

学位論文審査結果の報告書

氏 名 加藤麻衣子

生 年 月 日 昭和 55 年 11 月 18 日

本 籍 (国籍) 日本

学位の種類 博 士 (医 学)

学位記番号 医 第 1184 号

学位授与の条件 学位規程第5条該当
(博士の学位)

論 文 題 目 Class switch recombination and somatic hypermutation of
virus-neutralizing antibodies are not essential for the control of Friend retrovirus
infection

(体細胞高頻度突然変異のないIgM抗体によるレトロウイルス感染制御)

審 査 委 員

(主 査) 川田 暁



(副主査) 義江 修



(副主査) 松村 到



(副 査)



(副 査)



論文内容の要旨

【目的】

最近、TLR7 と Myd88 シグナルを介したレトロウイルス侵入の認識が、抗ウイルス抗体産生に必要であるとされ、これが胚中心形成と相関するとされている。そこで、レトロウイルス感染制御における免疫グロブリン遺伝子のクラススイッチ組換え (class switch recombination : CSR) および体細胞高頻度突然変異 (somatic hypermutation : SHM) の必要性について、遺伝子改変マウスを用いて検討した。

【方法】

フレンドウイルス感染抵抗性の B6 マウスと、感受性の CB6F₁ マウスを用いた感染実験を行い、野生型、Bリンパ球欠損 μ MT マウス、及び CSR と SHM の起こらない AID 欠損マウスにおける生存率、ヘマトクリット値、中和抗体価、血漿ウイルス量、ウイルスゲノム量、脾臓における感染細胞数を測定した。CB6F₁ マウスにおいては CD4 陽性 T 細胞認識エピトープを単独で用いた免疫の有無による感染防御効果の比較検討も行った。また、SHM のない IgM 抗体の感染防御効果を直接検定するため、ペプチド免疫した AID 欠損マウスからフレンドウイルス感染後に採取した血清を用いて、Bリンパ球欠損マウスへの移入実験を行った。

【結果】

脾腫発症に抵抗性の B6 マウスでは、AID 欠損下でも野生型と同様にフレンドウイルス感染抵抗性を示し、感染 3 週目には高い力価で IgM クラスの中和抗体産生を認めた。無免疫なら全個体が脾腫を発症して死亡する CB6F₁ マウスでは、予めペプチド免疫することにより、AID 欠損下でも感染 1 週目に IgM クラスの中和抗体産生を認め、感染 12 週目において、高ウイルス量感染では約 50%、低ウイルス量感染では約 90% の個体が生存した。また血漿ウイルス量、ウイルスゲノム量、脾臓における感染細胞数の何れにおいても、AID 欠損下でも有意なペプチド免疫効果を認めた。一方、Bリンパ球欠損 μ MT マウスでは、ペプチド免疫効果は認められなかった。免疫した AID 欠損 CB6F₁ マウスにフレンドウイルスを感染させ、3 週目に採取した血清を、予めペプチド免疫した B 細胞欠損 CB6F₁ マウスに、感染 5、7、14 日目に移入したところ、感染 12 週目で約 50% の個体が生存した。しかし、ペプチド免疫しないマウスに移入した場合、あるいは未感染対照マウスの血清を移入した場合には、防御効果は認められなかった。

【考察】

今回の実験において、B6 マウスは AID 欠損下でもフレンドウイルス感染に抵抗性を保ち、IgM クラスのウイルス中和抗体を産生できること、CB6F₁ マウスでは、AID 欠損下でもペプチド免疫の効果が現れ、早期に中和抗体が産生されることが示された。また、AID 欠損下で産生された IgM 抗体に、感作 CD4 陽性 T 細胞存在下で感染防御能の移入効果があった。

【結論】

AID により誘導される CSR や SHM は、フレンドウイルス感染抵抗性に対して絶対的に必要ではなく、SHM のない IgM 抗体でも、それが CD4 陽性 T リンパ球存在下で感染早期に誘導されれば、ウイルス感染を制御できる。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出 版 物 の 種 類 及 び 名 称
	2014 年 11 月 日 公 表	出 版 物 名 Journal of Virology Vol. No. 2014 年 11 月 5 日 発 行
	公 表 内 容	
	全 文	

論文審査結果の要旨

加藤麻衣子の学位論文は、フレンド白血病レトロウイルスの感染制御に、免疫グロブリン遺伝子可変部の体細胞高頻度突然変異が必要か否かを明らかにしようとしたものである。

従来、ウイルス感染時の中和抗体産生には体細胞高頻度突然変異による親和性成熟が必要との見解が多く見られるが、明確な実験的証拠は必ずしも十分ではない。レトロウイルス感染時の中和抗体産生にはBリンパ球におけるToll様受容体7 (TLR7) 発現が重要とされており、TLR7欠損下ではリンパ節の濾胞に胚中心形成が認められないことから、体細胞高頻度突然変異とクラススイッチ組換えが感染防護に重要と含意されていた。加藤麻衣子はこれに疑問を抱き、実験的な検証を試みた。

体細胞高頻度突然変異とクラススイッチ組換えに必須であるAID酵素遺伝子を欠損するマウスを交配し、先ずB6系統のマウスを用いて、フレンドウイルス感染による白血病発症に対する自然抵抗性にAIDが必要であるか否かを解析した。その結果、AID欠損下でも発症抵抗性は維持され、ウイルス感染後にIgMクラスの中和抗体が検出されることが明らかとなった。この結果は、レトロウイルス中和抗体産生に体細胞高頻度突然変異は必要でないことを明確に示した。





続いて、白血病発症に感受性であるマウス系統を用い、ペプチドワクチンで免疫することにより発症予防を行う系でAID欠損の効果解析した。その結果、AID欠損下でもおよそ半数の個体で感染防御が可能であり、感染価を下げると大半の個体が発症しなくなった。そこで、AID欠損下で産生されたIgMクラスの抗体が確かに感染防御能を持つことを証明するため、B細胞欠損マウスへの移入実験を行った。その結果、ペプチドワクチンによりCD4陽性Tリンパ球が感作された条件下では、AID欠損下で作られたIgM抗体の移入が感染防御効果を示すことが明らかとなった。

以上の結果は、レトロウイルス感染防御に抗体分子可変部の体細胞高頻度突然変異は必要でないこと、親和性成熟を経ていないIgMクラスの抗ウイルス抗体が、レトロウイルス感染制御に一定の役割を果たすことを示している。

本研究は、加藤麻衣子を筆頭著者としてアメリカ微生物学会の発行するJournal of Virologyに掲載済みであり、同人が共著者である副論文はJournal of Immunology, Journal of Virology及び微生物学関係の最高峰誌であるPLoS Pathogensにも掲載されていることから、加藤麻衣子の学識が十分に高いことが明らかである。また、公聴会及び最終試験においても学位論文の成果が本人の研究によるものであることが確認され、加藤麻衣子は博士の学位を授与するに十分な能力と実績を持つと判断された。

博士學位論文最終試験結果の報告書

平成 27 年 2 月 4 日

審査委員	主 査 川 田 暁 
	副主査 義江 修 
	副主査 松村 到 
	副 査 
学位申請者氏名	加藤麻衣子
論文題目	Class switch recombination and somatic hypermutation of virus-neutralizing antibodies are not essential for the control of Friend retrovirus infection (体細胞高頻度突然変異のないIgM抗体によるレトロウイルス感染制御)

要 旨

加藤麻衣子の学位最終試験は、義江教授、松村教授を副主査として1月21日に実施された。

加藤麻衣子は学位論文の内容について、先ずフレンド白血病レトロウイルスによる白血病発症の分子機構と宿主抵抗性遺伝子群の作用機序を説明した後、学位論文の主題であるウイルス中和抗体の役割について、過去に行われた研究の成果を的確に要約した。その後、学位論文の解決しようとした課題が、フレンドウイルス中和抗体の産生に免疫グロブリン遺伝子可変部の体細胞高頻度突然変異が必要であるか否かを解明することであることを明確に述べ、そのために採用した実験系がAID遺伝子欠損マウスであることを説明した。

加藤麻衣子自身が実験に必要なマウス系統の交配維持を行い、フレンドウイルス感染後の末梢血ヘマトクリット値の変化と白血病発症経過を綿密に観察したこと、経時的に採血を行い、感染フォーカスの定量により中和抗体価の測定を行ったことが、最終試験の発表内容から明らかであった。更に、ペプチドワクチンによるCD4陽性T細胞感作の実験系を作成し、ワクチン効果の発現に体細胞高頻度突然変異が必須でないことを明らかにし、一歩進んで、AID欠損マウス由来のIgMクラス中和抗体が、Bリンパ球欠損マウスへの移入により感染防御効果を示すことも明らかにした。

公聴会においては、義江教授と松村教授より、CD4陽性Tリンパ球感作により誘導されるウイルス中和抗体以外のエフェクター機構、IgMクラス中和抗体の産生時期、ウイルス中和以外の抗体作用機序、フレンドウイルス以外の実験系における同様の知見の有無等に関する質問があり、加藤麻衣子は何れにも的確に返答を行った。

以上の結果より、博士學位論文が論文提出者である加藤麻衣子自身の研究成果であることが確認された。