

## [課程—2]

### 審査の結果の要旨

氏名 中島 広子

本研究は、近年存在が示唆されている免疫反応を抑制的に制御する B 細胞についてより明らかにするため、CD22 欠損マウスを用い、接触過敏反応(CHS)における CD22 の役割を検討し、T cell-mediated reaction のプロトタイプと考えられている CHS での B 細胞の重要性を考察したもので、下記のような結果を得ている。

1. CD22 欠損マウスで、CHS からの回復が野生型より遅延することが判明した。この結果は抗原特異的なものではなく、病理組織学的にも示された。CD22 欠損マウスは、既知の CHS を抑制しうるリンパ球分画、脾臓 CD5+CD1dhiB 細胞やリンパ節 CD4CD25 抑制性 T 細胞を野生型と同等に有しており、これ以外の機序による可能性が考えられた。

2. 感作した野生型または CD22 欠損マウスの鼠径リンパ節の全細胞、T 細胞、B 細胞を、それぞれ未感作の野生型または CD22 欠損マウスに移入し、翌日 recipient マウスを惹起した。すると、recipient が CD22 欠損マウスの場合は回復が遅延した。T 細胞のみを単離して移入した場合には、全細胞を移入した場合とほぼ同等の CHS が誘導され、B 細胞単独を未感作マウスに移入しても誘導されなかった。感作されたリンパ節 T 細胞があれば donor の CD22 の有無によらず惹起できるが、recipient マウスの CD22 発現が CHS の正常な収束に必要なことが示された。

3. 腹腔内、リンパ節・脾臓の T 細胞と B 細胞についての adoptive cell transfer と、血清の transfer を行った。未感作もしくは感作した野生型 donor から感作 5 日後の CD22 欠損マウスに移入し、翌日惹起した。いずれも CHS は PBS を静注した場合と同等に惹起されたが、腹腔内 B 細胞を移入した CD22 欠損マウスの

みが早く収束した。一方、未感作もしくは感作した CD22 欠損マウスを donor、感作 5 日後の野生型マウスを recipient として同様の adoptive cell transfer を行い惹起したところ、いずれも CHS は control とほぼ同等に惹起され回復した。従って、野生型腹腔内 B 細胞には CD22 欠損マウスで遷延する CHS を収束させる作用があることがわかった。また、CD22 欠損腹腔内 B 細胞は、野生型マウスの CHS を増悪させることはないことも示された。

4. 未感作もしくは感作した野生型マウスから腹腔内の CD5 陽性細胞と CD5 陰性細胞、CD11b 陽性細胞と CD11b 陰性細胞を得て、それぞれ感作した CD22 欠損マウスに移入し、翌日惹起した。CD5 陽性 B 細胞と CD11b 陽性細胞を移入すると早く収束したが、陰性細胞を移入した場合には CHS が遷延した。野生型の腹腔内 CD5 陽性 B 細胞、すなわち腹腔内 B-1a 細胞が CHS への抑制作用を持つ可能性が考えられた。

5. CD22 欠損マウスでの腹腔内 B-1 細胞の profile を flow cytometry で検討したところ、CD22 欠損マウスでは腹腔内の B-1 細胞、B-1a 細胞、B-1b 細胞のいずれも増加していた。

6. 既報告の B 細胞の抑制性作用は IL-10 を介するものが考えられている。そこで、腹腔内 B 細胞での感作前、惹起 2 日後の IL-10 産生について real-time PCR を用いて検討した。CD22 欠損腹腔内 B 細胞の IL-10 産生は、惹起後野生型と同等に亢進していた。従って CD22 欠損腹腔内 B-1a 細胞は野生型と同等の IL-10 産生能を有することがわかった。

7. CD22 欠損マウスではシアル酸リガンドを介した組織への遊走、保持が障害されている可能性が指摘されている。そこで、PKH-26 と calcein-AM を用いた two-color staining migration assay で、CD22 欠損腹腔内 B 細胞と野生型腹腔内 B 細胞について、惹起後の脾臓やリンパ節への分布について検討した。惹起 5 日後で、野生型マウス由来 B 細胞がより多く脾臓やリンパ節に分布しており、CD22 欠損マウスでは野生型に比べリンパ組織への分布が減少している可能性が示唆された。回復期に、リンパ組織に保持される機能、リンパ組織での生存

能, もしくは遊走してくる機能が障害されるか, いずれかが考えられた。

7. CD22 欠損マウスの CHS は、急性期反応は野生型と同等で、回復のみが遷延するのが特徴的であった。急性期の増悪と回復期の遷延の両方がある CD19 欠損マウスを用いて adoptive cell transfer を行った。未感作の野生型マウス, CD22 欠損マウスから腹腔内 B-1a 細胞 (CD5 陽性 B 細胞) を得て, 感作 5 日後の CD19 欠損マウスに移入し, 翌日惹起した。野生型腹腔内 B-1a 細胞は, CD19 欠損マウスにおいても CHS からの回復を促進するが, 急性期の増悪は改善しなかった。また, CD22 欠損腹腔内 B-1a 細胞では, この作用がなかった。この結果より, CHS の惹起相はさらに急性期と回復期に分けられ, 各々で異なる抑制性の機序が働くこと, そして腹腔内 B-1a 細胞はこのうち回復期で抑制作用を発揮することが示唆された。

以上, 本論文では, CHS を抑制的に制御する新しいリンパ球分画を同定し, 腹腔内 B-1a 細胞が CHS の惹起相のうち回復期を抑制すること, また CD22 が欠損すると腹腔内 B-1a 細胞のリンパ組織での生存, もしくはリンパ組織への遊走が障害され, 回復期での IL-10 などを介した抑制作用が発揮できないことが示唆された。抑制性 B 細胞の解明に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。