。さらに、本研究でヒト単球とその類縁細胞である樹状細胞 (DC) を対象として、特異的な機能を持つ細胞集団を細胞表面糖鎖に基づいて分類し記述することを目指したことの重要性が述べられている。「植物レクチン単球亜集団の同定: Jacalin 低結合および高結合単球亜集団」と題する第二章では、ヒト末梢血から単核球を調製し、抗 CD14 抗体ビーズを用いた磁気細胞分離法によって CD14<sup>+</sup> 単球を単離し、GM-CSF および IL-4 存在下で 7 日間培養して未成熟 DC を誘導し、さらに LPS を添加して 2 日間培養することで成熟 DC を誘導した。即ち異なる分化段階にあるヒト細胞を得た。30 種類のレクチンを用い、ヒト単球もしくは未成熟、成熟 DC への結合をフローサイトメトリー法で解析したところ、各レクチンの細胞に対する結合は分化と成熟の過程で変化し、特に Jacalin は未成熟および成熟 DC に対しては高いレベルで結合するのに対し、単球の中には結合レベルの高い細胞と低い細胞が見られることが明らかにされた。Jacalin の結合性と相関する細胞表面マーカーがあるかどうかを調べるため、Jacalin と 19 種類の白血球細胞表面マーカーを用いて単球の蛍光二重染色を行った結果、CD16 を発現する単球は Jacalin 結合性は高かったが、CD16 を発現しない単球は Jacalin 高結合と低結合の両方の細胞集団を含んでいることが分った。また、糖鎖を認識して細胞移動に関わる L-セレクトリン (CD62L) は Jacalin 低結合の単球に発現していたが、Jacalin 高結合の単球には発現していなかった。単球の分化に伴うレクチン結合性の変化を見ると、SBA、PNA、VVA-B4 の結合レベルが低下することが示された。これらのレクチン及び Jacalin はすべて O 結合型で比較的短い長さの糖鎖を認識するものであり、単球の分化・成熟段階を見分けるのに O 結合型糖鎖が有用であることが示された。また Jacalin で見分けられる亜集団は、既存のマーカーでは記述することのできない亜集団であると結論された。

「植物レクチンを利用した単球亜集団の分画法: 新規単球亜集団に特異的な機能の探索」と

題する第三章では、Jacalin と CD16 で見分けられた単球亜集団をセルソーターで単離することが試みられた。CD16<sup>+</sup>Jacalin<sup>high</sup>、CD16<sup>-</sup>Jacalin<sup>high</sup>、及び CD16<sup>-</sup>Jacalin<sup>low</sup> の三種類の亜集団が得られ、分画後の純度は、それぞれ 90% 以上だった。単離した細胞の形態に、顕著な差異は見られなかった。一方、ケモカインレセプターの mRNA の発現をみると、CD16<sup>+</sup>Jacalin<sup>high</sup> は CX<sub>3</sub>CR1 を強く発現していたが、CD16<sup>-</sup>Jacalin<sup>high</sup> 及び CD16<sup>-</sup>Jacalin<sup>low</sup> はこれを発現せず、CCR2 と CCR5 を高発現していた。Jacalin の結合性と発現するケモカインレセプターの間に関係は見られなかったことから、Jacalin の結合性によって分画された亜集団間の機能的な差異を明らかにするためには、更なる詳細な解析を必要とすることが分かった。

本研究において、学位申請者は O 結合型糖鎖に特異的なレクチンである Jacalin の結合性の違いを利用して、新規の単球亜集団を発見した。さらに Jacalin の結合性と CD16 の発現を組み合わせることで 3 つの単球亜集団を単離することに成功した。これら亜集団に特異的な機能を明らかにすることによって、樹状細胞ワクチンなど免疫療法で効果の高い細胞の調製や、病態に関わる細胞のみにターゲットを絞った治療のデザインなどへの応用が可能となる。このように、本研究は免疫学及び免疫学的な背景に基づく細胞治療の改善に貢献するところが大きく、本研究を行った小松 邦光 は博士(薬学)の学位を取得するにふさわしいと判断した。