

氏名	香山 絵美
授与した学位	博士
専攻分野の名称	工学
学位授与番号	博甲第3406号
学位授与の日付	平成19年 3月23日
学位授与の要件	自然科学研究科生体機能科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Analysis of an antigen-stimulated B cell migration into germinal centers during a T-dependent immune response (T細胞依存性免疫応答における抗原刺激されたB細胞の胚中心への移行の解析)
論文審査委員	教授 大森 齋    教授 山田 秀徳    教授 虎谷 哲夫

#### 学位論文内容の要旨

病原体に感作されると、抗原特異的 B 細胞は数多くの B 細胞集団の中からクローン選択され、抗体産生細胞へと分化する。抗原特異的 B 細胞の一部はために高親和性抗体を獲得するため、末梢リンパ組織中の B 細胞濾胞で B 細胞が活発に増殖反応を起こす微細環境の胚中心を形成し、抗体の親和性成熟を行うことが知られている。我々は、B 細胞の親和性成熟経路への動員機序を解析するため、末梢 B 細胞の約 80% が 4-hydroxy-3-nitrophenylacetyl (NP) 特異的な B 細胞レセプター (VHT/λ1 または VHT/λ2) を発現している quasi-monoclonal (QM) マウスを用いた。これまでに、VHT に低親和性を示す p-nitrophenylacetyl (pNP) 化抗原を免疫し得られた VHT<sup>+</sup> anti-pNP mAb 産生ハイブリドーマの解析によって、pNP に対する初期の親和性がより高い、VHT/λ2 を有する B 細胞のみが、親和性成熟することが示唆されている。また抗体可変部領域の共通変異 (T313A) が pNP への特異性獲得に寄与していることも明らかにされている。しかし、抗原刺激された B 細胞の胚中心への動員に B 細胞レセプター (BCR) のシグナル強度がどのような影響を与えているかはよく分かっていない。

本研究では VHT/λ2 B 細胞の親和性成熟経路への動員をより詳細に検討することを目的とし、野生型マウスへ QM B 細胞を移入する adoptive transfer の系を用いて、胚中心応答の初期段階での動向を観察した。QM B 細胞を CFSE で蛍光標識後、あらかじめ胚中心を形成させた野生型マウスの尾部静脈から pNP 化抗原と共に移入し、標識細胞の胚中心への移行の有無を観察した。移入 2 日後に脾臓の凍結切片を免疫組織染色で観察すると、pNP 化抗原の BCR 刺激に依存して、胚中心への QM B 細胞の移行が観察された。さらに、移入した細胞の抗体産生は、pNP 特異的に免疫応答が起きており、VHT/λ2 抗体がより多く産生されていた。さらに、VHT/λ1 と VHT/λ2 B 細胞を分離してそれぞれを移入すると VHT/λ2 B 細胞が優先的に胚中心へ動員されていることが観察された。以上の結果より、免疫初期の親和性がより高い B 細胞が、抗原による BCR 刺激に依存して優先的に胚中心へと動員され、親和成熟することが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

生体内での高親和性抗体の生成（親和性成熟）は、B細胞における高頻度突然変異と高親和性を獲得したB細胞クローンの厳密な選択によって行われる。親和性成熟過程は、B細胞濾胞領域に形成された微小環境である胚中心で行われるが、B細胞が受け取る抗原刺激の強度によって、胚中心へ動員されるかどうか、どのように決定されるかについては、不明な点が多い。この問題を解析する場合、野生型のマウスでは、B細胞の抗原特異性が極めて多様であるため、特定のB細胞の動きをモニターすることはできない。そこで、本申請者は、特定のVH遺伝子(VHT)を導入し、L鎖 $\kappa$ 遺伝子をノックアウトしたQMマウスを用いる解析系を確立した。QMマウスではL鎖が主として $\lambda 1$ ,  $\lambda 2$ の2種類であるため、B細胞はVHT/ $\lambda 1$ , VHT/ $\lambda 2$ の2つが80%以上を占めている。VHT/ $\lambda$ 抗体は本来ハプテンNP(4-hydroxy-3-nitrophenyl)に特異的であるが、その類縁体pNP(p-nitrophenyl)とも、弱く結合する。QMマウスの $\lambda 1$ ,  $\lambda 2$ B細胞を単離し、CFSEで蛍光標識して、C57BL/6マウスに移入することにより、胚中心への移行を可視的に評価することができた。 $\lambda 1$ ,  $\lambda 2$ B細胞はpNPに対する親和性が異なり、初期のIgM抗体産生は両方のB細胞で見られるが、より高親和性の $\lambda 2$ B細胞が $\lambda 1$ B細胞よりも効率的に胚中心へ移行することが分かった。この研究は、B細胞抗原受容体へのシグナル強度とB細胞の胚中心への移行の関係を、独自の実験系で解析したのものとして、学術的意義は大きいと言える。したがって本研究は博士(工学)の学位に十分値するものと判定される。