

平成22年 6月 7日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790370

研究課題名 (和文) DCIR による免疫制御機構の解析

研究課題名 (英文) The role of DCIR in the immune regulation

研究代表者

藤門 範行 (FUJIKADO NORIYUKI)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：90447334

研究成果の概要 (和文)：

本研究の結果、DCIR が関節炎発症のみならず他の自己免疫およびアレルギー疾患モデル系においても抑制的に機能することが明らかとなった。さらに、DCIR の内在性糖鎖リガンドを同定し、このリガンドが DCIR に抑制性のシグナルを入力することが示された。また、関節炎の病理解析の過程で見いだした骨代謝系への関与について解析を進め、DCIR が樹状細胞のみならず、破骨細胞および骨芽細胞においても機能することが明らかとなった。これらの結果から、DCIR を標的とした各種免疫疾患に対する新規治療法開発の可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

In this study, it was revealed that DCIR functions not only the development of arthritis, but also the development of other immune-related diseases such as other experimental autoimmune and allergic diseases. Moreover, we identified an endogenous carbohydrate ligand for DCIR, and showed that the ligand can input inhibitory signal to DCIR. And the role of DCIR in the bone metabolism, which was discovered during the pathological analysis of arthritis, is also examined and found that DCIR functions not only in DCs, but also in osteoclasts and osteoblasts. These findings should support the development of new therapeutics for immune-related diseases.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：自己免疫

1. 研究開始当初の背景

関節炎発症関連遺伝子として同定した DCIR の遺伝子欠損 (KO) マウスを作製したところ、DCIR が自己免疫の発症に重要な役割を果たしていることを見出した。しかしながら、DCIR を発現する詳細な DC サブセットやリガンド、関節炎以外の各種免疫疾患における DCIR の役割など不明な点が多く、DCIR の免疫制御機構における機能の全容は未解決のままであった。

2. 研究の目的

本研究計画では、我々の独自に作製した DCIR-KO マウスを用いて、免疫制御における DCIR の機能解析を行い、自己免疫疾患及びアレルギー疾患における DCIR の役割を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

DCIR 発現 DC サブセットの同定、DCIR リガンドの同定を目指すとともに、EAE、AHR などの疾患モデル系を用いて各種免疫疾患における DCIR の役割の解析を行った。

4. 研究成果

(1) DCIR 発現細胞の解析

DCIR の発現は主に CD11c 陽性の DC に認められるが、サブセットごとの発現は明らかになっていなかった。本研究の結果、DCIR は古典的 DC (cDC) のみならず、形質細胞様 DC (pDC) にも発現することが明らかとなった。また、別のグループから cDC の中でも MHC クラス II 依存性の抗原提示に特化した CD11b 陽性、CD8 陰性の集団に、また別のグループのデータベースでは CD4 陽性の DC に発現することが報告され、DCIR 発現 DC サブセットの詳細が明らかとなった。さらに我々は DCIR が DC のみならず破骨細胞及び骨芽細胞に発現することも見だし、骨免疫系への関与の可能性が示唆された。

(2) DCIR リガンドの同定

DCIR は糖鎖結合ドメインを有するため、リガンドとして糖鎖が結合する可能性が示唆されていたが、リガンドの詳細は不明であった。我々は DCIR の内在性リガンドを同定するため、まず初めに DCIR-Fc 融合タンパク質を用いたスクリーニングを試みたが、リガンドの同定には至らなかった。しかしながら、糖鎖アレイデータの解析及び糖鎖結合アッセイにより、内在性 DCIR リ

ガンドの同定に成功した。DCIR の認識する糖鎖構造は主に関節に存在するプロテオグリカンに存在し、関節の恒常性維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。(3) DCIR-KO マウスに自然発症する自己免疫疾患の病態解析

DCIR-KO マウスの C57BL/6J、BALB/c 背景への戻し交配をそれぞれ 12 世代まで進め、加齢とともに自然発症する自己免疫疾患の病態解析を進めた。加齢に伴って認められる炎症性の病態には系統差は認められなかったが、骨形成を伴う関節の強直については 129xB6 背景と同様に C57BL/6J 背景の雄マウスには認められるが、雌マウスや BALB/c 背景にはほとんど認められず、系統差および性差があることが明らかとなった。さらに C57BL/6J 背景の雄マウスに認められる強直が RAG-KO マウスとの二重欠損マウスで観察されないことから、加齢時の骨代謝異常には免疫系の関与があることが示唆された。

(4) 実験的自己免疫疾患モデルにおける DCIR の役割の解析

若齢の DCIR-KO マウスではコラーゲン誘導関節炎 (CIA) の系において、DC の増殖と Th17 型及び Th2 型免疫応答の亢進が観察される。そこで Th17 依存性の自己免疫疾患モデルである EAE の系を用いて解析を行った結果、DCIR-KO マウスにおいて重症度の有意な増悪化が認められた。また、CIA における Th2 型免疫応答の亢進は調節的な役割を果たしていることが推察されるが、一方で DCIR がアレルギー疾患において重要な役割を担っていることが示唆される。そこで、DCIR-KO マウスを用いて実験的喘息モデルである AHR を誘導した結果、肺胞洗浄液中の浸潤細胞数の有意な増加と抗原刺激による Th2 サイトカインの顕著な産生亢進が認められ、DCIR がアレルギー疾患においても重要な役割を果たしていることが示唆された。

(5) 骨代謝系における DCIR の役割

関節炎の病理解析の過程で見いだした骨代謝系への関与について解析を進めた。加齢した DCIR-KO マウスは自己免疫の発症とともに、免疫系依存的に関節の強直を自然発症するが、免疫系に異常の認められない若齢においても生理的な骨代謝系に異常があることが明らかとなった。生理的条件下において DCIR-KO マウスの破骨細胞及び骨芽細胞は共に増加しており、骨代謝回

転が亢進していた。これらの結果から、DCIR は病的、生理的両条件下において骨代謝系の恒常性維持に重要な役割を果たしてい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3件)

1. Saijo S, Ikeda S, Yamabe K, Kakuta S, Ishigame H, Akitsu A, Fujikado N, Kusaka T, Kubo S, Chung SH, Komatsu R, Miura N, Adachi Y, Ohno N, Shibuya K, Yamamoto N, Kawakami K, Yamasaki S, Saito T, Akira S, Iwakura Y. Dectin-2 Recognition of alpha-Mannans and Induction of Th17 Cell Differentiation Is Essential for Host Defense against *Candida albicans*. *Immunity*. 2010, 681-91

2. Ishigame H, Kakuta S, Nagai T, Kadoki M, Nambu A, Komiyama Y, Fujikado N, Tanahashi Y, Akitsu A, Kotaki H, Sudo K, Nakae S, Sasakawa C, Iwakura Y. Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucosal bacterial infection and allergic responses. *Immunity*. 2009, 108-19

3. Fujikado N, Saijo S, Yonezawa T, Shimamori K, Ishii A, Sugai S, Kotaki H, Sudo K, Nose M, Iwakura Y. Dcir deficiency causes development of autoimmune diseases in mice due to excess expansion of dendritic cells. *Nature Medicine*. 2008, 176-80

[学会発表] (計10件)

1. Fujikado N et al. The role of Dcir in the autoimmune and bone metabolic diseases. 第39回日本免疫学会総会・学術集会, 2009年12月2日, 大阪

2. 藤門範行, C型レクチンを標的とした免疫・骨代謝疾患の発症機構の解明と治療薬の開発, 第17回幹細胞治療フォーラム, 2009年7月30日, 東京

3. Fujikado N et al. The role of Dcir in the inflammatory diseases. World Congress on Inflammation 2009, 2009年7月6日, 東京

4. 藤門範行ら, 自己免疫疾患及び骨代謝疾患におけるDCIRの役割の解析, 第74回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 2009年6月26日, 京都

5. 藤門範行ら, 新たな自己免疫疾患モデル; Dcir欠損マウスの解析, 第56回日本実験動物学会総会, 2009年5月14日, 大宮

6. Fujikado N, et al. The role of Dcir in the development of autoimmune diseases. 第38回日本免疫学会総会・学術集会, 2008年12月2日, 京都

7. Fujikado N, et al. The role of DCIR in the development of autoimmune diseases. 7th Joint Conference of the International Cytokine Society and International Society for Interferon and Cytokine Research, 2008年10月13日, Montreal, Canada

8. 藤門範行ら, Dcirの欠損は樹状細胞の過剰増殖に起因する自己免疫疾患発症の原因となる, 第73回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 (Joint Conference in Sapporo 2008), 2008年7月11日, 札幌

9. 藤門範行ら, The role of Dcir in the development of autoimmune diseases. 第三回免疫疾患研究会, 2008年6月11日, 東京

10. 藤門範行ら, 関節リウマチモデルマウスのトランスクリプトーム解析より得られた新たな自己免疫疾患モデル Dcir欠損マウスの解析, 第55回日本実験動物学会総会, 2008年5月17日, 仙台

[図書] (計5件)

1. 藤門範行ら, 日本臨床社, 病態関連分子の探索と創薬への応用. 関節リウマチー寛解を目指す治療の新時代ー[第2版], 2010

2. 藤門範行ら, 最新医学社, 最新医学「Dcirと自己免疫疾患」, 2009

3. 藤門範行ら, ニュー・サイエンス社, Medical Science Digest「樹状細胞の抑制型受容体」, 2009

4. 藤門範行ら, 科学評論社, 臨床免疫・アレルギー科「C型レクチンによるコラーゲン誘導関節炎の制御」, 2008

5. 藤門範行ら, 羊土社, 実験医学 (2008増刊) 樹状細胞による免疫制御と臨床応用「自己免疫疾患におけるDcirの役割」, 2008

[産業財産権]

○出願状況（計1件）

名称：樹状細胞免疫受容体刺激剤
発明者：岩倉洋一郎、藤門範行、馬光宇
権利者：岩倉洋一郎、藤門範行、馬光宇
種類：特願
番号：特願 2010-37204
出願年月日：2010.2.23
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤門 範行（FUJIKADO NORIYUKI）
東京大学・医科学研究所・助教
研究者番号：90447334