

「免疫難病・感染症などの先進医療技術」

平成14年度採択研究代表者

清野 宏

(東京大学医科学研究所 感染・免疫大部門 炎症免疫学分野 教授)

## 「M細胞の免疫生物学的解明とそれを標的とする粘膜ワクチンの開発」

### 1. 研究実施概要

#### 1. パイエル板由来M細胞の特徴とその解明に向けた細胞・分子基盤研究

マウス由来上皮細胞は膜抗原を構成する糖鎖の違いからレクチンによりM細胞と上皮細胞を識別する事が可能である。我々は既に蛍光色素を結合させたUlex Europaeus Agglutinin (UEA)とWheat Germ Agglutinin (WGA)によってM細胞(UEA-1<sup>+</sup>, WGA<sup>-</sup>)と上皮細胞(UEA-1<sup>-</sup>, WGA<sup>+</sup>)を免疫組織切片上ならびにFACSで識別する事に成功している。パイエル板上皮細胞層からUEA<sup>+</sup>, WGA<sup>-</sup>分画をM細胞として効率よく分離し、モノクローナル抗体作成用抗原とDNAチップ用のmRNA調整を進めている。一方、ブタM細胞特異的サイトケラチン18抗体を用いて回腸終末部パイエル板にはM細胞がマウスに比較して高頻度で存在している事実を確認し、ブタ由来のM細胞を使いmRNA及びモノクローナル抗体作成用抗原の調整も進めている。既に新規上皮細胞特異的モノクローナル抗体産生細胞の作成に成功した。それを使ったM細胞のネガティブセレクションによる精製・分離法を開発している。

#### 2. M細胞誘導メカニズム解明に向けてのNALT組織形成統御因子探索プロジェクト

腸管パイエル板と比較して、呼吸器粘膜免疫系の中核と考えられるNALTについては、M細胞をはじめとして、その基礎的解明はまだ不十分である。そこで、最初にNALT組織構築のユニーク性とそれを統御する種々の因子を明らかにし、その因子が実際にM細胞の分化・発達へ関与しているか検討していく。NALTとパイエル板の組織形成原基細胞は共通の表現型(CD3<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>)を有するが、各々の組織形成開始時期(NALTは出生直後、一方パイエル板は胎生期15.5-17.5日)とそれを誘導・制御するサイトカインは全く異なる。そこで、胎生期腸管と新生児マウス鼻腔よりCD3<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>細胞の分離法と培養系の確立を進めている。さらに、分離細胞からmRNAを精製し、まずNALT組織形成の誘導に既知分子が関与しているかどうかをリアルタイムPCR法等で探索するとともにDNAチップ法も駆使して腸管と鼻腔の両者細胞群を比較しながらNALT形成に特有かつ不可欠な因子(例: サイトカイン)とその受容体の探索を進めている。

## 2. 研究実施体制

清野 宏グループ

### ① 研究分担グループ長：

清野 宏（東京大学医科学研究所 感染・免疫大部門 炎症免疫学分野 教授）

### ② 研究項目

- (1) パイエル板M細胞特異的抗原ならびに関連遺伝子の同定・分離しM細胞免疫生物学的特徴の解明

研究分担者：野地 智法、幸 義和、寺原 和孝、五十嵐 脩、朴 恩正

- (2) NALT関連CD3<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>細胞を中心としたM細胞誘導メカニズムの解明

研究分担者：福山 聡、廣井 隆親

- (3) M細胞をターゲットとした「M細胞標的粘膜ワクチン」の開発

研究分担者：幸 義和、野地 智法、日野 綾子、権 美那