



Title	Identification of Semaphorin 4B as a Negative Regulator of Basophil-Mediated Immune Responses
Author(s)	中川, 幸延
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58225
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	中川幸延
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第24404号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Identification of Semaphorin 4B as a Negative Regulator of Basophil-Mediated Immune Responses (好塩基球の関与する免疫反応を負に制御するセマフォリン4Bの同定)
論文審査委員	(主査) 教授 熊ノ郷 淳 (副査) 教授 荒瀬 尚 教授 竹田 潔

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

セマフォリン分子群は、従来、発生過程における神経の方向性を決定する神経ガイダンス因子として同定された分子群であるが、我々の研究室によってセマフォリンが様々な免疫応答に関与することが明らかになっている。特に、セマフォリン分子群の中でも、膜型タンパクである4型セマフォリンの免疫機能の解析が精力的に行われてきた。Sema4Dは、B細胞や樹状細胞の活性化に重要であり、一方で、Sema4Aは、ヘルパーT細胞の分化を制御することが明らかになっている。しかしながら、他の4型セマフォリンの機能は明らかにはなっていない。そこで、本研究では免疫系で高発現する新たな4型セマフォリンを探索し、その生理的機能を解析した。

〔 方法ならびに成績 〕

免疫系で高発現する4型セマフォリンをdegenerated oligonucleotide primerを用いたPCRクローニングによって探索する過程で、Sema4BがT細胞とB細胞に高発現することを見出した。次に、Sema4Bの生理的な作用を検討する目的で、Sema4B欠損マウスを樹立した。Sema4B欠損マウスは、非免疫時の血清IgEの上昇を認めた。しかしながら、Sema4B欠損下において、T細胞の*in vitro*におけるTH2型のヘルパーT細胞への分化、B細胞の*in vitro*における抗体産生、*in vivo*における樹状細胞によるT細胞のプライミングに異常は認めなかった。これらの結果より、Sema4B欠損マウスにおけるIgE上昇の原因として、T細胞、B細胞及び樹状細胞以外の細胞の関与が示唆された。

次に、TH2反応を促しIgE産生への関与が示唆されている好塩基球に着目し、リコンビナントSema4B蛋白を用いて、Sema4Bが好塩基球のサイトカイン産生を制御するか否かの検討を行った。Sema4B蛋白は、好塩基球からのIL-4やIL-6の産生を著明に抑制した。次に、Sema4Bが、好塩基球によるTH2分化の制御に関わるかを検討した。OVA TCRトランスジェニックマウス由来のナイーブCD4⁺ T細胞と好塩基球及びOVAペプチドをSema4B蛋白の存在下に共培養すると、Sema4B蛋白は好塩基球によるTH2分化を抑制した。Sema4BはT細胞に高発現していることから、生理的条件下ではT細胞由来のSema4Bが好塩基球の機能を制御しているとの仮説に基づき、野生型及びSema4B欠損OVA TCRトランスジェニックマウス由来のナイーブCD4⁺ T細胞と好塩基球及びOVAペプチドと共培養しTH2分化について検討したところ、Sema4B欠損T細胞では、TH2分化が亢進していた。また、OVA蛋白を付加した好塩基球とともに、野生型及びSema4B欠損OVA TCRトランスジェニックマウス由来のナイーブT細胞をヌードマウスに移入した際にも、Sema4B欠損T細胞はTH2分化が亢進していた。更に、蛍光顕微鏡を用いた解析によりT細胞由来のSema4Bは、抗原の存在下で好塩基球とT細胞の接触面に凝集することを見出した。これらの結果より、T細胞由来のSema4Bが好塩基球との接触面において好塩基球の働きを抑制することにより、TH2分化を抑制することが明らかになった。

最後に、2次免疫応答時の抗体産生への好塩基球の関与をSema4Bが制御するか否かを検討した。野生型及びSema4B欠損マウスにアジュバント非存在下で免疫し、4週間後に抗原を再投与すると、Sema4B欠損マウスは抗原特異的なIgEの上昇を認めなかった。このIgEの上昇は抗FcsRI α 抗体による好塩基球を除去することにより消失した。これらの結果より、Sema4Bは好塩基球を介して2次免疫応答時の抗原特異的な抗体産生を抑制することが明らかになった。

〔 総 括 〕

本研究によりSema4Bは、好塩基球からのサイトカイン産生を負に制御し、TH2分化を抑制することが明らかになった。生理的条件下では、T細胞由来のSema4Bが好塩基球との接触面に凝集することによりTH2分化を抑制することが示された。また、Sema4Bは、好塩基球による2次免疫応答時の抗原特異的な抗体産生を抑制した。よって、Sema4B欠損マウスでは、これらの負の制御が破綻していることにより、非免疫時の血清IgEの上昇を認める事が明らかになった。以上より、好塩基球の機能を制御する新たな4型セマフォリンSema4Bの存在が明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

セマフォリン分子群は、従来、神経ガイダンス因子として同定された分子群であるが、近年、様々な免疫応答に関与することが明らかになっている。特に、セマフォリン分子群の中でも、膜型タンパクである4型セマフォリンの免疫機能の解析が精力的に行われている。本研究では、免疫系で発現する新たな4型セマフォリンを探索し、その結果、4

型セマフォリンに属するSema4Bが好塩基球の機能を抑制することによりTH2型反応を制御することを見出した。さらに、Sema4Bの好塩基球に対する作用として、好塩基球からのサイトカイン産生を抑制しTH2型ヘルパーT細胞への分化を抑制すること、及び好塩基球を介した2次免疫応答時の抗原特異的な抗体産生を抑制することを明らかにした。よって、本論文は、博士(医学)の学位授与に値する。