

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
原田 勇一	主査 教授 宮 崎 瑞 夫 副査 教授 佐 野 浩 一 副査 教授 田 窪 孝 行 副査 教授 玉 井 浩 副査 教授 窪 田 隆 裕
主論文題名 Unmutated immunoglobulin M can protect mice from death by influenza virus infection (抗原に対する親和性の成熟を経ない IgM 抗体がインフルエンザウイルス感染による死からマウスを防御する)	
学位論文内容の要旨	
<p>《目的》</p> <p>宿主への抗原特異的抗体によるウイルス感染防御の機構としては、ウイルス粒子の宿主細胞への接着の阻害、補体系路の活性化、オプソニン化などが知られる。これら広範な抗体活性を付与するのは、多種類のクラス抗体を産出する抗体クラススイッチ(class switch recombination; CSR)と呼ばれる機構である。インフルエンザウイルス感染防御においても、ウイルス特異的 IgG のみが感染防御において予防的、治療的効果を発揮し、IgM や IgA は治療効果のみをもつ等、CSR がウイルス感染防御や感染からの回復に重要な役割を果たすといういくつかの報告がある。また、インフルエンザウイルス特異的抗体遺伝子の可変領域には多くの点変異が導入されていることが報告されており、CSR に加えて抗体遺伝子に大きな変化をもたらすもうひとつの機構である体細胞突然変異(somatic hypermutation; SHM)もインフルエンザウイルス感染防御に重要な働きをするとされている。しかしながら、いずれの機構についてもその実験的証明は間接的な手法によるものであり、これらの機構の重要性は未だ直接的な解明には至っていない。</p> <p>最近、一種の cytidine deaminase に低い相同性をもつ activation-induced cytidine deaminase (AID)遺伝子が発見された。AID 遺伝子は胚中心 B 細胞に選択的に発現し、この遺伝子を欠くマウスの B 細胞では CSR、及び SHM が全く起こらないことが明らかにされた。AID 遺伝子ノックアウトマウス(以下変異マウス)は正常に生育し、上記以外の免疫学的機能には欠失が認められていないことから、今回、この変異マウスを用いてインフルエンザウイルス感染防御における CSR、及び SHM の役割を個体レベルで直接的に解析した。</p> <p>《実験方法》</p> <p>4-6 週齢の変異マウス、及び AID 遺伝子ヘテロ接合体マウス(以下正常マウス)にエーテル麻酔下、インフルエンザウイルス A/PR/8/34 マウス馴化株(以下 PR8)を経鼻接種(10²-10⁰ pfu)し、その後、マウスの生死と体重変動を観察した。致死性ウイルス二次感染はウイルス一次感染の 6 週間後に上記と同様の方法で行った。ウイルス力価は TCID₅₀測定法、ウイルス特異的抗体価は ELISA 法及びウイルス中和活性測定法によりそれぞれ解析、評価した。また、CD8⁺T 細胞除去マウスは、マウスに抗 CD8 抗体を投与することにより作製した。</p>	

《結果及び考察》

ウイルス一次感染においては、変異マウスと正常マウス間に有意な生残率の差は観察されなかった。しかしながら、変異マウスは正常マウスよりも体重減少が大きく、その後の回復も遅れていた。致死性PR8二次感染に対しては、両遺伝子型マウスとも全個体が生残したが、変異マウスにおいて感染後、著しい体重減少と多量のウイルス増殖が観察されたにもかかわらず、正常マウスではウイルス感染後に体重の変動や肺中ウイルス増殖は全く観察されなかった。一方、抗CD8抗体により、CD8⁺T細胞を体内から除去した変異マウスは非処置の変異マウスと比較して、ウイルス二次感染後に若干の体重変動の差が観察されたものの、ウイルス二次感染からの生残パターンには差は観察されなかった。また、変異マウスで産生されるウイルス特異的抗体は予想通りIgMのみであった。以上の結果から、SHMを起こしていないIgMのみでも、インフルエンザウイルス一次、二次感染からマウスを防御できることが示唆された。一方、ウイルス二次感染時にマウスが持つウイルス特異的中和抗体価は遺伝子型によらず同等であったことから、ウイルス二次感染後、変異マウスにおいて観察された感染防御能の低下は、CSR、SHMまたはその両方が欠失していることに起因する可能性が示唆される。

《まとめ》

宿主のインフルエンザウイルス感染防御において、CSRやSHMは個体の生死を決する決定的なものではないものの、宿主の効率的な感染防御に重要な役割を發揮することが示唆された。この傾向は、ウイルス一次感染においても、致死性ウイルス二次感染においても同様であった。本研究において、SHMを起こしていないIgMのみでインフルエンザウイルス感染に対して宿主に感染防御をもたらすことができることが示唆されたことは、ウイルス感染における宿主防御免疫応答の機序の解明に新しい知見を添えるものである。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙 第 号	氏 名	原 田 勇 一
論文審査担当者		主 査 教授 宮 崎 瑞 夫 副 査 教授 佐 野 浩 一 副 査 教授 田 窪 孝 行 副 査 教授 玉 井 浩 副 査 教授 窪 田 隆 裕	
主論文題名 Unmutated immunoglobulin M can protect mice from death by influenza virus infection (抗原に対する親和性の成熟を経ない IgM 抗体がインフルエンザウイルス感染による死からマウスを防御する)			
論文審査結果の要旨			
<p>本研究は、ウイルス感染による宿主の防御免疫応答のうち、特に抗体に様々な機能や抗原親和性の増大を付与する、抗体クラススイッチと体細胞突然変異の役割の解析を、インフルエンザウイルス感染マウスモデルを用いて行ったものである。</p> <p>申請者は、抗体クラススイッチと体細胞突然変異に必須の因子である activation-induced cytidine deaminase (AID)遺伝子を欠損する AID ノックアウトマウス(以下変異マウス)を用いた検討から、以下の結果を得ている。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ウイルス一次感染において、ウイルス感染後の変異マウスの生残率は、ヘテロ接合体マウスと同等であるが、感染からの回復や、肺中ウイルスの排除は遅れる傾向が見られる。 2. 遺伝子型を問わず、ウイルス一次感染から生残したすべてのマウスが、その後の致死性ウイルス二次感染からも生残する。ヘテロ接合体マウスでは二次感染時にウイルスの感染も成立していないような挙動が観察されるにもかかわらず、変異マウスには体重減少や肺中ウイルス増殖が観察される。 3. ウイルス一次感染によって誘導されるウイルス特異的の中和抗体価は、両遺伝子型間で差は見られない。また、変異マウスのウイルス二次感染からの生残には、細胞傷害性 T 細胞は関与していない。 <p>これらの結果は、インフルエンザウイルス感染における宿主の防御免疫応答において、抗体クラススイッチや体細胞突然変異は、効率的な感染防御には必要であるが、宿主の生残には必須でないことを示唆している。本研究は、体細胞突然変異を経ない IgM がインフルエンザウイルス感染死からマウスを防御できることを直接的に示した初めての報告であり、ウイルス感染における宿主の防御免疫応答の機序の解明に新たな地平を与えるものである。</p> <p>以上により、本論文は本学学位規定第 3 条第 2 項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Journal of Experimental Medicine 197(12) : 1779-1785, 2003</p>			