

氏 名	はざ ま げん い 挾 間 玄 以
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	乙第209号
学位授与年月日	平成17年11月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 題 目	Mouse brain IgG-like immunoreactivity: Strain specific occurrence in microglia and biochemical identification of IgG (マウス脳内 IgG 様免疫活性: IgG のミクログリアにおける系統特異的発現と生化学的同定)
学位論文審査委員	(主査) 中 込 和 幸 (副査) 大 浜 栄 作      大 野 耕 策

## 学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

脳は、固有のリンパ組織を持たず、しかも血液脳関門によって免疫担当細胞や関連タンパク質の流入が阻止されることから、免疫反応が生じ得ない臓器であると長い間考えられてきた。しかし近年の免疫組織化学的研究により、神経変性疾患や実験動物の脳で、免疫グロブリン G (IgG) をはじめとする種々の免疫関連タンパクが発現することが明らかとなっている。また、これとは別に正常脳においても、グリア細胞が抗 IgG 抗体で染色されることが報告されている。しかしながら、この正常脳の IgG 陽性グリアの出現は現在のところマウスでのみ報告されており、動物種や系統による差異については十分な検討はなされていない。そこで本研究では、1) IgG 陽性グリア出現の種特異性 (げっ歯類)・系統特異性 (マウス) を明らかにし、2) マウスの正常脳に報告されているグリア細胞 IgG 様免疫活性物質を同定しその由来を明らかにすることを目的とした。

## 方 法

マウス、ラット、ハムスター、モルモットの脳組織の薄切切片を作製し、それぞれの種の抗 IgG 抗体を用いて免疫組織化学的検討を行った。マウス種においては、抗 IgG 抗体と各種細胞マーカーに対する抗体 (ミクログリア、抗 F4/80 抗体; アストロサイト、抗 GFAP 抗体; 脈絡叢上皮細胞、抗エストロゲン  $\beta$  受容体抗体) を用いてそれぞれ二重染色を行ない、IgG 陽性細胞の同定を行なった。またマウス脳内より IgG 様免疫活性物質の抽出・精製を行ない、ウェスタンブロット法で分子量を確認した後、N 末端部分アミノ酸配列を決定した。同定タンパク質の mRNA 発現は、RT-PCR 法および in situ hybridization 法にて検討した。さらに Fc 受容体遺伝子欠損マ

ウスの脳内 IgG 様免疫活性についても検討を行った。

## 結 果

免疫組織化学では、マウスの 4 系統 (ICR, Balb/c, C57BL/6, AKR/J) のグリア細胞は脳実質全体にわたり IgG 陽性であった。二重染色で IgG 陽性グリア細胞は、F4/80 陽性ミクログリアに一致した。一方、マウスの他の 2 系統 (CBA/N, CBA/J) およびラット、ハムスター、モルモットでは、ミクログリアは IgG 陰性であった。脳室周囲器官は実験に用いた動物種全てにおいて、IgG 陽性を示した。脈絡叢では、全ての動物種においてマクロファージが IgG 陽性であり、さらに IgG 陽性ミクログリアが出現するマウス系統においては、脈絡叢上皮細胞も IgG 陽性を示した。IgG 様免疫活性物質は、ウエスタンブロット法およびアミノ酸配列解析により、IgG であることが確認された。RT-PCR 法および in situ hybridization 法では、脳実質内に IgG mRNA の発現を認めなかった。Fc 受容体遺伝子欠損マウスの脳を検討したところ、ミクログリアには IgG 様免疫活性を認めず、脳室周囲器官と脈絡叢上皮細胞、および一部の神経細胞が IgG 陽性を示した。

## 考 察

本研究では、1) IgG 陽性ミクログリアの出現は特定のマウスの系統に限定される、2) 脳内 IgG 様免疫活性物質は血清 IgG そのものである、3) IgG 陽性染色は、脳室周囲器官、脈絡叢にも認められる、4) 脳実質内に IgG mRNA の発現は認めず IgG の脳内産生は否定される、5) Fc 受容体遺伝子欠損マウスを用いた実験から、ミクログリアの IgG は Fc 受容体を介した血清 IgG の取り込みによる、ことが明らかになった。

Fc 受容体は動物種に関係なくすべての哺乳類のミクログリアに発現するため、ミクログリアによる血清 IgG 取り込みに種差・系統差が生じる機序には Fc 受容体以外の要因が考えられる。今回の研究では、ミクログリアと脈絡叢上皮細胞の IgG 陽性所見には関連性が認められ、ミクログリアと脈絡叢上皮細胞において、共通の IgG 取り込み機構の存在が示唆された。

ミクログリアに含有される IgG の意義は不明であるが、IgG 含有ミクログリアの有無は脳内免疫応答の違いを反映する可能性がある。近年、遺伝子改変マウスがしばしばヒトの神経変性疾患のモデルとして用いられている。神経変性疾患においては免疫応答の病態への関与が確実視されているが、特定の系統のマウスをモデル動物として使用した場合、その脳では IgG を介した免疫応答により病態が修飾される可能性がある。このため、神経変性疾患モデルマウスを用いて検討する場合、ヒトとマウスとの間の免疫応答の違いを考慮する必要がある。

## 結 論

マウスの特定の系統ではミクログリアが IgG を含有し、Fc 受容体による血清 IgG 取り込みの機序が想定された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本研究はマウスを含む様々なげっ歯類の正常脳組織を用いて、脳内 IgG 様免疫活性について検討したものである。その結果、特定のマウス系統においてのみ IgG 陽性ミクログリアを認めた。また脳実質内に IgG mRNA の発現は認めないことから IgG の脳内産生は否定され、Fc 受容体遺伝子欠損マウスを用いた実験から、ミクログリアの IgG は Fc 受容体を介した血清 IgG の取り込みによることが明らかになった。本論文の内容は、脳内の免疫機構に関する重要な知見であり、明らかに学術水準を高めたものと認める。