

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

和歌山県立医科大学 先端医学研究所 生体調節機構研究部 改正恒康、邊見弘明、佐々木泉、福田有里

徳島大学先端酵素学研究所 免疫病態学分野 松本 満

目的

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いること、そして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。これまでに、XCR1+DC の *in vivo* における動態や機能的意義を解明するために、種々の遺伝子改変マウスを樹立してきた。*in vivo* における XCR1+DC の動態を追跡できるマウスとしては、緑色蛍光タンパク遺伝子 (Venus、GFP) や近紫外光にて緑色蛍光が赤変する蛍光タンパク遺伝子 (Kikume) を XCR1 の遺伝子座へノックインしたマウス (XCR1-venus マウス、XCR1-GFP マウス、XCR1-kikume マウス) を樹立した (1-3)。*in vivo* における XCR1+DC の機能的意義を解析できるマウスとしては、誘導的に XCR1+DC を欠失できるマウス (XCR1-DTRvenus マウス)、恒常的に XCR1+DC を欠失するマウス (XCR1-DTA マウス) を樹立した (1、4)。これらのマウスを使って、ウイルス感染やがんにおける XCR1+DC の動態、機能的意義について新たな知見が蓄積しつつある (5-9)。

本研究では、これらの遺伝子改変マウスを用いて、XCR1+DC の新たな機能的意義を解明する。主に XCR1-DTA マウスを用いて解析を行った。XCR1-DTA マウスは、XCR1 遺伝子座に *cre* レコンビナーゼ遺伝子がノックインされたアレルと ROSA 遺伝子座に *cre* レコンビナーゼ発現細胞でのみジフテリア毒素 A サブユニット (DTA) 遺伝子が発現されるようにデザインされた遺伝子がノックインされたアレルを持っている (*Xcr1^{+cre} Rosa^{+Isl-dta}*)。そこでコントロールマウスとしては *Xcr1^{+cre} Rosa^{+/+}* マウスを使用した。

これまでの結果

1) がん発症における XCR1+DC の機能的意義の解析

化学物質 (DMBA+TPA) による皮膚がん発症を解析したところ、XCR1-DTA マウスにおいて発症が抑制された。このことから、XCR1+DC はがん発症に関与していると考えられた。そこで DMBA+TPA 投与後様々な時点での、コントロールマウス、XCR1-DTA マウスの皮膚における遺伝子発現パターンの解析を進めている。

2) 移植免疫応答における XCR1+DC の機能的意義の解析

松本満先生の指導の下に、皮膚移植の実験系を確立した。マウスの遺伝的背景はすべて C57BL/6 としている。コントロールのオスマウスの皮膚をコントロールのオスマウスに移植した場合に移植皮膚は生着した (図 1)。一方、コントロールのオスマウスの皮膚をコン

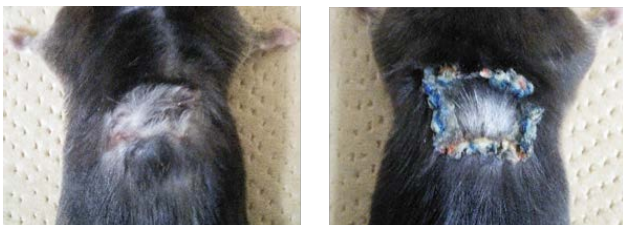


図 1. コントロールのオスマウスの皮膚をコントロールのオスマウスへ移植。移植後 25 日、マウス 2 匹の移植部位を示す。

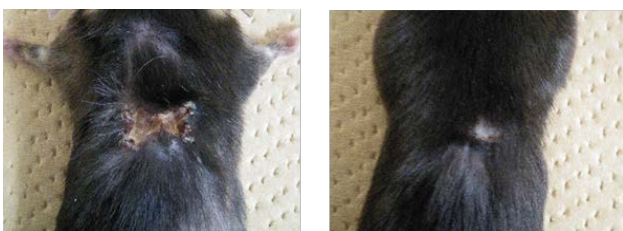


図 2. コントロールのオスマウスの皮膚をコントロールのメスマウスへ移植。移植後 25 日、マウス 2 匹の移植部位を示す。



図3. XCR1-DTA のオスマウスの皮膚を XCR1-DTA のメスマウスへ移植。移植後 25 日、マウス 2 匹の移植部位を示す。

トロールのメスマウスに移植した場合には移植皮膚は拒絶され、創傷は治癒した（図2）。そこで、XCR1-DTA のオスマウスの皮膚を XCR1-DTA のメスマウスに移植したところ、図2と同様に、移植皮膚は拒絶され、創傷は治癒した（図3）。XCR1+DC が欠失していても移植皮膚が拒絶されたことから、移植片拒絶反応において、XCR1+DC は必須ではないと考えられた。

References

1. C. Yamazaki, M. Sugiyama, T. Ohta, H. Hemmi, E. Hamada, I. Sasaki, Y. Fukuda, T. Yano, M. Nobuoka, T. Hirashima, A. Iizuka, K. Sato, T. Tanaka, K. Hoshino, T. Kaisho. 2013. Critical roles of a dendritic cell subset expressing a chemokine receptor, XCR1. **J. Immunol.** 190:6071-6082.
2. N. J. Daniels, E. Hyde, S. Ghosh, K. Seo, K. M. Price, K. Hoshino, T. Kaisho, T. Okada, F. Ronchese. 2016. Antigen-specific cytotoxic T lymphocytes target airway CD103+ and CD11b+ dendritic cells to suppress allergic inflammation. **Mucosal Immunol.** 9:229-239.
3. M. Kitano, C. Yamazaki, A. Takumi, T. Ikeno, H. Hemmi, N. Takahashi, K. Shimizu, Scott E. Fraser, K. Hoshino, T. Kaisho, T. Okada. 2016. Imaging of the cross-presenting dendritic cell subsets in the skin-draining lymph node. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 113:1044-1049.
4. T. Ohta, M. Sugiyama, H. Hemmi, C. Yamazaki, S. Okura, I. Sasaki, Y. Fukuda, T. Orimo, K. J. Ishii, K. Hoshino, F. Ginhoux, T. Kaisho. 2016. Crucial roles of XCR1-expressing dendritic cells and the XCR1-XCL1 chemokine axis in intestinal immune homeostasis. **Sci. Rep.** 6:23505.
5. K. Shimizu, M. Asakura, J. Shinga, Y. Sato, S. Kitahara, K. Hoshino, T. Kaisho, S. P. Schonberger, T. Ezaki, S. I. Fujii. 2013. Invariant NKT cells induce plasmacytoid DC cross-talk with conventional DCs for efficient memory CD8+ T cell induction. **J. Immunol.** 190:5609-5619.
6. S. Eickhoff, A. Brewitz, M. Y. Gerner, F. Klauschen, K. Komander, H. Hemmi, N. Garbi, T. Kaisho, R. N. Germain, W. Kastenmüller. 2015. Robust anti-viral immunity requires multiple distinct t cell-dendritic cell interactions. **Cell** 162:1322-1337.
7. M. Broz, E. Roberts, M. Binnewies, M. Headley, A. Nelson, D. Wolf, T. Kaisho, M. F. Krummel. 2016. Preeminent role for CD103+/CD141+ dendritic cells bearing CCR7 for tumor antigen trafficking and priming of T cell immunity in melanoma. **Cancer Cell** 30:1-13.
8. A. Brewitz, S. Eickhoff, S. Dähling, T. Quast, S. Bedoui, RA. Kroczeck, C. Kurts, N. Garbi, W. Barchet, M. Iannacone, F. Klauschen, W. Kolanus, T. Kaisho, M. Colonna, RN. Germain, W. Kastenmüller. 2017. CD8+ T Cells Orchestrate pDC-XCR1+ Dendritic Cell Spatial and Functional Cooperativity to Optimize Priming. **Immunity.** 46:205-219.
9. D. Fernandez-Ruiz, L. S. Lau, N. Ghazanfari, C. M. Jones, W. Y. Ng, G. M. Davey, D. Berthold, L. Holz2, Y. Kato, M. H. Enders, G. Bayarsaikhan, S. H. Hendriks, L. I. M. Lansink, J. A. Engel, M. S. F. Soon, K. R. James, A. Cozijnsen, V. Mollard, A. D. Uboldi, C. J. Tonkin, T. F. de Koning-Ward, P. R. Gilson, T. Kaisho, A. Haque, B. S. Crabb, F. R. Carbone, G. I. McFadden, W. R. Heath. 2017. Development of a novel CD4+ TCR transgenic line that reveals a dominant role for CD8+ DC and CD40-Signaling in the generation of helper and CTL responses to blood stage malaria. **J. Immunol.** 199:4165-4179.