

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293099

研究課題名(和文) 結核菌を認識するレクチン受容体群の発見と新規リガンドを介する免疫賦活機構

研究課題名(英文) Regulation of immune responses via C-type lectin receptor family that recognize mycobacteria

研究代表者

山崎 晶 (Yamasaki, Sho)

九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究者番号：40312946

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：C型レクチン受容体DCARが、結核菌に含まれる特有の成分、ホスファチジルイノシトールマンノシド(PIM)と呼ばれる糖脂質を認識する受容体としてはたらく、免疫応答を活性化していることを発見見出した。DCARは、単球由来炎症性マクロファージに限局して発現しており、結核菌のPIMがDCARに結合すると、このマクロファージが活性化されることが判明した。さらに、活性化したマクロファージは、サイトカインやケモカインを放出してさらにTh1応答を活性化させることで、菌の排除に寄与していることも明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Phosphatidyl-inositol mannosides (PIM) are unique mycobacterial glycolipids that stimulate host immune responses. Mycobacteria activated reporter cells expressing DCAR and delipidation of mycobacteria abolished this activity. Further, tri- and tetra-acylated PIMs (AcPIM2 and Ac2PIM2) purified from mycobacteria lipids were ligands for DCAR. DCAR was predominantly expressed in small peritoneal macrophages (SPMs) and monocyte-derived inflammatory cells in lungs and spleen. PIM treatment induced these cells to produce MCP-1, and production of MCP-1 was abrogated in the absence of DCAR or FcR. Upon mycobacterial infection, DCAR-deficient mice showed reduced numbers of monocyte-derived inflammatory cells at the infection site, impaired IFN production by CD4+ T cells, and an increased bacterial load. These results demonstrate that DCAR is a critical receptor for mycobacterial PIM and functions to promote Th1 responses against mycobacteria.

研究分野：免疫学

キーワード：C型レクチン 自然免疫 細菌感染 糖脂質

1. 研究開始当初の背景

結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) の感染によって引き起こされる結核は、世界人口の約 1/3 が罹患しており、毎年 150 万人以上が命を落とす、現代においてもなお重大な三大感染症の一つである。近年、C 型レクチンファミリー分子がその直接の受容体であることが分かってきた。Mincle や MCL、Dectin-2 は、染色体上にそれぞれ隣接して存在しているだけでなく、いずれも FcR γ 鎖と会合し、下流に活性化シグナルを伝達する。同じ遺伝子座にコードされている DCAR (dendritic cell immunostimulating receptor) も、これらの C 型レクチンと同様に FcR γ 鎖と会合することが報告されていたが、リガンドや生理的な機能は不明であった。

2. 研究の目的

結核菌感染における C 型レクチンファミリー分子の役割を明らかにする。

3. 研究の方法

DCAR 発現レポーター細胞を用いて様々な抗酸菌に対する認識能を検討した。陽性抗酸菌より、様々な有機溶媒を用いて脂質を抽出し、活性画分を精製した。精製した画分の構造を NMR、MS を用いて解析した。DCAR の感染における生理的役割を検討するため、DCAR 欠損マウスを樹立し、in vitro、in vivo の解析を行った。

4. 研究成果

結核菌に含まれる DCAR リガンドとして、アシル化修飾されたフォスファチジルイノシトールマンノシド (phosphatidyl-inositol mannoside; PIM) を同定した。DCAR を特異的に認識するモノクローナル抗体を樹立し、この抗体を用いて、マウス組織における DCAR の発現細胞を解析したところ、腹腔内の一部の細胞集団 SPM (small peritoneal macrophage) をはじめとする単球由来炎症性マクロファージに DCAR が限局して発現していることを見出した。実際の結核菌感染において、DCAR 欠損マウスでは、感染局所での MCP-1 産生が低下しており、炎症性単球の浸潤も減少していた。加えて、結核菌抗原特異的な IFN γ 産生が減弱し、臓器内菌数が上昇傾向を示したことから、Th1 応答を介した宿主防御に DCAR が寄与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 13 件)

1. Mori D, Shibata K, Yamasaki S. C-Type Lectin Receptor Dectin-2 Binds to an Endogenous Protein β -Glucuronidase on

Dendritic Cells. *PLoS One*, 12: e0169562, 2017

doi: 10.1371/journal.pone.0169562.

2. Toyonaga K, Torigoe S, Motomura Y, Kamichi T, Hayashi JM, Morita YS, Noguchi N, Chuma Y, Kiyohara H, Matsuo K, Tanaka H, Nakagawa Y, Sakuma T, Ohmuraya M, Yamamoto T, Umemura M, Matsuzaki G, Yoshikai Y, Yano I, Miyamoto T, Yamasaki S. C-Type Lectin Receptor DCAR Recognizes Mycobacterial Phosphatidylinositol Mannosides to Promote a Th1 Response during Infection. *Immunity*, 45: 1245-1257, 2016

doi: 10.1016/j.immuni.2016.10.012

3. Kiyotake R, Oh-Hora M, Ishikawa E, Miyamoto T, Ishibashi T, Yamasaki S. Human Mincle Binds to Cholesterol Crystals and Triggers Innate Immune Responses. *J. Biol. Chem.* 290: 25322-32, 2015

doi: 10.1074/jbc.M115.645234.

4. Miyake Y, Masatsugu OH, Yamasaki S. C-Type Lectin Receptor MCL Facilitates Mincle Expression and Signaling through Complex Formation. *J. Immunol.* 194: 5366-74, 2015

doi: 10.4049/jimmunol.1402429.

5. Motomura Y, Kanno S, Asano K, Tanaka M, Hasegawa Y, Katagiri H, Saito T, Hara H, Nishio H, Hara T, Yamasaki S. Identification of Pathogenic Cardiac CD11c+ Macrophages in Nod1-Mediated Acute Coronary Arteritis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 35: 1423-33, 2015

doi: 10.1161/ATVBAHA.114.304846.

6. Behler-Janbeck F, Takano T, Maus R, Stolper J, Jonigk D, Tort Tarrés M, Fuehner T, Prasse A, Welte T, Timmer MS, Stocker BL, Nakanishi Y, Miyamoto T, Yamasaki S, Maus UA. C-type Lectin Mincle Recognizes Glucosyl-diacylglycerol of Streptococcus pneumoniae and Plays a Protective Role in Pneumococcal Pneumonia. *PLoS Pathog.* 12: e1006038, 2016
doi: 10.1371/journal.ppat.1006038.
7. Iborra S, Martínez-López M, Cueto FJ, Conde-Garrosa R, Del Fresno C, Izquierdo HM, Abram CL, Mori D, Campos-Martín Y, Reguera RM, Kemp B, Yamasaki S, Robinson MJ, Soto M, Lowell CA, Sancho D. Leishmania Uses Mincle to Target an Inhibitory ITAM Signaling Pathway in Dendritic Cells that Dampens Adaptive Immunity to Infection. *Immunity* 45:788-801, 2016
doi: 10.1016/j.immuni.2016.09.012.
8. Ishikawa E, Kosako H, Yasuda T, Ohmuraya M, Araki K, Kurosaki T, Saito T, Yamasaki S. Protein kinase D regulates positive selection of CD4(+) thymocytes through phosphorylation of SHP-1. *Nat Commun.* 7:12756, 2016
doi: 10.1038/ncomms12756.
9. Shah S, Nagata M, Yamasaki S, Williams SJ. Total synthesis of a cyclopropane-fatty acid α -glucosyl diglyceride from Lactobacillus plantarum and identification of its ability to signal through Mincle. *Chem Commun (Camb)*. 52:10902-5, 2016
doi: 10.1039/c6cc05631h.
10. Kerscher B, Dambuza IM, Christofi M, Reid DM, Yamasaki S, Willment JA, Brown GD. Signalling through MyD88 drives surface expression of the mycobacterial receptors MCL (Clec4d) and Mincle (Clec4e) following microbial stimulation. *Microbes Infect.* 18:505-9, 2016
doi: 10.1016/j.micinf.2016.03.007.
11. Kerscher B, Wilson GJ, Reid DM, Mori D, Taylor JA, Besra GS, Yamasaki S, Willment JA, Brown GD. Mycobacterial receptor, Clec4d (CLECSF8, MCL), is coregulated with Mincle and upregulated on mouse myeloid cells following microbial challenge. *Eur. J. Immunol.* 46:381-9, 2016
doi:10.1002/eji.201545858.
12. Wilson GJ, Marakalala MJ, Hoving JC, van Laarhoven A, Drummond RA, Kerscher B, Keeton R, van de Vosse E, Ottenhoff TH, Plantinga TS, Alisjahbana B, Govender D, Besra GS, Netea MG, Reid DM, Willment JA, Jacobs M, Yamasaki S, van Crevel R, Brown GD. The C-type lectin receptor CLECSF8/CLEC4D is a key component of anti-mycobacterial immunity. *Cell Host Microbe.* 17: 252-9, 2015
doi: 10.1016/j.chom.2015.01.004.
13. Yonekawa A, Saijo S, Hoshino Y, Miyake Y, Ishikawa E, Suzukawa M, Inoue H, Tanaka M, Yoneyama M, Oh-Hora M, Akashi K, Yamasaki S. Dectin-2 is a direct receptor for mannose-capped lipoarabinomannan of mycobacteria. *Immunity*, 41: 402-13, 2014
doi: 10.1016/j.immuni.2014.08.005.

{学会発表}(計22件)

1. 山崎晶 (2016, 12/12-14). Recognition of

- mycobacterial glycolipids through lectin receptors. IUBMB Meeting, Taipei, Taiwan.
2. 山崎晶 (2016, 10/6). 免疫系による死細胞認識機構とその応答. 第31回日本 Shock 学会総会 (日本 Cell Death 学会合同シンポジウム), 東京
 3. Sho Yamasaki (2016, 5/14). C型レクチン受容体による病原体認識と免疫応答. 第81回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 長崎.
 4. Sho Yamasaki (2016, 5/13). Recognition of Mycobacteria through C-Type Lectin Receptors. The 13th Korea - Japan International Symposium on Microbiology, Gyeongju, Korea.
 5. Sho Yamasaki (2016, 4/19-22). Recognition of mycobacterial glycolipids through C-type lectin receptors. Glycoscience Japan-The Netherlands Joint Seminar 2016, Leiden, The Netherlands
 6. 山崎晶 (2016, 3/9-11). Recognition of mycobacteria through C-type lectin receptors. 第89回日本薬理学会年会, 横浜.
 7. 山崎晶 (2016, 3/2). Recognition of damaged self through C-type lectin receptors. Environment controlling normal and diseased hematopoietic and immune systems, 横浜.
 8. Sho Yamasaki (2015, 11/6). Immune responses to mycobacteria through C-type lectin receptors. Seminar at Chungnam National University, Daejeon, Korea.
 9. Sho Yamasaki (2015, 11/5). Recognition of Mycobacterial Adjuvants through C-type Lectin Receptors. International Meeting of the Federation of Korean Microbiological Societies, Ilsan, Korea.
 10. Sho Yamasaki (2015, 10/21-23). Recognition of damaged self through Mincle. Japan Australia Meeting on Cell Death, Melbourne, Australia.
 11. Sho Yamasaki, Yoshitomo Motomura (2015, 9/19-21). Identification of Pathogenic Cardiac CD11c⁺ Macrophages in Coronary Arteritis Similar to Kawasaki Disease. The 4th CSI/JSI/KAI Joint Symposium on Immunology, Suzhou, China.
 12. 山崎晶 (2015, 7/11-12). 死細胞認識受容体 Mincle が認識する内因性糖脂質の探索. 第24回日本 Cell Death 学会学術集会, 大阪.
 13. Sho Yamasaki (2015, 6/7-12). Immune Responses to Mycobacterial components through C-type Lectin Receptors. FASEB Science Research Conferences "Signal Transduction in the Immune System", Big Sky, USA.
 14. 山崎晶 (2015, 5/28-29). C型レクチン受容体による糖脂質認識と免疫応答. 第57回日本脂質生化学会, 東京.
 15. Sho Yamasaki (2015, 2/23-24). Regulation of immune responses through C-type lectin receptors. The 6th International Symposium of IFRcC, Osaka.
 16. Sho Yamasaki (2015, 1/18-23). Recognition of fungal pathogens by C-type lectin receptors. The 2015 Immunology of Fungal

Infections Gordon Research Conference,
Galveston, USA.

17. Sho Yamasaki (2015, 1/18-23). Recognition of fungal pathogens by C-type lectin receptors. Gordon Research Conferences 2015 Immunology of Fungal Infections. Galveston, USA.
18. 山崎晶 (2014.12.10-12). 損傷自己組織の認識と慢性炎症. 第 43 回日本免疫学会学術集会オーバービュートーク, 京都.
19. Sho Yamasaki (2014, 10/26-28). Recognition of mycobacterial adjuvants through C-type lectin receptors. 8th Vaccine and ISV Congress, Philadelphia, USA.
20. Sho Yamasaki (2014, 10/15-18). Immune responses against glycolipids through C-type lectin receptors. 第 87 回日本生化学会大会, 京都.
21. Sho Yamasaki (2014.9.23-26). Recognition of bacterial adjuvants through C-type lectin receptors. 第 13 回あわじしま感染症・免疫フォーラム, 奈良.
22. Sho Yamasaki (2014, 9/2-6). Adjuvant recognition through C-type lectin Receptors. 2014 Cold Spring Harbor Asia Conference on Frontiers of Immunology in Health and Diseases, Suzhou, China.

{ 図書 } (計 2 件)

1. Masahiro Nagata, Zakaria Omahdi, Sho Yamasaki. 2016. Pathogen-Sensing by Mincle: Function and Molecular Aspects. C-Type Lectin Receptors in Immunity, p15-34, Springer.

2. Sho Yamasaki. 2016. C-Type Lectin Receptors in Immunity. Editor Sho Yamasaki, Springer.

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 晶 (YAMASAKI, Sho)
九州大学・生体防御医学研究所・教授
研究者番号 : 4 0 3 1 2 9 4 6

(2) 研究分担者

大村谷 昌樹 (OHMURAYA Masaki)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 6 0 3 9 8 2 2 9