

審査の結果の要旨

氏名 ・本 裕美子

本研究は生体防御において極めて重要な役割を果たしていると考えられる B 細胞の活性化機構、主として抗体産生・クラススイッチ組み換え (CSR) について解析を行った。

実験系としてマウス脾臓 B 細胞を抗 CD38 抗体、および IL-4 により共刺激を与える系を用いた。この系では IgG1 への CSR が誘導されない。そこで、この系に別種の刺激を添加することで CSR が誘導されるのではないかと考え、そのような因子の探索を開始した。その結果、以下のような結論を得た。

1. B 細胞分化を誘導するとして知られていたグアノシンの 8 位置換体である 8-メルカプトグアノシン (8-SGuo) を抗 CD38 抗体、IL-4 により共刺激した B 細胞に添加すると IgG1 産生を誘導した。他のヌクレオシド置換体により同様の効果が得られるかどうか検討したところ、8-SGuo、8-ブロモグアノシン (8-BrGuo) という 2 種類のグアノシン 8 位置換体が抗 CD38 抗体、IL-4 の共刺激系に添加した場合に IgG1 産生を誘導することが示された。
2. 既知の Toll 様受容体 7 リガンドであるロキソリビン (lox) はグアノシンの 7、8 位が置換された構造である。Lox に関しても抗 CD38、IL-4 の共刺激系に添加したところ IgG1 産生細胞への分化を誘導した。一方、TLR7 ノックアウトマウスの脾臓 B 細胞を用いて同様の系で解析したところ、8-SGuo、8-BrGuo、lox による IgG1 産生細胞への分化が見られなかった。このことから、8-SGuo、8-BrGuo も lox と同様に TLR7 を介して細胞内にシグナルを伝えていることが明らかになった。
3. 抗 CD38 抗体、および 8-SGuo の共刺激では IgM 産生は誘導したが IgG1 産生は誘導しなかった。このため、抗 CD38 抗体、IL-4、8-SGuo による共刺激では IL-4、8-SGuo が IgG1 産生に必要な因子を相補的に誘導しているのだろうと考えられた。そこで、IgG1 への CSR の各ステップに必要な因子を IL-4 や 8-SGuo が誘導しているかどうか解析を行った。

抗 CD38 抗体および IL-4 のみにより刺激した脾臓 B 細胞では CSR のマスター遺伝子である AID が発現せず、8-SGuo の添加により AID の発現が誘導されていた。また、抗 CD38 抗体および IL-4 のみにより刺激した脾臓 B 細胞に pMY ベクターを用いて AID を強制発現させると IgG1 へのクラススイッチ組み換えを誘導した。したがって、8-SGuo は AID を発現させることでクラススイッチ組み換えに寄与していることが明らかになった。

抗 CD38 抗体および 8-SGuo のみにより刺激した脾臓 B 細胞では、CSR に必要とされる段階のうちゲノム DNA 切断までは検出されたが、その後の非相同 DNA 末端結合により産生されるはずのスイッチサークルが検出されず、CSR が完了しないことが分かった。したがって、IL-4 はゲノム DNA の修復を促進する因子を誘導することにより

CSR に寄与していることが示唆された。

4. 既知の TLR7 リガンドである lox と 8-SGuo の機能の比較を行った。脾臓 B 細胞においては抗 CD38 抗体、IL-4 との共刺激下で同程度に IgG1 産生細胞への分化を誘導したが、lox は 8-SGuo より効果的に B 細胞増殖を誘導することが出来た。また、ミエロイド系の細胞である樹状細胞やマクロファージは lox 刺激下においてサイトカインを産生するが、8-SGuo 刺激はサイトカイン産生を全く誘導しなかった。一方、プラズマサイトイド樹状細胞を用いた解析では 8-SGuo 刺激により lox 刺激同様のサイトカイン産生を誘導することが出来た。このことから、8-SGuo と lox は TLR7 を介してシグナルを伝達するが、細胞によってその反応性が異なることが明らかになった。

以上、本論文は TLR7 を介してシグナルを伝える新規分子として 8-メルカプトグアノシンを同定し、CSR を中心としてその機能の解析を行った。本研究は、DNA 修復が進行しないために CSR が完了しない系を初めて試験管内において確立した。また、細胞種により TLR7 リガンドの反応性が異なることを発見し、CSR の分子的解析、TLR7 の機能解析におい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。