

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19134

研究課題名(和文)自己免疫疾患における形質細胞様樹状細胞の役割と制御機構の解明

研究課題名(英文) Analysis on the mechanism of immune regulation by plasmacytoid dendritic cells in the development of autoimmune diseases

研究代表者

高木 秀明 (Takagi, Hideaki)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：10719628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：樹状細胞の一種である形質細胞様樹状細胞(pDCs)は、病原体由来核酸成分を認識して多量のI型インターフェロン(I型IFN)を産生する免疫細胞であり、抗ウイルス免疫応答を初めとした様々な免疫反応に重要な役割を果たしている。また、pDCsは自己由来の核酸成分も認識してI型IFNを産生し、全身性エリテマトーデス(SLE)や尋常性乾癬等の自己免疫疾患への関与が示唆されていたが、その詳細なメカニズムについてはこれまで不明であった。本研究ではpDCsを生体内で特異的に消失させた遺伝子改変マウスを用いて検討した結果、自己免疫疾患の発症と増悪にpDCsが重要な役割を担っていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Plasmacytoid dendritic cells (pDCs) are important for the innate and adaptive immune responses by producing robust type-I interferon (IFN-I) through the toll-like receptor (TLR)-mediated signaling. However, how pDCs control TLR-mediated immune responses that cause autoimmunity remains unclear. In this study, we demonstrated a critical function of pDCs in the induction of TLR7-mediated innate and adaptive immune responses that cause autoimmunity using gene-modified mice with impaired expression of Siglec-H and selective ablation of pDCs. Our findings reveal that pDCs provide an essential link between TLR7-mediated innate and adaptive immunity for the initiation of IFN-I-associated autoimmune inflammation.

研究分野：免疫学

キーワード：形質細胞様樹状細胞 I型インターフェロン 自己免疫疾患 炎症反応 Toll様受容体

1. 研究開始当初の背景

樹状細胞 (DCs) は樹状突起を有する免疫細胞であり、機能的に通常型樹状細胞 (cDCs) と形質細胞様樹状細胞 (pDCs) に大別されるサブセットから構成される。DCs は自然免疫と適応免疫を繋ぐ最も強力な抗原提示細胞として抗原特異的エフェクター T 細胞の誘導を介して免疫系を賦活し、免疫応答の司令塔として作用する。さらに近年では、免疫疾患の発症や増悪における DCs の役割が着目されつつある。

pDCs は cDCs と異なり、エンドソーム内核酸受容体である Toll 様受容体 (TLR) 7 と TLR9 を選択的に高発現しており、ウイルス由来核酸認識後に大量の I 型インターフェロン (IFN-I) を産生することからウイルス感染防御に重要な役割を果たすことが示されている。その一方で、pDCs は炎症反応により破壊された自己細胞由来の核酸も同様に認識して IFN-I を産生する。さらに、全身性エリテマトーデス (SLE) や尋常性乾癬等の自己免疫疾患では IFN-I の産生が血中で顕著に認められ、炎症組織に pDCs が選択的に集積していることが報告されている。これらの知見から、pDCs と IFN-I 介在性自己免疫疾患との関連が示唆されているが、pDCs の自己免疫病態形成への直接的な関与は明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、pDCs 特異的発現分子である Siglec-H の欠損 (Siglech^{kd}) マウスと pDCs 特異的消失 (pDC-ablated) マウスを用いて、炎症の慢性化とこれによる免疫病態の発症・増悪における pDCs の役割とその Siglec-H を介する分子基盤を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

研究方法は以下の通りである。

(1) pDCs による炎症反応の制御

野生型 (WT) マウスを対照として Siglec-H 欠損マウスと pDCs 特異的消失マウスにおける炎症反応の惹起を解析する。具体的には Imiquimod (TLR7 リガンド) を投与し、経時的に血清中の I 型 IFN と炎症性サイトカインの産生、個体の生存率を比較検討した。

(2) pDCs による抗原特異的 T 細胞応答の制御

WT マウスを対照として Siglec-H 欠損マウスと pDCs 特異的消失マウスの抗原特異的エフェクター T 細胞の惹起・活性化について検討する。具体的には OVA と Imiquimod の免疫モデルでの OVA 特異的エフェクター CD4+T 細胞 (TH1 細胞・TH17 細胞) の誘導、OVA 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の誘導を比較検討し

た。

(3) pDCs による尋常性乾癬病態形成の制御
WT マウスを対照として Siglec-H 欠損マウスと pDCs 特異的消失マウスにおける尋常性乾癬の発症と増悪、炎症反応、免疫応答について経時的に比較検討した。具体的には尋常性乾癬発症後の背部の病態スコア (紅斑・腫脹・脱落乾燥表皮) を計測、皮膚病理組織の評価、血清中の I 型 IFN と炎症性サイトカインの産生を測定、脾臓での免疫細胞構成とともに CD4+T 細胞サブセット (TH1 細胞・TH17 細胞・Foxp3+Treg 細胞)・IFN- 産生 CD8+T 細胞の存在比率・細胞数の測定を行った。

(4) pDCs によるループス様腎炎病態形成の制御

WT マウスを対照として Siglec-H 欠損マウス、pDCs 特異的消失マウスの Pristane 投与による炎症反応、免疫応答、免疫病態について経時的に比較検討した。具体的にはループス様腎炎組織病態スコアの評価、抗核抗体産生の測定と B 細胞/形質細胞の解析、血清中/腹腔洗浄液中でのサイトカイン産生の測定、脾臓/腹腔での免疫細胞構成、CD4+T 細胞サブセット (TH1 細胞・TH17 細胞・Foxp3+ Treg 細胞) の計測、自己反応性 CD4+T 細胞/CD8+T 細胞増殖能の計測等を行った。

4. 研究成果

得られた研究成果は以下の通りである。

(1) pDCs による炎症反応の制御

Siglec-H 欠損マウスでは WT マウスと比較して、IFN-I と炎症性サイトカインの産生とともに急性炎症による致死率が亢進していたが、pDCs 特異的消失マウスではこれらの減弱を示した。

(2) pDCs による抗原特異的 T 細胞応答の制御

Siglec-H 欠損マウスでは WT マウスと比較して、免疫後の脾臓中 IFN- 産生 CD4+T 細胞の誘導が増強していたが、pDCs 特異的消失マウスでは減弱していた。一方、WT マウスにおける IFN- 産生 CD8+T 細胞と OVA-tetramer 陽性 CD8+T 細胞の誘導と比較して、Siglec-H 欠損マウスと pDCs 特異的消失マウスではこれらの誘導がともに減弱していた。

(3) pDCs による尋常性乾癬病態形成の制御

WT マウスでは IMQ 塗布後に皮膚組織の肥厚、紅斑出現、鱗屑形成を呈する尋常性乾癬病態が出現した。一方、Siglec-H 欠損マウスでは WT マウスに比べて病態が悪化し、pDCs 特異的消失マウスではその緩和が認められた。

さらに、これらの免疫病態は血清中の

IFN- β 産生量および所属リンパ節における T 細胞のサイトカイン産性能との相関が認められた。

(4)pDCs によるループス様腎炎病態形成の制御

Siglec-H 欠損マウスでは WT マウスと比較して、腹腔内における炎症性単球の増加、IFN- β 関連遺伝子の発現の上昇、炎症性サイトカイン及び炎症性単球の動員に重要であるケモカインである CCL2 の産生の亢進が認められたが、pDCs 特異的消失マウスではいずれも減弱していた。以上の結果より、pDCs が pristan 誘発性炎症反応の惹起に必要であることが示された。

さらに、Siglec-H 欠損マウスでは WT マウスと比較して、血清中の抗核抗体(抗 ss-DNA, 抗 ds-DNA, 抗 snRNP, 抗 Sm 抗体)とクレアチニンの産生亢進が認められたが、pDCs 特異的消失マウスではいずれも減弱していた。また、腎臓病理解析において、WT マウスでは糸球体の肥大、糸球体間質基質増加、リンパ球浸潤ならびに糸球体周辺組織への IgG/IgM/C3 の沈着を呈する糸球体腎炎が認められた。一方、Siglec-H 欠損マウスでは糸球体腎炎病態が WT マウスと比較して増悪し、pDCs 特異的消失マウスでは緩和していた。

以上の結果から、pDCs が TLR7 依存性全身性炎症反応の惹起や IFN- β 介在性自己免疫疾患の病態形成に必要であり、Siglec-H が pDCs の機能制御分子であることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

1. Uto, T., Takagi, H., Fukaya, T., Nasu, J., Fukui, T., Miyanaga, N., Arimura, K., Nakamura, T., Choijookhuu, N., Hishikawa, Y., and Sato, K. Critical role of plasmacytoid dendritic cells in induction of oral tolerance. *J. Allergy. Clin. Immunol.*, in press. 査読有
2. Nakamura, T., Fukaya, T., Uto, T., Takagi, H., Arimura, K., Tono, T., and Sato, K. Selective depletion of basophils ameliorates immunoglobulin E-mediated anaphylaxis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 9:29-35, 2017. doi: 10.1016/j.bbrep.2016.11.001. 査読有
3. Arimura, K., Takagi, H., Uto, T., Fukaya, T., Nakamura, T.,

Choijookhuu, N., Hishikawa, Y., Yamashita, Y., and Sato, K. Crucial role of plasmacytoid dendritic cells in the development of acute colitis through the regulation of intestinal inflammation. *Mucosal Immunol.*, Jul, 10(4):954-970, 2017; doi: 10.1038/mi.2016.96. 査読有

4. Takagi, H., Arimura, K., Uto, T., Fukaya, T., Nakamura, T., Choijookhuu, N., Hishikawa, Y., and Sato, K. Plasmacytoid dendritic cells orchestrate TLR7-mediated innate and adaptive immunity for the initiation of autoimmune inflammation. *Sci. Rep.*, 6:24477. 2016. doi: 10.1013/srep24477. 査読有
5. Uto, T., Fukaya, T., Takagi, H., Arimura, K., Nakamura, T., Kojima, N., Malissen, B., and Sato, K. Clec4A4 is a regulatory receptor for dendritic cells that impairs inflammation and T-cell immunity. *Nat. Commun.*, 7: 11273, 2016, doi: 10.1038/ncomms11273. 査読有

[学会発表](計3件)

1. 高木秀明、宇都倫史、深谷知宏、奈須遵太、福井文仁、宮永宜明、有村慶一、中村雄、佐藤克明「Tolerogenesis of gastrointestinal plasmacytoid dendritic cells impacts the induction of oral tolerance」第46回日本免疫学会総会・仙台・2017
2. 高木秀明、有村慶一、深谷知宏、宇都倫史、中村雄、佐藤克明「Plasmacytoid dendritic cells orchestrate TLR7-mediated innate and adaptive immunity for the initiation of autoimmune inflammation」第45回日本免疫学会総会・沖縄・2016年
3. 高木秀明、有村慶一、深谷知宏、宇都倫史、佐藤克明・Critical role of plasmacytoid dendritic cells in the initiation of toll-like receptor 7-mediated autoimmune inflammation・第44回日本免疫学会総会・札幌・2015年

[図書](計5件)

1. 佐藤克明、宇都倫史、深谷知宏、高木秀明 先端医学社 炎症と免疫「樹状細胞サブセットと免疫

応答制御」

2017、25(3)、71-77.

2. Fukaya, T., Takagi, H., Uto, T, Arimura, K., Sato, K.
Springer
Methods Mol. Biol. 「Analysis of DC functions using CD205-DTR knock-in mice」
2016、1423、291-308.
3. 佐藤克明、高木秀明、有村慶一
先端医学社
炎症と免疫「形質細胞様樹状細胞による炎症反応とT細胞応答の制御」
2015、23(3)、66-71.
4. 佐藤克明、高木秀明、有村慶一
北隆館
別冊BIO Clinica 慢性炎症と疾患「形質細胞様樹状細胞による炎症制御」
2015、4(2)、22-26.
5. 佐藤克明、宇都倫史、深谷知宏、高木秀明
科学評論社
臨床免疫・アレルギー科「樹状細胞サブセットとその機能」
2015、63(6)、563-568.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/meneki/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

高木 秀明 (TAKAGI Hideaki)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：10719628