

研究題目

ケモカイン受容体 XCR1 を発現する樹状細胞サブセットの機能的意義の解明

研究組織

研究代表者：改正 恒康（和歌山県立医科大学）

共同研究者：松本 満（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：邊見 弘明（和歌山県立医科大学）、佐々木 泉（和歌山県立医科大学）

折茂 貴是（和歌山県立医科大学）、小笹 俊哉（和歌山県立医科大学）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

樹状細胞は、自然免疫と獲得免疫を連関させることにより、免疫応答において重要な役割を果たす抗原提示細胞である。樹状細胞は機能的特性の異なる種々のサブセットから構成されており、近年、そのサブセットの種々の機能的意義が明らかにされつつある。

ケモカイン受容体 XCR1 を発現する樹状細胞サブセット (XCR1+DC) は、死細胞を取り込む能力、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の分化を誘導、支持する能力 (クロスプレゼンテーション能力) が高いという機能的特性を持ち、腫瘍やウイルス感染に対する防御的な細胞傷害性免疫応答に重要であることがわかっている。XCR1+DC の *in vivo* における機能的意義を明らかにする目的で、恒常的に XCR1+DC を欠失するマウス (XCR1-DTA マウス) を樹立した (Ohta et al. *Sci Rep* 6:23505, 2016)。このマウスは、XCR1 の遺伝子座に *cre recombinase* をコードする遺伝子をノックインしたマウス (XCR1-*cre* マウス) と *cre recombinase* の発現に伴いジフテリア毒素 (DTA) を発現するよう遺伝子改変されたマウス (ROSA-*loxP*-STOP-*loxP*-DTA マウス) を交配することによって得られるマウスであり、XCR1+DC が選択的に DTA の作用により *in vivo* で欠失する。

コレラ毒素 (CT) は、1 個の A サブユニット (CTA) と 5 個の B サブユニット (CTB) から構成されるタンパク複合体であり、コレラ菌が産生する毒素、すなわちコレラ症の病因物質であるが、免疫

アジュバント活性も有している。これまで、CT の経口投与により、IgA 産生が増強したり、がんに対する細胞障害性 T 細胞 (CTL) 応答が増強することがわかっているが、その作用機作についてはほとんどわかっていない。

本研究では、CT に対する免疫応答に XCR1+DC がどのように関与するか検討する。

[1-2]研究の方法・経過

まず、CT、CTA、CTB が樹状細胞やマクロファージをどのように活性化するか、そしてその分子機構を明らかにする。

次に、抗原と CT の経口投与により、抗原特異的な CTL 応答を検出できる実験系を確立する。この実験系で、コントロールマウス (XCR1-*cre* マウス) および XCR1-DTA マウスを比較解析し、CT による免疫応答能を評価する。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

XCR1+DC をはじめ、種々の樹状細胞やマクロファージに対する CT、CTA、CTB の作用を検討したところ、CTB が、リポ多糖 (LPS) と結合しない場合にも LPS と相乗的にマウス腹腔マクロファージ (PM) を活性化し、炎症性サイトカイン IL-1 β の産生を誘導することを見出した。これまで、CTB が LPS と相乗的に骨髄由来マクロファージ (培養マクロファージ) を活性化し、IL-1 β の産生を誘導することはわかっていたが、この際の CTB は、LPS と結合し、LPS を細胞内へ誘導するシャ

ペロン分子として機能しており、CTB 自身の作用については不明であった。また、生体内に存在するマクロファージに作用するかどうか不明であった。そして今回見出した CTB と LPS による IL-1 β の産生誘導には、NLRP3 インフラマソームと共に、ピリンインフラマソームが関与することも明らかになった。

XCR1+DC など樹状細胞においては、CT により IL-1 β の産生はあまり誘導されなかったが、CD80、CD86 など共刺激分子の発現が誘導された。

また、抗原（卵白アルブミン、OVA）と CT を経口投与後 7 日目に、腸管上皮内にて抗原特異的な CTL 応答が惹起された。そして、この CTL 応答は、XCR1-DTA マウスにおいて障害されていた。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

CTB 自身の、生体内に存在するマクロファージに対する作用およびその分子機構が明らかになり、CTB がピリンインフラマソームの新たな活性化因子であることもわかってきた。さらに、CT の経口投与による CTL の誘導に XCR1+DC が関与していることも明らかになった。このように、CTB、CT の免疫アジュバント活性の分子基盤、細胞生物学的基盤の解明が進むことにより、CTB、CT を基盤としたワクチンの開発が可能になることが期待される。

また、CT の経口投与は抗原特異的な IgA 産生を強力に誘導する。この実験系も確立しており、今後 XCR1+DC の関与について検討する予定である。

[3] 主な発表論文等

[3-1]論文発表

1) [雑誌]著者名.題名.雑誌名 巻:頁 - 頁, 発行年.

T. Orimo, I. Sasaki, H. Hemmi, T. Ozasa, Y. Fukuda-Ohta, T. Ohta, M. Morinaka, M. Kitauchi, T. Yamaguchi, Y. Sato, T. Tanaka, K. Hoshino, K. I. Katayama, S. Fukuda, K.

Miyake, M. Yamamoto, T. Satoh, K. Furukawa, E. Kuroda, K. J. Ishii, K. Takeda, T. Kaisho. Cholera toxin B induces interleukine-1 β production from resident peritoneal macrophages through pyrin as well as NLRP3 inflammasome. Int Immunol, early online.

2) [書籍]著者名.題名. In : 編集者名・編書籍名.出版社,発行地, 頁-頁,発行年

[3-2]学会発表

1) 発表者名.題名.学会名, 発表地, 発表月日, 発表年

改正恒康、邊見弘明、小笹俊哉 皮膚科医に知っていただきたい樹状細胞の機能的および病理的意義 第 117 回日本皮膚科学会総会 広島 2018 年 5 月 31 日—6 月 3 日。

T. Kaisho Immune regulation by a dendritic cell subset expressing a chemokine receptor, XCR1. 15th International Symposium on Dendritic Cells. Aachen, Germany June 12, 2018.

T. Kaisho Current overview of functions and development of dendritic cells. 第 47 回日本免疫学会総会 福岡 2018 年 12 月 10-12 日

[3-3]成果資料等

[4] 今後の課題等

ピリンインフラマソームは炎症性疾患ばかりでなく、糖尿病など代謝性疾患の病態にも関与することが指摘され注目されている。ピリンインフラマソーム活性化の分子機構の解明をこれらの病態とも関連させて進めることが重要である。

また、XCR1+DC はマウスばかりでなく、ヒトにも存在する。今回の知見をどのようにヒトへ応用していくのかということも非常に重要である。