

審査の結果の要旨

氏名 蔵品 良祐

「大腸マクロファージによる腸内常在細菌の認識と炎症応答の抑制」と題する本論文は、共生細菌が腸管壁から組織内に浸潤した際に、これが炎症と免疫応答を惹起しないのは如何なる理由によるのかを解明するための重要な知見を提供するものである。樹状細胞及びマクロファージのみに発現するC型レクチンであるマクロファージガラクトースC型レクチン1 (MGL1) の遺伝子を欠損するマウス (*Mgl1*-KO マウス) では、実験的炎症性大腸炎が野生型マウスより重篤になることが既に知られていた。腸管組織において、MGL1を発現している細胞は結合組織内に分布する腸管マクロファージのみであり、この腸管マクロファージは共生細菌である *Streptococcus sp.* 菌体を認識するとこれに応答して抑制性のサイトカインであるIL-10を産生分泌することも知られていた。*Mgl1*-KOマウスではIL-10の産生誘導は起こらなかった。そこで学位申請者は、腸管マクロファージのMGL1による菌体成分の認識がIL-10の産生と分泌に至る過程を分子レベルで詳細に検討することとした。

本論文は3章から成り、第1章では *Streptococcus sp.* 菌体表面に存在するMGL1に結合する分子の同定を目指した研究の結果が、第2章では菌体認識によって腸管マクロファージに発生するシグナルの実体を解析した結果が、第3章ではプロバイオティクスとして知られているヒトの共生細菌でも同様の応答が腸管マクロファージに誘導されるかを明らかにした結果が述べられている。

「MGL1による腸内常在細菌の認識およびMGL1結合性の分子の同定」と題する第1章では、菌体によって誘導される腸管マクロファージによるIL-10産生がMGL1の糖に対する結合を拮抗的に阻害するモノクローナル抗体によって有意に低下したことから、IL-10産生を誘導するMGL1の役割は菌体の認識であることが明らかとなった。また、MGL1に認識される菌体成分はグアニジン塩酸で抽出されるPHA-L4結合性の成分であることが示された。以上の結果は腸内の恒常性維持において糖鎖含有分子の構造的な特徴に基づく分子認識が重要であることを初めて示すものである。

「腸内常在細菌によるIL-10の発現誘導に至るシグナル伝達経路の解明」と題する第2章では、腸管マクロファージにおける *Streptococcus sp.* 菌体によるIL-10産生誘導における、免疫細胞に特徴的なレセプターアダプター分子やシグナル伝達分子の役割を解明した。Sykの関与、CARD9の関与が示された一方、*MyD88*-KOマウス由来の腸管マクロファージではIL-10産生誘導は

影響を受けておらず、*Streptococcus sp.* 菌体への応答にTLRファミリー分子は関与していないという意外な結果が得られた。この結果は、腸管マクロファージが細菌と宿主の共生の場を形成する上で重要な役割を果たし、MGL1による糖鎖認識がその引き金となっていることを強く示唆するものである。

「各乳酸菌株のMGL1に対する結合とIL-10の発現誘導活性」と題する第3章では、プロバイオティクスである乳酸菌が、MGL1に結合するか否か、MGL1依存的に腸管マクロファージにIL-10産生を誘導するか、またこれがCARD9依存的であるかが検証された。*L. casei*、*L. gasserii*、*L. delbrueckii subsp. brugaricus*はMGL1に結合したが、*L. rhamnosus*はMGL1に結合しなかった。大腸マクロファージに、これらの乳酸菌を添加してIL-10の遺伝子発現が誘導されるかを検討した結果、MGL1に結合する菌と培養した場合ではIL-10の遺伝子発現が誘導されたが、結合しない菌と培養した場合には起こらなかった。またこのIL-10産生はMGL1に依存していることが*Mg11-K0*マウス由来の大腸マクロファージを用いることにより明確に示された。*Mg11-K0* または*Card9-K0*マウス由来大腸マクロファージでは、乳酸菌によるIL-10の遺伝子発現誘導は起こらなかった。以上の結果から、これらの乳酸菌は大腸マクロファージにおいてMGL1依存的にIL-10の産生を誘導し、既に知られていた乳酸菌による大腸炎の改善効果に大腸マクロファージのMGL1を介するIL-10の発現誘導が関与している可能性を示した。

本研究は、MGL1を発現する細胞においてこれに対するリガンドとの結合によってサイトカイン遺伝子の転写が誘導されることが示された初めての例であり、その機構を一部ではあるにせよ解明した意義は大きい。さらに、乳酸菌によってもMGL1依存的に大腸マクロファージのIL-10遺伝子の発現が誘導されることが示され、プロバイオティクスの作用機序を解明するための一助となる可能性が高い。これらの結果は、糖鎖生物学、実験病理学及び免疫学に資するところが大きい。よって、本研究を行った蔵品良祐は博士(薬学)の学位を得るにふさわしいと判断した。