

審査の結果の要旨

氏名 結田 浩史

「抗ウイルス免疫の初期応答における形質細胞様樹状細胞上に発現するマクロファージガラクトース型 C 型レクチン 1 の関与」と題する本論文は、ウイルス感染防御の初期に重要な役割を担う樹状細胞の亜集団である「形質細胞様樹状細胞」のマクロファージガラクトース型 C 型レクチン 1 (MGL1/CD301a) を介する新しい制御機構を、この分子のノックアウトマウスを用いることによって明らかにした結果を述べたものである。全体は「研究全体の背景と目的」、「CpG 投与モデルにおける pDC 上に発現する MGL1 の機能解析」、及び「Herpes Simplex Virus-1 感染モデルにおける MGL1 の機能解析」の三部から成る。

樹状細胞 (DC) には起源、機能、臓器分布が異なる複数の亜集団が知られているが、その中で形質細胞様樹状細胞 (pDC) は非常にユニークな特徴を持つ。すなわち、これは抗原取り込み能が低い個体がウイルスに感染した際に強い抗ウイルス作用を持つインターフェロン- α (IFN- α) を速やかに産生し放出する細胞である。pDC の機能を制御する表面細胞分子の詳細については不明であり、マーカーとなる表面分子も限られていたが、最近 pDC 上に MGL1/CD301a が発現する一方、骨髄細胞由来の DC では共発現していることの多い MGL2/CD301b は発現しないことが伝田により明らかにされた。MGL1 の機能は従来、マクロファージや骨髄由来の樹状細胞上に発現し、糖鎖認識による抗原のエンドサイトーシス、糖鎖との相互作用による細胞交通の制御、糖鎖認識による感染寄生体との相互作用、アポトーシス細胞の認識と除去、などに関与することが示されていた。ウイルス感染初期応答における pDC 上に発現する MGL1 の機能解析を目的とする本研究では、主に血管内に侵襲したウイルスを模した CpG-DNA 静脈内投与モデルを用い、さらに Herpes Simplex Virus-1 を用いて、pDC の活性化における MGL1 の役割を、この遺伝子を欠損させたマウスを駆使して明らかにした。

「CpG 静脈内投与時における MGL1 陽性 pDC の臓器内再分布」の章は本研究の主要な部分である。先ず、脾臓における MGL1 陽性細胞の脾臓組織内分布を抗 MGL1 抗体 LOM-8.7 にて検討した結果が述べられている。MGL1 陽性細胞は定常時、脾臓白皮髄内の T 細胞領域や赤脾髄に存在しているが、CpG 投与後 2 時間から 6 時間にかけて、MGL1 陽性細胞が辺縁帯に集積することが明らかとなった。MGL1 陽性細胞の分布は pDC マーカーである mPDCA-1 の分布と一致した。このことから MGL1 陽性 pDC が CpG からの刺激により脾臓辺縁帯に移動することが示唆された。次に、*Mgl1* 遺伝子欠損マウスに CpG を静脈内投与した際の pDC の分布を野生型の場合と比較した。CpG を投与しない *Mgl1* 遺伝子欠損マウスで、脾臓内の pDC の数と分布に野生型との違いは見られなかったが、

CpG 投与後に 8 時間後において集積している pDC 数が野生型では減少するのに対して、*Mgl1* 遺伝子欠損マウスでは減少しなかった。また、経時的に血清中の IFN- α 濃度をサンドイッチ ELISA 法にて定量したところ、投与 8 時間後のマウスにおいて、遺伝子欠損マウスの方が IFN- α の濃度が有意に高いことが明らかとなった。すなわち、MGL1 が IFN- α の産生、分泌を負に制御することを示す重要な発見となった。

学位申請者はさらに、*Mgl1* 遺伝子の欠損により血中 IFN- α 産生量が上昇した原因を追究することを企図した。*Mgl1* 遺伝子欠損マウスと野生型マウスから pDC を単離し、CpG 存在下で 24 時間培養したが、IFN- α 産生に有意な差は認められなかったため、CpG 静脈内投与時における MGL1 リガンド発現細胞の臓器内再分布による細胞間相互作用の変化に焦点を絞った。そこで先ず、MGL1 リガンドを発現する細胞の組織内分布をビオチン標識したリコンビナント MGL1 (brMGL1) を用いて解析した結果、MGL1 リガンドを発現する細胞は定常時、赤脾髄に局在するが、CpG 投与 4 時間後から 8 時間後にかけて辺縁帯に集積することを見出した。すなわち、CpG 投与時に MGL1 陽性細胞と MGL1 リガンドを発現する細胞が同一領域に局在することから、両細胞が相互作用する可能性が考えられた。二重染色による蛍光組織染色法とフローサイトメトリーによる解析の結果、MGL1 リガンドを発現する細胞が好中球 (Polymorphonuclear leukocytes、以下 PMN) であることを見いだした。脾臓細胞を浮遊液として単離調製し、brMGL1、CD11b、及び Gr-1 で三重染色し、表面マーカーを解析した結果、PMN 上に MGL1 リガンドが発現することが確認された。pDC と PMN の相互作用が MGL1 を介する IFN- α 産生に寄与するかを検討するため、両細胞を脾臓から調製し、CpG 存在下で共培養を行った。pDC を CpG で刺激する際に PMN を共存させた場合、産生される IFN- α 量が有意に低かった。このことから PMN との相互作用によって pDC による IFN- α の産生が抑制される可能性が示された。

異常のように本章では、脾臓において MGL1 を発現する pDC はウイルス疑似感染モデルにおいて組織内分布を変えること、また遺伝子欠損マウスを用いた結果から MGL1 が pDC における IFN- α の産生、分泌を細胞相互作用を介して負の方向に制御することが明らかにされた。相互作用の相手は好中球であることが明らかにされ、免疫学的に新しい概念を示す成果となった。

「Herpes Simplex Virus-1 感染モデルにおける MGL1 の機能解析」の章では、*Mgl1* 遺伝子欠損マウスに HSV-1 を経鼻感染させた際、ウイルス除去過程が野生型とは異なることが示された。これまでに pDC 上に発現する糖鎖認識分子の機能に関する報告はほとんどなかったが、本研究により MGL1 が pDC 表面上で機能することによってウイルス感染に対する初期応答を制御することが初めて示された。

以上のように、本研究は抗ウイルス免疫応答における pDC による IFN- α 産生の制御にこの細胞の表面に発現する C 型レクチンが関与することを示す初めての報告である。本研究は、免疫学、感染症学、糖鎖生物学に資するところが大きく、本研究を行った 結田 浩史 は博士(薬学)の学位を取得するにふさわしいと判断した。