

氏名	中村 嘉希
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第 6206 号
学位授与の日付	2020年 3月25日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	粘膜関連リンパ組織リンパ腫転座 1 (Malt1) のプロテアーゼ活性による炎症反応の制御とその機序に関する研究
論文審査委員	教授 村田 芳行 教授 木村 吉伸 教授 神崎 浩 准教授 前田 恵
学位論文内容の要旨	
<p>粘膜関連リンパ組織リンパ腫転座 1 (Malt1) は、免疫細胞の活性化を通じて、炎症反応に深く関与する。Malt1 は Bcl10 及び CARD11 などのタンパク質と共に三量体を形成し、NF-κB を活性化させて炎症反応に寄与するほか、システインプロテアーゼとしても機能し、様々な基質を分解して細胞を活性化させる。Malt1 のプロテアーゼとしての機能がどの程度生体内で炎症反応に関与するか調べるため、Malt1 のプロテアーゼ活性を欠損させたマウス (Malt1 PD マウス) を用いて、T 細胞依存性大腸炎と、自己抗体依存性血小板減少症の病態に対する Malt1 のプロテアーゼ活性の関与と、その機序について研究を行った。</p> <p>まず、Malt1 PD マウス由来の T 細胞を刺激して IL-2 の産生量を測定したところ、野生型 (WT) マウスと比較して IL-2 産生量は有意に低かった。Malt1 PD マウスに抗 CD3 抗体を腹腔内投与して T 細胞を活性化させたところ、WT マウスと比較して、大腸における IL-17A の発現が有意に低かったが、IFN-γ の発現量には差がなかった。また、WT マウス由来の naïve CD4⁺ T 細胞を免疫不全マウスに移入すると、大腸の肥厚並びに下痢を伴う大腸炎を発症したが、Malt1 PD マウス由来の細胞移入群ではその重症度は WT マウスと比較して軽微であった。このとき Malt1 PD マウスの細胞移入群における腸間膜リンパ節の IL-17 並びに IFN-γ 産生性の CD4⁺ T 細胞の割合を調べたところ、IL-17⁺IFN-γ⁻ T 細胞 (Th17 細胞) と、IL-17⁺IFN-γ⁺ T 細胞 (Th1/17 細胞) の割合が WT マウスの細胞移入群と比較して有意に低かった。一方で、IL-17⁻IFN-γ⁺ T 細胞 (Th1 細胞) の割合に有意な差はなかった。これらの結果から、Malt1 のプロテアーゼ活性は T 細胞依存性大腸炎の発症に重要な役割を果たし、その機序には Th17 細胞や Th1/17 細胞の制御が関与することが示唆された。</p> <p>次に、Malt1 PD マウス由来の骨髄由来樹状細胞を、抗 FcγR 抗体で刺激したところ、炎症性サイトカインの産生量が WT の樹状細胞と比較して有意に低かった。抗 CD41 抗体を Malt1 PD マウスに腹腔内投与して FcγR シグナルを活性化させたところ、脾臓における炎症性サイトカインの発現量が WT マウスと比較して有意に低かった。最後に抗 CD41 抗体を腹腔内投与して FcγR シグナル依存性血小板減少を誘導したが、Malt1 PD マウスでは血小板の減少は認められなかった。以上のように、Malt1 のプロテアーゼ活性は FcγR のシグナル伝達に寄与し、FcγR を介した免疫性血小板減少性紫斑病の発症に重要な役割を果たすことが示唆された。</p> <p>以上、Th17 細胞と Th1/17 細胞の制御による炎症性腸疾患の病態、並びに FcγR シグナルの活性化による自己抗体依存性炎症反応に、Malt1 のプロテアーゼ活性が深く関与することを明らかにした。</p>	

論文審査結果の要旨

本粘膜関連リンパ組織リンパ腫転座 1 タンパク質 (Malt1) はシステインプロテアーゼ活性を有し、免疫細胞の活性化を通じて、炎症反応に深く関与することが知られている。本学位論文は、Malt1 のプロテアーゼ活性の炎症反応への関与を明らかにするために、プロテアーゼ活性を欠損させたマウス (Malt1 PD マウス) を用いて、T 細胞依存的な大腸炎、自己抗体依存的な血小板減少症の病態に対する Malt1 プロテアーゼ活性の関与と作用機序についての解析を行った結果を論述している。

まず、Malt1 PD マウス由来の T 細胞を刺激して IL-2 の産生量を測定することで、野生型 (WT) マウスと比較して IL-2 産生量が有意に低いことを確認した後、Malt1 PD マウスに抗 CD3 抗体を腹腔内投与して T 細胞を活性化させたところ、WT マウスと比較して、大腸における IL-17A の発現が有意に低かったが、IFN- γ の発現量には差がないことを見いだした。次に Malt1 PD マウスの細胞移入群における腸間膜リンパ節の IL-17 並びに IFN- γ 産生性の CD4⁺T 細胞の割合を調べ、IL-17⁺IFN- γ ⁻ T 細胞 (Th17 細胞) と IL-17⁺IFN- γ ⁺ T 細胞 (Th1/17 細胞) の割合が WT マウスの細胞移入群と比較して有意に低いことを明らかにしている。一方で、IL-17⁻IFN- γ ⁺ T 細胞 (Th1 細胞) の割合に有意な差がないことを確認している。以上の結果から、Malt1 のプロテアーゼ活性は T 細胞依存的な大腸炎の発症に重要な役割を果たし、その機序には Th17 細胞や Th1/17 細胞の制御が関与することを推察している。

次に、Malt1 PD マウス由来の骨髄由来樹状細胞を、抗 Fc γ R 抗体で刺激したところ、炎症性サイトカインの産生量が WT の樹状細胞と比較して有意に低いことを見いだしている。そして、抗 CD41 抗体を Malt1 PD マウスに腹腔内投与して Fc γ R シグナルを活性化させたところ、脾臓における炎症性サイトカインの発現量が WT マウスと比較して有意に低いことも確認している。更に、抗 CD41 抗体を腹腔内投与して Fc γ R シグナル依存的な血小板減少を誘導したところ、Malt1 PD マウスでは血小板の減少は認められなかった。以上の結果を総括し、Malt1 のプロテアーゼ活性が Fc γ R のシグナル伝達に寄与し、Fc γ R を介した免疫性血小板減少性紫斑病の発症に重要な役割を果たすことを明らかにした。

以上、Th17 細胞と Th1/17 細胞の制御による炎症性腸疾患の病態、並びに Fc γ R シグナルの活性化による自己抗体依存的な炎症反応に Malt1 のプロテアーゼ活性が深く関与することを明らかにした本論文は、博士論文として相応しい学問的意義及び価値を有するものと判定した。