

審査の結果の要旨

氏名 長竹 貴広

免疫応答の場となる二次リンパ組織の形成過程は末梢リンパ組織 (Peripheral lymph node: pLNs) や腸管のパイエル板 (Peyer's patch: PP) を対象に解析が進んできた。これまで、pLNs や PP がともに類似した分子機序により発達することが知られていたが、呼吸器粘膜の鼻咽頭関連リンパ組織 (Nasopharynx-associated lymphoid tissue: NALT) は pLNs や PP で用いられる分子に依存せず、その組織形成機構は不明であった。また、涙器粘膜に発達する涙道関連リンパ組織 (Tear duct-associated lymphoid tissue: TALT) の組織形成機構、免疫学的機能についてはこれまでほとんど知見がなかった。本研究はこれら粘膜関連リンパ組織 (PP、NALT、TALT) の組織形成機構について様々な遺伝子改変マウスを用いて分子・細胞メカニズムの解明を試みたものである。また、眼免疫系における TALT の免疫学的役割について検討した研究論文である。おもに下記の結果を得ている。

1. これまでヒトの涙道にその存在が報告されていた TALT をマウスにおいて初めて同定した。PP を含む多くの二次リンパ組織形成が胎生期に行われるのに対し、TALT は NALT と同じく生後 7 日ころより組織形成が開始された。この時期、TALT 原基や NALT 原基には二次リンパ組織の形成初期段階ではたらくことが知られる $CD3^-CD4^+CD45^+$ リンパ組織誘導細胞が集積することが示された。
2. これまで単一の細胞群と考えられてきた $CD3^-CD4^+CD45^+$ リンパ組織誘導細胞を転写制御因子 Id2 と ROR γ t への依存性と、CD4 発現レベルにより 3 つの異なった粘膜関連リンパ組織誘導細胞サブセットに分画できうることを示した。PP 誘導候補細胞 (PPi 候補細胞) は Id2、ROR γ t 依存的な $CD3^-CD4^{High}CD45^+$ 細胞で規定できる可能性を示したのに対し、NALT 誘導候補細胞 (NALTi 候補細胞) は Id2 依存的、ROR γ t 非依存的 $CD3^-CD4^{Low}CD45^+$ 細胞となることを示唆した。TALT 誘導候補細胞 (TALTi 候補細胞) は Id2、ROR γ t 非依存的な $CD3^-CD4^{Low}CD45^+$ 細胞で規定できる可能性を提唱した。

3. NALTi 候補細胞と TALTi 候補細胞には、PPi 候補細胞に発現が認められる二次リンパ組織形成分子（例: $LT\alpha$ 、 $LT\beta$ 、 $IL-7R\alpha$ 、 $RANK$ 、 $CXCR5$ 、 $CCR7$ ）の発現が認められなかった。この事実と一致して、TALT 組織形成が PP 形成因子に非依存的に起こることが示された。これは、TALT、NALT の組織形成が PP や pLNs とは異なった分子機構によって形成されることを示している。
4. NALTi 候補細胞と PPi 候補細胞との間で cDNA サブトラクション解析を行い、NALTi 候補細胞に IRF1 が高発現することを見いだした。*Irf1*^{-/-}マウスの NALT 原基には NALTi 候補細胞が観察されず、NALT が形成されなかった。一方、*Irf1*^{-/-}マウスの PP や pLNs、TALT の組織形成は野生型マウスと同じように認められた。したがって、IRF1 は二次リンパ組織形成において NALT 特異的な転写因子と考えられた。
5. PPi 候補細胞、NALTi 候補細胞、TALTi 候補細胞には転写制御因子 $Cbfb2$ が発現することを見いだした。*Cbfb2*^{-/-}マウスは PP が欠損することが報告されていたが、あらたに NALT や TALT も欠損することを明らかとした。したがって、 $Cbfb2$ は粘膜関連リンパ組織形成において共通に用いられる必須の因子であると考えられた。
6. TALT の免疫学的構造を検討すると、B 細胞、T 細胞領域が明瞭にわかれ、濾胞関連上皮層の直下には多くの樹状細胞が見いだされた。また、TALT の濾胞関連上皮層には M 細胞が同定された。これらの免疫学的構造の特徴は NALT や PP など他の粘膜関連リンパ組織とよく似ていた。
7. 緑膿菌やサルモネラ菌を点眼投与すると、数多くの細菌が TALT に取り込まれていた。その中には、M 細胞と接着している細菌、濾胞関連上皮層直下の樹状細胞に捕捉された細菌なども観察され、TALT が抗原取り込みに続いて免疫応答の惹起に重要な場として機能する可能性が示唆された。

8. コレラトキシンを点眼投与すると、TALT で胚中心反応が観察された。さらに、抗体クラススイッチ反応に重要な AID の発現が誘導された。抗原特異的 T 細胞、B 細胞応答が FACS 解析、ELISPOT 解析によって示された。コレラトキシン特異的 T 細胞が TALT において高頻度で観察され、また、コレラトキシン特異的 IgA 産生細胞が涙道粘膜に出現した。これらの結果は、TALT が眼免疫応答において免疫誘導組織として機能することを示唆している。

以上、本論文は実験動物（マウス）を用いて TALT の免疫学的解析を行った初めての研究であり、TALT が眼免疫系の免疫誘導組織として機能することを明らかとした。本研究はさらに、粘膜関連リンパ組織形成における分子・細胞メカニズムを詳細に解析し、腸管の PP、呼吸器の NALT、涙器の TALT がそれぞれ異なった組織形成プログラムによって形成されることを示した。これらの結果は、各粘膜関連リンパ組織が類似した構造、機能をもつこととは対照的に、その組織形成はユニークな分子・細胞機構によって行われることを示唆している。本研究成果は粘膜免疫系を対象にした炎症・免疫反応の理解、制御に向け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。