

「免疫難病・感染症等の先進医療技術」
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 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. 研究実施の概要

- (1) パリエル板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

パリエル板M細胞特異的分子をDNA-chip/In situ hybridizationにて同定・単離し、現在約100個の遺伝子に関して、確認作業を進めている。さらに、従来のパリエル板由来M細胞と我々が発見したVillous M cell間における特異性と共通性の検討を進める。また、パリエル板由来M細胞特異的mAbの作出を進め、その特異性を検討している。

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

NALT由来のCD3⁻CD4⁺CD45⁺細胞を分離し、パリエル板由来の同種細胞群とmRNAレベルで比較・検討し、その特徴的因子を同定し、M細胞誘導への関与の検討も進めている。

2. 研究実施内容

- (1) パリエル板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

レクチン*Ulex europaeus* agglutinin-1 (UEA-1)、レクチンwheat germ agglutinin (WGA)、抗CD45抗体による標識の組み合わせによって、マウスのパリエル板に存在するM細胞を単離する方法を昨年度確立した。本年度はこの方法によって調製したパリエル板M細胞画分(UEA-1⁺/WGA⁻/CD45⁻)ならびに上皮細胞画分(UEA-1⁻/WGA⁺/CD45⁻)、UEA⁻/WGA⁻/CD45⁺細胞画分についてDNAマイクロアレイ法による発現遺伝子解析を進めた。各細胞画分における発現遺伝子量を比較した結果、約100個の遺伝子がM細胞に特異的あるいは有意に発現していると考えられた。この遺伝子群にはM細胞に特異的に発現することが既に報告されているpeptidoglycan recognition protein-Sも含まれていたことから、解析法の有効性が確認された。次に、全ての遺伝子をin situハイブリダイゼーションとUEA-1による二重染色に供し、M細胞特異的な発現遺伝子の同定に着手している。一部には昨年度報告した絨毛M細胞の両方に特異的に発現する遺伝子も同定されている。さらにパリエル板上皮細胞層から分離した浮遊細胞画分から頻度が少ないUEA⁺, WGA⁻画分をM細胞として効率よく分離精製し、SDラットに免疫することにより、M細胞特異的モノクローナル抗体を樹立すること

に成功した。そのうちの1株 (#16-2-3) は、パイエル板M細胞だけでなく絨毛M細胞にも反応特異性を示した。また、免疫沈降により精製した#16-2-3の抗原タンパクをLC-MS/MSによりその同定を進めている。

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

鼻咽頭関連リンパ組織(NALT)はげっ歯類の鼻腔に存在する粘膜免疫誘導組織である。パイエル板に代表される腸管関連リンパ組織(GALT)と免疫生物学的特徴を共有しているが、その組織形成メカニズムは大きく異なっている。通常、二次リンパ組織形成プログラムは炎症性サイトカインの一つであるリンフォトキシン(LT α 1 β 2)と同レセプター(LT β R)を介したシグナルが中心的役割を果たしている。一方、NALT組織形成に関してはLT α 1 β 2/LT β R非依存性であり、他の二次リンパ組織と比較しても非常にユニークである。胎仔肝の前駆細胞から分化すると考えられているCD3⁻CD4⁺CD45⁺細胞はパイエル板やリンパ節と同様にNALT形成誘導に必須である。このCD3⁻CD4⁺CD45⁺細胞によるパイエル板形成誘導にはCXCL13とそのケモカインレセプターCXCR5が必須である。まず我々はCXCL13遺伝子欠損マウス(CXCL13^{-/-}マウス)などを用いてNALT形成におけるCXCL13/CXCR5の関与について検討を進めた。その結果、同ケモカインとそのレセプターを介したシグナルは、NALTの組織形成とその発達に関して異なる生物学的影響をはたしている可能性を強く示唆する結果を得ている。これらの結果はパイエル板とNALT間におけるCD3⁻CD4⁺CD45⁺細胞群の免疫生物学的特徴の違いをさらに示唆している。

3. 研究実施体制

研究グループ長 清野 宏 (東京大学医科学研究所、教授)

- 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
- ② NALT関連CD3⁻CD4⁺CD45⁺細胞を中心としたM細胞誘導メカニズムの解明

4. 主な研究成果の発表

(1) 特許出願

H16年度特許出願件数：1件 (CREST研究機関累積件数：2件)