

審査の結果の要旨

氏名 山 西 吉 典

本研究は免疫系細胞の機能制御に重要な役割を果たすと考えられるペア型レセプターで、当研究室で新規にクローニングされた leukocyte mono-immunoglobulin-like receptor 5 (LMIR5) について、その発現分布、機能を明らかにするため、特異的抗体、各種ノックアウトマウスを用いて解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. mouse LMIR5 (mLMIR5)の mRNA レベルでの発現パターンを RT-PCR 法を用いて調べたところ、マウス組織では骨髄において高く、肺、大腸にも発現が認められた。また、マウス血球系細胞株や骨髄由来細胞を用いた検討では、マスト細胞、好中球、マクロファージ、樹状細胞といった骨髄球系細胞で発現が認められた。一方、B 細胞、T 細胞といったリンパ球系の細胞には発現が認められなかった。特異的抗体を用いて、マウス血球系細胞を中心に蛋白レベルでの解析を行ったが、同様の結果であった。
2. LMIR5 とアダプター分子 (DAP10、DAP12、FcR $\gamma$ ) を共発現させる実験系で、フローサイトメトリー法により膜表面における LMIR5 の発現をみたところ、mLMIR5 は主として DAP12 によってその発現増強がみられた。一方、human LMIR5 (hLMIR5) は DAP12 および DAP10 の両方で増強が認められた。この結果は、実際の結合をみた共沈実験でも確認された。また、DAP10、DAP12、FcR $\gamma$ ノックアウトマウスの解析では、DAP12 の欠損により骨髄細胞で mLMIR5 の発現が低下しており、mLMIR5 は主に DAP12 と結合することで細胞表面の発現量を維持することが示された。
3. マスト細胞に mLMIR5 を導入し、mLMIR5 を架橋したところ、MAPK、Akt のリン酸化とそれに伴う炎症性サイトカイン (IL-6, TNF $\alpha$ ) やケモカイン (MCP-1) の産生、ヒスタミン放出、接着、細胞生存延長に代表されるマスト細胞の活性化が認められた。またマウス胎児肝由来マスト細胞 (FLMC) では内在性 mLMIR5 の架橋によっても、その活性化がみられた。さらに、ノックアウトマウスを用いた検討で、これらの現象は DAP12 及び Syk 依存的事であることも証明された。
4. mLMIR5 と hLMIR5 の機能をマスト細胞において比較したところ、mLMIR5 とは異なり、hLMIR5 の架橋によるマスト細胞のサイトカイン産生は DAP12 欠損による影響を受けなかった。そこで、mLMIR5 と hLMIR5 のアミノ酸配列を比較したところ、hLMIR5 にのみ細胞内領域に 1 つチロシン残基 (Y188) が認められ、マスト細胞に hLMIR5 を導入し架橋した場合には、DAP12 欠損マスト細胞でのみそのチロシンリン酸化が確認された。さらに、野生型 hLMIR5 あるいは変異型 hLMIR5 (Y188F) を野生型

以上、本論文は新規ペア型レセプターである LMIR5 が骨髄球系細胞に広く発現しており、マスト細胞を活性化する機能を有すること、さらにその活性化機序がマウス由来及びヒト由来 LMIR5 で異なることを明らかにしたものである。その発現分布や機能から、LMIR5 が自然免疫・炎症・アレルギーに関与する可能性が示唆され、免疫関連疾患の予防・治療法開発の面でも重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値すると考えられる。