

# 論文審査の結果の要旨

氏名 秦 俊文

本論文は二次リンパ器官に於けるB細胞濾胞の形成や維持におけるシグナル伝達因子 TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6) の役割について述べられている。

二次リンパ器官はリンパ細胞の増殖や分化、獲得免疫応答等を行う。二次リンパ器官が効率的に機能するためにはその微細構造形成が必須である。この微細構造形成には、 $Lt\beta R$  シグナル伝達経路や TNFR1 シグナル伝達経路が必要であることが報告されてきた。また、B細胞濾胞の形成や維持には、ケモカイン CXCL13 とそのレセプターCXCR5 は重要な役割を担っていることが明らかになっている。

TRAF6 は、細胞表面レセプターからのシグナルを細胞内で伝達して、NF- $\kappa$ B や AP-1 の活性化を誘導し、細胞の増殖や分化を制御する分子である。TRAF6 は一次リンパ器官である骨髄腔の形成や胸腺髄質の微小環境形成に不可欠であり、二次リンパ器官であるリンパ節の形成にも必須であることが解明されている。

本論文では、TRAF6 欠損マウスを用いて、脾臓微細構造を解析し、初めに白脾髄ではT細胞領域が認められるものの、獲得免疫応答に重要であるB細胞濾胞や濾胞樹状細胞の形成に TRAF6 が必要であること明らかにした。さらに、TRAF6 欠損によりB細胞数が減少することや、辺縁部が欠損することも判明した。これらの結果は、TRAF6 が脾臓の微細構造の構築に必須な因子であることを示している。TRAF6 欠損マウスにおける脾臓微細構造異常は既に報告されている  $Lt\beta R$  シグナル伝達経路に関わる因子の欠損マウスの表現型と類似している。

次に、B細胞濾胞形成の時間的推移を検討した。B細胞濾胞形成過程は最初のB細胞のクラスター形成とその後の濾胞形成の二段階に分かれている。解析より、TRAF6 はB細胞のクラスター形成に必要ではなく、濾胞形成と維持に必須であることを明らかとなった。これに対して、 $Lt\beta R$  シグナル伝達経路はクラスター形成にも必須であることから、TRAF6 は  $Lt\beta R$  シグナル伝達経路に関与しない可能性が示唆された。実際、TRAF6 欠損 MEF 細胞を用いて、TRAF6 は  $Lt\beta R$  シグナル伝達経路で機能しないことが明らかとなった。

一方、TNFR1 シグナル伝達経路も B 細胞濾胞形成に必須であることが報告されてきた。しかしながら、TRAF6 欠損に於いては、TNF $\alpha$ 、TNFR1、Lt $\alpha$ 、Lt $\beta$  及び Lt $\beta$ R の発現に影響が認められなかった。TRAF6 は TNFR1 シグナル伝達経路に関与しないことがすでに明らかになっていることから、B 細胞濾胞形成、維持を制御する機構には、少なくとも 3 種類のシグナル伝達経路があることを示唆している。すなわち、TNFR1 シグナル伝達経路、Lt $\beta$ R シグナル伝達経路、TRAF6 依存性シグナル伝達経路である。

濾胞樹状細胞はケモカイン CXCL13 を発現することで、CXCR5 を発現する B 細胞を誘引し、B 細胞濾胞を形成、維持する。TRAF6 欠損では B 細胞上の CXCR5 の発現に影響が認められなかった。一方、B 細胞濾胞形成各段階の濾胞樹状細胞で発現する CXCL13 の発現変化を検討したところ、CXCL13 の発現誘導は生後 8 日目以降では TRAF6 に依存することが明らかとなった。

B 細胞濾胞は B 細胞と濾胞樹状細胞等の濾胞ストローマ細胞により構成される。TRAF6 欠損マウス B 細胞濾胞の異常が、B 細胞などリンパ球に原因があるのか、ストローマ細胞に原因があるのかについて検討を行った。TRAF6 欠損マウス肝臓由来の造血幹細胞を RAG2 欠損マウスに移植したところ、B 細胞濾胞の再構築が認められた。一方で TRAF6 欠損 B 細胞を RAG2 欠損マウスに移植すると、B 細胞濾胞の再構築が確認されたが、大量の野生型 B 細胞を TRAF6 欠損マウスに移植しても、B 細胞濾胞の回復が認められなかった。これら一連の結果は、TRAF6 欠損マウスに於ける B 細胞濾胞の形成異常が B 細胞に起因せず、濾胞ストローマ細胞に起因することを示している。また、TRAF6 のこの制御機構がパイエル板においても確認された。

本研究では、TRAF6 依存性シグナル伝達経路が、二次リンパ器官の発生段階で Lt $\beta$ R シグナル伝達経路と異なる時期で作動し、B 細胞濾胞の形成や維持を制御すること及び TRAF6 依存性シグナル伝達経路が濾胞ストローマ細胞の CXCL13 の発現を誘導し、B 細胞濾胞の形成や維持に機能することを明らかにした。

なお、本論文は、金野弘靖、大島大輔、箭内洋見、茂木秀彦、下茂佑輔、廣田史子、松本満、高木智、井上純一郎、秋山泰身との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。