

5/20/09
(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目 Cross-linking cell surface chemokine receptors leads to
isolation, activation and differentiation of monocytes into
potent DC's

(ケモカイン受容体架橋を介するヒト単球の分離、活性化及び機能的樹
状細胞への分化)

氏名 仁村 文和 (印)

単球(monocyte)は、組織への遊走と分化を司る複数の種類のケモカイン受容体を細胞表面上に発現する。本研究では、ケモカイン受容体の一つである CCR5 に対する特異的単クローン抗体(T312 抗体)をコーティングしたプレート上でヒト末梢血単核球(PBMC;リンパ球と単球を含む)を一晩培養することにより、多数の単球がプレート上に接着する新たな事実を見出した。イムノグロブリンアイソタイプコントロール抗体では、このような現象が起きなかった。また、可溶性の T312 抗体は、このような単球接着効果を示さなかったことより、単球表面上の CCR5 の強制架橋が単球の接着誘導に必須であることが示唆された。T312 抗体による単球の接着は、G 蛋白のシグナルを伝達する PI3-K の阻害剤または細胞外マトリックスの受容体である $\beta 2$ インテグリン共通鎖 CD18 に対するブロッキング抗体で著明に阻止された。CCR5 の架橋によって、単球は活性化され、高レベルの M-CSF, RANTES,

MIP-1 α , 及び MIP-1 β の産生とともに、単球細胞表面の CD14, CD4, CCR5, CXCR4 のダウンモジュレーションが観察された。興味あることに、T312 でプレート上に接着した単球は、IL-4 のみの添加培養により樹状細胞 (DC) に分化した。これらの DC を IFN- β 添加により成熟させ、アロのナイーブ CD4+T 細胞と混合培養すると、CD4+T 細胞の増殖と高レベルの IFN- γ の産生を誘導した。さらに、ヒト PBMC を移植する免疫不全マウス (hu-PBL-SCID) の系において、この成熟 DC は、抗原特異的な T 細胞応答及び B 細胞応答を誘導した。最後に、単球に発現する CCR5 以外のケモカイン受容体に対する幾つかの単クローン抗体をスクリーニングした結果、ある種の抗 CCR3 及び抗 CXCR4 単クローン抗体は、T312 と同様に架橋による単球の活性化及び分化誘導効果を示すことを突き止めた。以上の結果より、単球上のケモカイン受容体を適当な単クローン抗体で強制的に架橋することに

より、単球の活性化と分化が誘導されることが明らかになり、そして本研究で開発した手技は PBMC から単球を簡単に分離し、機能的 DC へ分化させる新たな方法論として応用が期待される。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	仁村文和
		平成18年 2月24日		
論文審査委員	主査教授		松崎 吾朗	(松)
	副査教授		田中 福夫	(田)印
	副査教授		高須 信行	印 (高)
(論文題目) Cross-linking cell surface chemokine receptors leads to isolation, activation, and differentiation of monocytes into potent DCs.				
(論文審査結果の要旨)				
<p>1. 研究の背景と目的：強力な抗原提示能を有する樹状細胞 (DC) を応用した治療が注目されているが、そのためにはヒト DC の簡便な調整が求められる。これに対して、本研究では、抗ケモカインレセプターCCR5 抗体 (T312) を用いた新しい簡便な DC 作成法を開発した。</p> <p>2. 研究内容：ヒト末梢血単核球を T312 抗体でコートした培養ディッシュ上で培養することにより、単球が Integrin CD18 依存性、PI3kinase 依存性に効率よくディッシュに付着することが明らかとなった。次に、この単球を試験管内で DC に分化させることを試みた。通常の単球を DC に分化させるには GM-CSF と IL-4 の2種類のサイトカインを用いるが、T312 抗体で付着させた単球は IL-4 のみで効率よく DC に分化した。さらに、この T312 抗体誘導 DC は、通常の DC に比べて補助刺激分子 CD86 の発現が高く、かつ T 細胞の IFN-γ 産生 Th1 型反応をより強く誘導することが判明した。また、ヒト免疫応答を実験動物で再現できる hu-PBL-SCID マウスを OVA パルスした T312 抗体誘導 DC で免疫すると、抗原特異的 T 細胞応答と抗体産生が誘導された。このような効率の良い Th1 型 DC の誘導能を、幾つかの異なる抗 CCR5 抗体、および他のケモカインレセプター抗体で検索したところ、幾つかの抗体で同様な活性化認められた。以上の結果から、抗ケモカインレセプター抗体を用いた DC 誘導は、新しい DC 調整法として有効であることが判明した。</p> <p>3. 研究の成果の意義と学術的水準：本研究は、現在、臨床的に求められる簡便な DC 調整法を開発した点で、大きな意義がある研究であるが、そのみでなく、その誘導メカニズムの細胞生物学的解析、および hu-PBL-SCID マウスによるヒトリンパ球応答誘導の評価まで行っており、学術的な水準も非常に高いものである。</p> <p>以上の結果から、本論文は学位授与に十分値するものと判断した。</p>				

- 備考 1 用紙の企画は A4 とし縦にして左横書きとすること。
 2 要旨は 800~1200 字以内にまとめること。
 3 *印は記入しないこと。