

博士学位論文要約

免疫細胞における小胞輸送制御因子 Arf1 の機能解析

2023 年 3 月

奈良女子大学大学院人間文化総合科学研究科 博士後期課程自然科学専攻

小谷 唯

免疫系は異物を認識し排除する一方、自己に対する抗体の産生（自己免疫疾患）や、本来は無害な抗原に対して過剰に反応すること（アレルギー反応）で、宿主にとって有害な免疫反応を起こす場合がある。本研究では、IgE 抗体によって活性化が誘導される肥満細胞や IgE を含む病的抗体産生を担う B 細胞が分泌に特化した細胞であることに着目し、小胞輸送制御因子 Arf の免疫応答における機能解明に取り組んだ。Arf は低分子量 G タンパク質であり、分泌に代表される小胞輸送において小胞の出芽から輸送に関わる初期ステップを制御する。哺乳類では Arf1-Arf6 の 6 種類のアイソフォームが存在し（ヒトには Arf2 が存在しない）、アミノ酸配列の相同性によってクラス I（Arf1・Arf2・Arf3）、クラス II（Arf4・Arf5）、ならびにクラス III（Arf6）に分類される。6 種類のアイソフォームの中では Arf1 と Arf6 に関する研究が特に盛んに行われており、Arf1 が Arf2-Arf5 と同じく小胞体-ゴルジ間やゴルジ嚢胞などゴルジ体近傍の輸送経路で働くのに対して、Arf6 は細胞膜タンパク質のエンドサイトーシスやリサイクリングなど、細胞膜付近の輸送経路で働くことが知られている。これらの知見は HeLa 細胞に代表されるヒト由来培養細胞を対象に得られたものであり、個体における Arf の生理機能には未知な部分が多く残されている。時期・組織特異的に遺伝子の欠損を誘導することが可能なコンディショナルノックアウトマウスを用いた解析により、ごく最近、活性化状態の T 細胞の生存維持に Arf1 と Arf6 の両方が必要であることが明らかにされるなど、Arf が免疫系においても重要な働きを担うことが示されつつある。

第 1 章では、肥満細胞で Arf1 が高発現することに着目し、肥満細胞における Arf1 の機能解明に取り組んだ。その結果、Arf1 を欠損させた肥満細胞では、IL-3 刺激に伴う増殖が障害されていることが明らかとなった。一方、従来 Gab2-PI3K 経路の下流で肥満細胞の脱顆粒を制御すると考えられてきた Arf1 であるが、Arf1 を欠損させても FcεRI シグナルを介した脱顆粒やサイトカイン分泌に異常は認められず、これらの現象に Arf1 は必要でないことが明らかとなった。肥満細胞において Arf1 が脱顆粒やサイトカイン分泌の制御ではなく細胞増殖を制御するという今回の発見は、FcεRI を介した脱顆粒メカニズムの理解に再考を迫ると共に、Arf1 の増殖シグナルへの関与を強く示唆する。

第 2 章では、B 細胞においては Arf1 に加えて Arf6 の高発現も認められたことから、B 細胞特異的に Arf もしくは Arf6 を欠損させたマウス（以下 Arf1-BKO ならびに Arf6-BKO と表記）を樹立し、その解析に取り組んだ。Arf6-BKO マウスではほぼ正常な抗体産生が誘導されたのに対し、Arf1-BKO マウスでは外来抗原に対する抗体産生が著しく抑制されたことか

ら、抗体産生過程において Arf1 が重要な働きを担うことが示唆された。一般に、外来抗原に遭遇した B 細胞は二次リンパ組織において胚中心と呼ばれる微小空間を形成し、ここで細胞分裂を繰り返すことにより質の高い抗体産生が誘導される。しかしながら外来抗原の投与によって免疫を誘導しても Arf1-BKO マウスではリンパ節において胚中心が形成されないことが明らかとなり、このことが外来抗原に対する抗体価の低下を招いているものと考えられた。一方、驚くべきことに、腸管のパイエル板においては Arf1-BKO マウスでも野生型と同様な胚中心が観察された。膝窩リンパ節などのリンパ節では抗体のサブクラスのうち主に IgG1 が産生されるのに対し、パイエル板では IgA を主体とした抗体産生が誘導されている。この IgG1 と IgA の違いに着目し、IgG1 誘導系、IgA 誘導系それぞれの *in vitro* assay 系を確立した。その結果、IgG1 誘導系に比して、IgA 誘導系においては Arf1 への依存性が低いことが明らかとなり、このことがリンパ節とパイエル板での胚中心形成の有無を左右しているものと推察される。Arf1 が抗体産生における中心的なイベントである胚中心形成に関与するとの報告は前例がなく、世界で初めての報告となる。Arf1 を標的とした抗体産生制御が可能となるならば、全身性エリテマトーデス (SLE) に代表される自己抗体によって引き起こされる重篤な自己免疫疾患やアレルギー病態に対して、従来とは全く異なる革新的な治療アプローチに繋がるものと期待される。