

論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 医薬保博甲第 730 号 氏名 鈴木 拓馬

論文審査担当者 主査 山本 靖彦

副査 華山 力成

倉知 慎

学位請求論文

題 名

Laeverin/aminopeptidase Q induces indoleamine 2,3-dioxygenase-1 in human monocytes
(Laeverin/aminopeptidase Q はヒト単球の indoleamine 2,3-dioxygenase-1 の発現を誘導する)

母体子宮内膜に浸潤し母体螺旋動脈をリモデリングする Extravillous trophoblast(以下, EVT)は, 父性抗原を有する semi-allograft であるにも関わらず, 母体免疫細胞から拒絶されない。この母体-胎児境界における免疫寛容について HLA-G, E, F などにより説明されるが, それらだけでは EVT の免疫寛容獲得メカニズムを完全に説明することはできない。我々は EVT に特異的に発現する Laeverin/aminopeptidase Q(以下, LVRN)に着目し, この分子がヒト免疫細胞に対して与える影響について, 特に母体-胎児境界の免疫寛容において重要と報告される indoleamine 2,3-dioxygenase-1(以下, IDO1)に注目し, これらの関連をあきらかにするために研究を行った。

同意が得られた健常人から末梢血単核球(以下, PBMC)を採取し, EVT を不死化した細胞株である Swan71 に LVRN を過剰発現させた細胞(Swan71-LVRN)と直接接触下で共培養すると, IDO1 の発現が上昇した。そこで可溶性 LVRN としてリコンビナントタンパク(以下 r-LVRN)を作成し, PBMC に添加すると濃度依存性に IDO1 の発現が上昇し, 共培養の結果と同様の結果を得た。r-LVRN はバキュロウイルスシステムを利用して作成しており, ウイルスによる影響を除外するために His-tag beads を用いた吸収実験を行ったところ, IDO1 の発現上昇が抑制された。これらのことから, LVRN と免疫細胞が interaction することで IDO1 の発現が上昇することがわかった。

次に蛍光標識 r-LVRN を作成し PBMC に添加したところ, CD14 陽性単球に極めて特異的に取り込まれた。この結果から LVRN は単球に特異的に作用していると考えられた。さらに CD14 陽性単球を磁気ビーズで分離したのちに r-LVRN を添加すると, IDO1 の大幅な発現上昇を認めた。FCM でも CD14 陽性単球に, LVRN 濃度依存性に IDO1 の発現が上昇した。

急性単球性白血病の細胞株である THP-1 に r-LVRN を添加しても IDO1 の RNA 発現は上昇しなかったが, Phorbol-12-myristate-13-acetate(以下, PMA)で処理したのちに r-LVRN を添加すると, IDO1 の RNA 発現が濃度依存性・時間依存性に大幅に上昇した。ウェスタンブロット法でも IDO1 のタンパク発現上昇を認めた。さらに PMA 処理した THP-1 に r-LVRN を添加し, その上澄をアミノ酸質量分析したところキヌレニン/トリプトファン比の上昇を認めた。実際の脱落膜においても LVRN 陽性 EVT と CD68 および CD163 陽性マクロファージが接触していた。

本研究では, LVRN が母体 CD14 陽性単球における IDO1 の発現を誘導し, さらに周囲のキヌレニン/トリプトファン比を上昇させることで母体-胎児境界において免疫寛容の場を形成していることが示唆された。その妊娠メカニズムの解明は, 産婦人科学に貢献し, 学位論文に値すると評価された。