

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月1日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2009～2011

課題番号：21689015

研究課題名（和文） マウス及びヒトの腸管粘膜固有層に存在する抗原提示細胞群の機能解析

研究課題名（英文） The analysis of antigen presenting cells in mouse and human intestinal lamina propria

研究代表者

植松 智 (UEMATSU SATOSHI)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任准教授

研究者番号：50379088

研究成果の概要（和文）：

小腸 CD103⁺DC が CD8 α の発現により2つのサブセットに分かれる事を見いだした。CD103⁺CD8 α ⁺DC は TLR3, 7, 9 を発現し、Th1 応答や抗原特異的 IgG を誘導した。CD103⁺CD8 α ⁻DC は TLR5, 9 を発現し、抗原特異的 IgG と IgA, Th1 と Th17 応答、そして強い細胞傷害性 T 細胞活性を誘導した。この様に2つの DC サブセットは、免疫の活性化において全く異なる機能を有していた。

研究成果の概要（英文）：

We found that CD103⁺DC in small intestine are divided into two subsets according to CD8 α expression. CD103⁺CD8 α ⁺DC express TLR3, 7 and 9 and induced Th1 response and Ag-specific IgG. In contrast, CD103⁺CD8 α ⁻DC express TLR5 and 9 and induced Th1 and Th17 responses, Ag-specific IgG and IgA and strong CTL activity. Accordingly, CD103⁺CD8 α ⁺LPDCs have the different function in active immunity from CD103⁺CD8 α ⁻LPDCs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2010年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
2011年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
年度			
年度			
総計	21,200,000	6,360,000	27,560,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：Toll-like receptor, マクロファージ, 樹状細胞, 腸管粘膜固有層

1. 研究開始当初の背景

腸管は食物の吸収や常在細菌叢との共生のため、免疫寛容を誘導して炎症などを抑制する一方で、侵入してくる病原体に対しては適切に認識を行い、免疫反応を誘導して排除を行う。しかし、どのような細胞が病原体を認識するか、またいかにして免疫寛容を凌駕し免疫系を活性化させるかについては殆ど分かっていなかった。Toll-like receptor (TLR) は自然免疫系の重要な受容体ファミリー群

の1つで、様々な病原体の構成成分を認識し、全身の免疫応答の誘導を開始する。申請者は、腸管において病原細菌に対するTLRの感染防御機構について研究を行った。特に、細菌の鞭毛構成タンパク、フラジェリンを認識するTLR5に注目し解析を行った。他のTLRと異なり、TLR5は腸管で発現が高く、小腸粘膜固有層のCD11c⁺細胞（CD11c⁺LPC）に特異的に発現していた。CD11c⁺LPCは鞭毛を使って腸管に侵入してくる病原細菌を感知し、TLR5依存

的に自然免疫応答を誘導することが明らかになった。一方、強毒菌の *Salmonella typhimurium* は CD11c⁺LPC に寄生し、TLR5 の活性化を通じて CD11c⁺LPC を「キャリアー」として利用し全身に感染を拡げていくことも明らかになった。(Uematsu S, et al. *Nat Immunol.* 2006.)。最近、小腸の CD11c⁺ LPC は、2種類の樹状細胞(DC)、マクロファージ、好酸球の4つのサブセットからなることが分かり、CD11c^{high}CD11b^{high}のLPDCが特異的にTLR5を発現していることを同定した。LPDCは、脾臓の樹状細胞と異なりビタミンA誘導体のレチノイン酸を産生する特殊な能力を持ち、粘膜固有層におけるIgA産生形質細胞の分化や、抗原特異的なCD4⁺ヘルパー-T_H1細胞とT_H-17細胞の分化をTLRの刺激依存的に誘導出来ることを明らかにした(Uematsu S, et al. *Nat Immunol.* 2008.)。腸管の細胞は単離が非常に困難なため、どのような細胞が免疫応答を開始し生体防御を誘導するかは分かっていなかった。しかも、腸管では免疫を抑制する細胞が存在すると考えられてきたので、小腸に病原細菌の侵入を認識して強力に自然免疫応答を誘導する細胞が存在しているということは大きな驚きであった。LPDCは、感染防御に重要な腸管粘膜のIgA産生に必須の細胞であり、細胞性免疫に重要なT_H1細胞の誘導に関わることから、経口粘膜ワクチンや癌免疫療法の良い標的細胞になることが考えられた。また、LPDCは自己免疫疾患の発症と密接に関わると報告されているT_H-17細胞を誘導したことから、難治性の自己免疫疾患であるクローン病の発症に関わる可能性が示唆された。このため、2報の論文はいずれも*Nat Immunol.*掲載号の表紙となり、粘膜免疫の分野で非常に注目を集めることとなった。

2. 研究の目的

本研究課題では、これまで機能を明らかにしたCD11c^{high}CD11b^{high}LPDCに加えて、マウス小腸に存在する他の3つの抗原提示細胞サブセットの機能解析を行う。個々のサブセットの機能だけでなく、サブセット間のクロストークも考慮し、マウスの腸管粘膜における免疫制御の仕組みを明らかにする。

3. 研究の方法

CD11c^{high}CD11b^{high}LPDCは、細胞性免疫と液性免疫に関わる非常にユニークな細胞で、粘膜免疫を標的とした新規の治療法の開発やクローン病の原因解明のために、ヒト腸管において同様の細胞を見つけその機能解析をすることは必要不可欠である。しかし、ヒトの腸管では、免疫染色などによる組織学的解析がなされているだけで、腸管に存在する細胞の機能的な解析はこれまで殆ど行われてこなかった。そこで、マウスで確立した腸管粘膜固有層の細胞の単離技術を利用して、ヒ

ト腸管から抗原提示細胞群を単離して機能解析を行う。単離した細胞の表面マーカーの解析、形態学的解析、免疫学的解析を行い、どのような細胞群が存在するかを明らかにする。そして、マウスLPDCのカウンターパートとなる樹状細胞を同定する。同定したヒトLPDCの詳細な機能解析を行い、樹状細胞の活性化に関わる自然免疫受容体群の検索や、抗原の取り込みに必須の分子の同定を行う。

4. 研究成果

マウスの小腸粘膜固有層に存在しているCD11c^{high}CD11b^{low}DCを解析した。我々はCD11c^{high}CD11b^{low}DCはCD8⁺を発現しているDCであることを見いだしたこのDCはTLR3, 7, 9を発現しており、リガンドに反応してIL-6やIL-12を産生した。CD11c^{high}CD11b^{low}DCはレチノイン酸を産生出来ず、制御性T細胞やIgA産生形質細胞を誘導することが出来なかった。一方、TLRリガンドに反応してTh1反応を誘導したがTh17反応は誘導することはできなかった。In vivoにおいては、抗原特異的なIgG産生を誘導したが、便中IgAは誘導する事が出来なかった。また抗原特異的なTh1応答を誘導したが、Th17応答に関しては誘導する事が出来なかった。脾臓のCD8⁺を発現しているDCとは異なり、CD11c^{high}CD11b^{low}DCの抗原特異的な細胞傷害活性は非常に弱かった。このように、腸管粘膜固有層の新しい樹状細胞サブセットを同定し、その免疫学的機能を網羅的に解析した。

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45件)

1. Moreira AP, Cavassani KA, Ismailoglu UB, Hullinger R, Dunleavy MP, Knight DA, Kunkel SL, Uematsu S, Akira S, Hogaboam CM. The protective role of TLR6 in a mouse model of asthma is mediated by IL-23 and IL-17A. *J Clin Invest.* 121(11): 4420-32, 2011.
2. Sasaki Y, Kamei D, Ishikawa Y, Ishii T, Uematsu S, Akira S, Murakami M, Hara S. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is involved in multiple steps of colon carcinogenesis. *Oncogene.* 2011.
3. Fujimoto K, Karuppuchamy T, Takemura N, Shimohigoshi M, Machida T, Haseda Y, Aoshi T, Ishii KJ, Akira S, Uematsu S*. A new subset of CD103⁺CD8a⁺ DCs in the small intestine express TLR3, TLR7 and TLR9, and induce Th1 response and CTL activity. *J Immunol.* 186(11):6287-95, 2011. (*Corresponding author).
4. Kuroda E, Ishii KJ, Uematsu S, Ohata K, Coban C, Akira S, Aritake K, Urade Y, Morimoto Y. Silica Crystals and Aluminum Salts Regulate the Production of

- Prostaglandin in Macrophages via NALP3 Inflammasome-Independent Mechanisms. *Immunity*. 34(4):514-26, 2011.
5. Davidson S, Kaiko G, Loh Z, Lalwani A, Zhang V, Spann K, Foo SY, Hansbro N, Uematsu S, Akira S, Matthaei KI, Rosenberg HF, Foster PS, Phipps S. Plasmacytoid Dendritic Cells Promote Host Defense against Acute Pneumovirus Infection via the TLR7-MyD88-Dependent Signaling Pathway. *J Immunol*. 186(10):5938-48, 2011.
 6. Letran SE, Lee SJ, Atif SM, Flores-Langarica A, Uematsu S, Akira S, Cunningham AF, McSorley SJ. TLR5-Deficient Mice Lack Basal Inflammatory and Metabolic Defects but Exhibit Impaired CD4 T Cell Responses to a Flagellated Pathogen. *J Immunol*. 2011. [Epub ahead of print]
 7. Saitoh T, Satoh T, Yamamoto N, Uematsu S, Takeuchi O, Kawai T, Akira S. Antiviral Protein Viperin Promotes Toll-like Receptor 7- and Toll-like Receptor 9-Mediated Type I Interferon Production in Plasmacytoid Dendritic Cells. *Immunity*. 34(3):352-63, 2011.
 8. Seo SU, Kwon HJ, Ko HJ, Byun YH, Seong BL, Uematsu S, Akira S, Kweon MN. Type I Interferon Signaling Regulates Ly6C Monocytes and Neutrophils during Acute Viral Pneumonia in Mice. *PLoS Pathog*. 7(2):e1001304, 2011.
 9. Isono M, Suzuki T, Hosono K, Hayashi I, Sakagami H, Uematsu S, Akira S, Declerck YA, Okamoto H, Majima M. Microsomal prostaglandin E synthase-1 enhances bone cancer growth and bone cancer-related pain behaviors in mice. *Life Sci*. 88(15-16):693-700, 2011.
 10. Lousberg EL, Diener KR, Fraser CK, Phipps S, Foster PS, Chen W, Uematsu S, Akira S, Robertson SA, Brown MP, Hayball JD. Antigen-Specific T-Cell Responses to a Recombinant Fowlpox Virus Are Dependent on MyD88 and Interleukin-18 and Independent of Toll-Like Receptor 7 (TLR7)- and TLR9-Mediated Innate Immune Recognition. *J Virol*. 85(7):3385-96, 2011.
 11. Numao A, Hosono K, Suzuki T, Hayashi I, Uematsu S, Akira S, Ogino Y, Kawauchi H, Unno N, Majima M. The inducible prostaglandin E synthase mPGES-1 regulates growth of endometrial tissues and angiogenesis in a mouse implantation model. *Biomed Pharmacother*. 65(1):77-84, 2011.
 12. Takemiya T, Matsumura K, Sugiura H, Yasuda S, Uematsu S, Akira S, Yamagata K. Endothelial microsomal prostaglandin E synthase-1 facilitates neurotoxicity by elevating astrocytic Ca²⁺ levels. *Neurochem Int*. 58(4):489-96, 2011.
 13. Letran SE, Lee SJ, Atif SM, Uematsu S, Akira S, McSorley SJ. TLR5 functions as an endocytic receptor to enhance flagellin-specific adaptive immunity. *Eur J Immunol*. 41(1):29-38, 2011.
 14. Uematsu S, Fujimoto K. The innate immune system in the intestine. *Microbiol Immunol*. 54(11):645-57, 2010. Review.
 15. Marre ML, Darcy CT, Yinh J, Akira S, Uematsu S, Steere AC, Hu LT. Role of adrenomedullin in Lyme disease. *Infect Immun*. 78(12):5307-13, 2010.
 16. Ae T, Ohno T, Hattori Y, Suzuki T, Hosono K, Minamino T, Sato T, Uematsu S, Akira S, Koizumi W, Majima M. Role of microsomal prostaglandin E synthase-1 in the facilitation of angiogenesis and the healing of gastric ulcers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 299(5):G1139-46, 2010.
 17. Hyakkoku K, Hamanaka J, Tsuruma K, Shimazawa M, Tanaka H, Uematsu S, Akira S, Inagaki N, Nagai H, Hara H. Toll-like receptor 4 (TLR4), but not TLR3 or TLR9, knock-out mice have neuroprotective effects against focal cerebral ischemia. *Neuroscience*. 171(1):258-67, 2010.
 18. Suram S, Gangelhoff TA, Taylor PR, Rosas M, Brown GD, Bonventre JV, Akira S, Uematsu S, Williams DL, Murphy RC, Leslie CC. Pathways regulating cytosolic phospholipase A2 activation and eicosanoid production in macrophages by *Candida albicans*. *J Biol Chem*. 285(40):30676-85, 2010.
 19. Ikeda-Matsuo Y, Tanji H, Ota A, Hirayama Y, Uematsu S, Akira S, Sasaki Y. Microsomal prostaglandin E synthase-1 contributes to ischaemic excitotoxicity through prostaglandin E2 EP3 receptors. *Br J Pharmacol*. 160(4):847-59, 2010.
 20. Kamata H, Hosono K, Suzuki T, Ogawa Y, Kubo H, Katoh H, Ito Y, Uematsu S, Akira S, Watanabe M, Majima M. mPGES-1-expressing bone marrow-derived cells enhance tumor growth and angiogenesis in mice. *Biomed Pharmacother*. 64(6):409-16, 2010.
 21. Toma C, Higa N, Koizumi Y, Nakasone N, Ogura Y, McCoy AJ, Franchi L, Uematsu S, Sagara J, Taniguchi S, Tsutsui H, Akira S, Tschoep J, Nuñez G, Suzuki T. Pathogenic *Vibrio* activate NLRP3 inflammasome via cytotoxins and TLR/nucleotide-binding oligomerization domain-mediated NF- κ B signaling. *J Immunol*. 184(9):5287-97, 2010.
 22. Ikeda-Matsuo Y, Hirayama Y, Ota A, Uematsu S, Akira S, Sasaki Y. Microsomal prostaglandin E synthase-1 and cyclooxygenase-2 are both required for ischaemic excitotoxicity. *Br J Pharmacol*. 159(5):1174-86, 2010.
 23. Paveglio SA, Allard J, Foster Hodgkins SR, Ather J, Bevelander M, Mayette Campbell J, Whittaker Leclair LA, McCarthy SM, van der Vliet A, Suratt BT, Boyson JE, Uematsu S, Akira S, Poynter ME. Airway Epithelial Indoleamine 2,3-Dioxygenase Inhibits CD4+ T Cells During *Aspergillus fumigatus* Antigen Exposure. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2010. [Epub ahead of print]
 24. Fong DJ, Hogaboam CM, Matsuno Y, Akira S, Uematsu S, Joshi AD. Toll-like receptor 6 drives interleukin-17A

- expression during experimental hypersensitivity pneumonitis. *Immunology*. 130(1):125-36, 2010.
25. Rajagopal D, Paturel C, Morel Y, Uematsu S, Akira S, Diebold SS. Plasmacytoid dendritic cell-derived type I interferon is crucial for the adjuvant activity of Toll-like receptor 7 agonists. *Blood*. 115(10):1949-57, 2010.
26. Burns E, Eliyahu T, Uematsu S, Akira S, Nussbaum G. TLR2-dependent inflammatory response to Porphyromonas gingivalis is MyD88 independent, whereas MyD88 is required to clear infection. *J Immunol*. 184(3):1455-62, 2010.
27. Lundquist A, Nallamshetty SN, Xing W, Feng C, Laidlaw TM, Uematsu S, Akira S, Boyce JA. Prostaglandin E(2) exerts homeostatic regulation of pulmonary vascular remodeling in allergic airway inflammation. *J Immunol*. 184(1):433-41, 2010.
28. Santiago-Raber ML, Dunand-Sauthier I, Wu T, Li QZ, Uematsu S, Akira S, Reith W, Mohan C, Kotzin BL, Izui S. Critical role of TLR7 in the acceleration of systemic lupus erythematosus in TLR9-deficient mice. *J Autoimmun*. 34(4):339-48, 2010.
29. Uematsu S, Akira S. Intestine and Innate Immunity: *Bioscience and Microflora* 28(3): 69-74, 2009. Review.
30. Kihara Y, Matsushita T, Kita Y, Uematsu S, Akira S, Kira J, Ishii S, Shimizu T. Targeted lipidomics reveals mPGES-1-PGE2 as a therapeutic target for multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106(51):21807-12, 2009.
31. Kamei D, Murakami M, Sasaki Y, Nakatani Y, Majima M, Ishikawa Y, Ishii T, Uematsu S, Akira S, Hara S, Kudo T. Microsomal prostaglandin E synthase-1 in both cancer cells and hosts contributes to tumour growth, invasion and metastasis. *Biochem J*. 425(2):361-71, 2009.
32. Pan ZJ, Maier S, Schwarz K, Azbill J, Akira S, Uematsu S, Farris AD. TLR7 modulates anti-nucleosomal autoantibody isotype and renal complement deposition in mice exposed to syngeneic late apoptotic cells. *Ann Rheum Dis*. 69(6):1195-9, 2009.
33. Takemiya T, Matsumura K, Sugiura H, Maehara M, Yasuda S, Uematsu S, Akira S, Yamagata K. Endothelial microsomal prostaglandin E synthase-1 exacerbates neuronal loss induced by kainate. *J Neurosci Res*. 88(2):381-90, 2009.
34. Kayama H, Koga R, Atarashi K, Okuyama M, Kimura T, Mak TW, Uematsu S, Akira S, Takayanagi H, Honda K, Yamamoto M, Takeda K. NFATc1 mediates Toll-like receptor-independent innate immune responses during Trypanosoma cruzi infection. *PLoS Pathog*. 5(7): e1000514, 2009.
35. Shin OS, Miller LS, Modlin RL, Akira S, Uematsu S, Hu LT. Downstream signals for MyD88-mediated phagocytosis of Borrelia burgdorferi can be initiated by TRIF and are dependent on PI3K. *J Immunol*. 183(1): 491-8, 2009.
36. Tirapu I, Giquel B, Alexopoulou L, Uematsu S, Flavell R, Akira S, Diebold SS. PolyI:C-induced reduction in uptake of soluble antigen is independent of dendritic cell activation. *Int Immunol*. 21(7): 871-9, 2009.
37. Bates JT, Uematsu S, Akira S, Mizel SB. Direct stimulation of tlr5+/+ CD11c+ cells is necessary for the adjuvant activity of flagellin. *J Immunol*. 182(12): 7539-47, 2009.
38. Abe T, Kaname Y, Wen X, Tani H, Moriishi K, Uematsu S, Takeuchi O, Ishii KJ, Kawai T, Akira S, Matsuura Y. Baculovirus induces type I interferon production through toll-like receptor-dependent and -independent pathways in a cell-type-specific manner. *J Virol*. 83(15): 7629-40, 2009.
39. Janot L, Sirard JC, Secher T, Noulain N, Fick L, Akira S, Uematsu S, Didierlaurent A, Hussell T, Ryffel B, Erard F. Radioresistant cells expressing TLR5 control the respiratory epithelium's innate immune responses to flagellin. *Eur J Immunol*. 39(6): 1587-96, 2009.
40. Ueta M, Uematsu S, Akira S, Kinoshita S. Toll-like receptor 3 enhances late-phase reaction of experimental allergic conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol*. 123(5): 1187-9, 2009.
41. Allard JB, Rinaldi L, Wargo MJ, Allen G, Akira S, Uematsu S, Poynter ME, Hogan DA, Rincon M, Whittaker LA. Th2 allergic immune response to inhaled fungal antigens is modulated by TLR-4-independent bacterial products. *Eur J Immunol*. 39(3): 776-88, 2009.
42. Kim JH, Kim SJ, Lee IS, Lee MS, Uematsu S, Akira S, Oh KI. Bacterial endotoxin induces the release of high mobility group box 1 via the IFN-beta signaling pathway. *J Immunol*. 182(4): 2458-66, 2009.
43. Puliti M, Uematsu S, Akira S, Bistoni F, Tissi L. Toll-like receptor 2 deficiency is associated with enhanced severity of group B streptococcal disease. *Infect Immun*. 77(4): 1524-31, 2009.
44. Sanders CJ, Franchi L, Yarovinsky F, Uematsu S, Akira S, Núñez G, Gewirtz AT. Induction of adaptive immunity by flagellin does not require robust activation of innate immunity. *Eur J Immunol*. 39(2): 359-71, 2009.
45. Amiel E, Alonso A, Uematsu S, Akira S, Poynter ME, Berwin B. Pivotal Advance: Toll-like receptor regulation of scavenger receptor-A-mediated phagocytosis. *J Leukoc Biol*. 85(4): 595-605, 2009.

[学会発表] (計5件)

1. **植松智**. 消化管自然免疫からみた食物アレルギーの成立および耐性獲得. 第5回子どもの食育を考えるフォーラム (大阪医科大学) 2011年1月29日。特別講演。
2. **植松智**. Antigen-specific cytokine profiles and phenotypes in small intestinal Th17 cells. シンポジウム 第10回淡路島感染症免疫フォーラム. 2010年9月7-10日;淡路。
3. **Uematsu S**. Regulation of humoral and cellular gut immunity by lamina propria dendritic cells expressing Toll-like receptor 5. Symposium The 2009 Fall Conference of The Korean Association of Immunologists. 2009 Nov 9-10; Seoul, Korea.
4. **植松智**. 特別講演 臨床医が知っておきたい自然免疫の知識—基本から最近の知見まで—. 第149回大阪小児科医学会学術集会, 2009年9月12日;大阪
5. **植松智**. 特別講演 自然免疫と消化管. 第23回大阪小児栄養消化器病懇話会, 2009年6月6日;大阪。

[図書] (計5件)

1. **植松 智**. **臨床粘膜免疫学** 分泌型IgA誘導における分子・細胞環境 粘膜系樹状細胞 (実行組織). シナジー, 東京:pp275-280, 2010
2. **植松 智**, 審良静男. **臨床粘膜免疫学** 粘膜における自然免疫 TLRs・RLRs. シナジー, 東京:pp66-78, 2010
3. **植松 智**. **蛋白質核酸酵素増刊** 腸内細菌感染における TLR5 陽性樹状細胞の免疫応答. 共立出版, 東京: pp1020-1026, 2009
4. **植松 智**. **感染・炎症・免疫** 腸管粘膜固有層のTLR5陽性樹状細胞の免疫制御. 医薬の門社, 東京: pp26-33, 2009
5. 藤本康介, **植松 智**, 審良静男. **臨床免疫・アレルギー科** 小腸粘膜固有層TLR5+樹状細胞によるIgA産生とTh17細胞の誘導. 科学評論社, 東京: pp207-216, 2009

[その他]

ホームページ等

<http://hostdefense.ifrec.osaka-u.ac.jp/ja/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植松 智 (UEMATSU SATOSHI)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター

・特任准教授

研究者番号: 50379088

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号:

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号: