

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15190

研究課題名（和文）CD47-SIRP シグナルによる樹状細胞ならびにリンパ組織制御機構の解明

研究課題名（英文）Regulation of dendritic cells and lymphoid tissues by CD47-SIRPalpha signaling

研究代表者

齊藤 泰之（Saito, Yasuyuki）

神戸大学・医学研究科・講師

研究者番号：40508842

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：研究代表者は、細胞間シグナルであるCD47-SIRP シグナルによる樹状細胞（DC）を介したリンパ組織再構築の制御、ならびに自己免疫疾患の発症制御機構に関して検討をおこなった。その結果、SIRP シグナルはDCによるストローマ細胞の生体内での維持ならびにリンパ組織の再構築に重要であることを明らかにした。さらにDC上のSIRP およびCD47により、自己免疫疾患モデルである実験的自身免疫性脳脊髄炎モデルにおいて、末梢リンパ組織組織での自己反応性T細胞の活性化および中枢神経系への炎症細胞の浸潤や再活性化が制御されることを見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、自己免疫疾患の発症やリンパ組織ストローマ細胞の再構築において新たな作用機序の解明をもたらすことから、各種免疫疾患（自己免疫疾患、感染症、移植免疫）や腫瘍免疫応答に対する革新的な診断や治療技術開発などの新たな創造をもたらすことが期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated the regulatory mechanism how dendritic cells (DCs) mediates lymphoid tissue reconstitution, as well as regulates the pathogenesis of autoimmune diseases, by the CD47-SIRP signaling. We found that SIRP signaling is important for DC-induced maintenance of stromal cells in vivo, as well as for the reconstitution of lymphoid tissue. Furthermore, we found that SIRP and CD47 on DCs regulate the priming of self-reactive T cells in the peripheral lymphoid tissue and the subsequent infiltration or reactivation of inflammatory cells into the central nervous system in an experimental autoimmune encephalomyelitis model.

研究分野：免疫学、血液学

キーワード：樹状細胞 ストローマ細胞 自己免疫疾患 SIRP CD47

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

樹状細胞 (DC) は強力な抗原提示能を有した免疫細胞であり、免疫応答ならびに免疫寛容の誘導に中心的な役割を果たすことが知られている。DC は機能や分化系譜の違いから、plasmacytoid DC (pDC)、type1 および type2 conventional DC (cDC1、cDC2) に分類され、脾臓やリンパ節などの二次リンパ組織 (SLO) のみならず、腸管や皮膚など様々な非リンパ組織にも存在する。近年の研究成果により、膜型分子を介した細胞間の相互作用、中でも DC-ストローマ細胞の相互作用により制御されることが新たに提唱されているものの、その詳細な分子機構については未だ十分に明らかとなっていない。さらに DC は自己免疫疾患の発症制御に重要であるが、膜型分子を介した制御機構についても不明な点が多い。

SIRP α (Signal regulatory protein α) は DC、なかでも cDC2 に高発現する受容体型膜タンパクである。SIRP α はその生理的リガンドである膜蛋白質 CD47 と相互作用することによって (CD47-SIRP α シグナル系)、DC の恒常性や脾臓組織のストローマ細胞である細網線維芽細胞 (FRC) の増殖・生存などが制御されることを研究代表者は報告してきた。さらに研究代表者は CD47-SIRP α シグナル系による自己免疫性疾患 (多発性硬化症や慢性関節リウマチモデル) の発症制御の重要性についても明らかにしてきたが、CD47 もしくは SIRP α による細胞レベルでの自己免疫性疾患の制御についても不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、細胞間シグナル CD47-SIRP α 系による免疫制御、特に DC の機能制御に関して、研究代表者がこれまで国内外で行ってきた研究成果を基盤とし、新たに①リンパ組織再構築における CD47-SIRP α シグナルによる制御機構の解明、②CD47-SIRP α シグナルによる自己免疫応答の制御機構の解明を行うことで、CD47-SIRP α シグナル系により DC がもたらす多彩な機能を明らかにする。本研究の成果は、自己免疫疾患の発症やリンパ組織ストローマ細胞の再構築において新たな作用機序の解明をもたらすことから、各種免疫疾患 (自己免疫疾患、感染症、移植免疫) や腫瘍免疫応答に対する革新的な診断や治療技術開発などの新たな創造をもたらすことが期待される。

3. 研究の方法

上述のように、①リンパ組織再構築における CD47-SIRP α シグナルによる制御機構の解明、② CD47-SIRP α シグナルによる自己免疫応答の制御機構の解明につき検討を行う。①については、新たに腎皮膜下移植を用いたリンパ節ストローマ細胞の再構築の実験系を樹立し、DC によるストローマ細胞の制御を *in vivo* で直接検討を行う。さらに DC 特異的 SIRP α 欠損マウスを用いることで、ストローマ細胞の再構築における CD47-SIRP α シグナルの役割を明らかにする。②については、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) モデルを用い、DC 特異的 SIRP α 欠損 (SIRP $\alpha^{\Delta DC}$) マウスや CD47 欠損マウス (CD47 ΔDC) を用いることで、自己免疫疾患発症における DC 上の CD47-SIRP α シグナルの役割を明らかにする。さらに、薬剤 (タモキシフェン) 誘導性 SIRP α 欠損マウスを用い、EAE の発症後に SIRP α を欠損させることで、CD47-SIRP α シグナルによる EAE の炎症の時間的制御機構を明らかにする。

4. 研究成果

① リンパ組織再構築における CD47-SIRP α シグナルによる制御機構の解明

これまでリンパ組織ストローマ細胞は単離・培養が困難であったが、研究代表者は既報の手法を改良することで、リンパ節ストローマ細胞の初代培養系を樹立するに至った。その結果、初代培養したリンパ節ストローマ細胞の多くは FRC の形質を有した細胞群であることが明らかとなった。また、リンパ節ストローマ細胞と DC の共培養実験を行うことによって、SIRP α シグナルによって DC は TNF- α の産生を介して FRC の増殖や生存を維持できることを示した。さらに上述の腎皮膜下移植の実験系を用いることで、生体内でのリンパ節ストローマ細胞の再構築には SIRP α を発現する DC の存在が重要であること、再構築したストローマ細胞からのケモカイン CCL19 産生により、T 細胞や DC の制御が行われていることを明らかにした。

以上の結果により、SIRP α シグナルは DC によるストローマ細胞の生体内での維持に重要であり、その結果、ストローマ細胞がリンパ球を誘引することで、リンパ組織の再構築が行われることが示唆された (Komori S, [Saito Y](#), et al., *Eur J Immunol*, 2019)。

② CD47-SIRP α シグナルによる自己免疫応答の制御機構の解明

CD47-SIRP α シグナルによる DC を介した自己免疫疾患の発症制御機構を明らかにすることを目的に、SIRP $\alpha^{\Delta DC}$ マウスを用いて EAE モデルによる検討を行った。SIRP $\alpha^{\Delta DC}$ マウスではコントロールマウス (SIRP $\alpha^{f/f}$) マウスに比べ、EAE の発症ならびに臨床スコアが著しく抑られており、脳脊髄におけるリンパ球の浸潤、ならびに脱髄像も軽減していた。これらのことから、DC 上の SIRP α が EAE の発症に重要であることが明らかとなった。さらに、SIRP $\alpha^{\Delta DC}$ マウスの末梢リンパ節ならびに脳脊髄における Th17 細胞の数が著しく減少しており、SIRP $\alpha^{\Delta DC}$ マウスにおいては、これらの組織において DC による Th17 細胞の活性化が抑えられていることが考えられた。一方、DC 特異的 CD47 ノックアウトマウスである CD47 ΔDC マウスに対して EAE を行ったところ、EAE の重症スコアがコントロールマウスに比べて軽減しており、DC 上の CD47 も自己免疫疾患の発症

制御に関与していることが示唆された。さらに薬剤（タモキシフェン）誘導性 SIRP α 欠損マウス (SIRP α^{iKO}) を用い、EAE 発症前後における SIRP α の重要性について検討を行った。EAE 発症前にタモキシフェンを投与した SIRP α^{iKO} マウスでは、これまでの樹状細胞特異的 SIRP α ノックアウトマウスと同様に EAE の発症が著しく抑えられた。一方、EAE 発症後にタモキシフェンを投与したマウスでは EAE の重症度に変化を認めなかった。これらの結果から、SIRP α は EAE の発症に重要であるが、発症後の重症化の制御には寄与しない可能性が示唆された (Nishimura T, Saito Y, et al., *Eur J Immunol*, in press)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Watanabe M, Kaneko Y, Ohishi Y, Kinoshita M, Sakairi T, Ikeuchi H, Maeshima A, Saito Y, Ohnishi H, Nojima Y, Matozaki T, Hiromura K	4. 巻 22
2. 論文標題 Importance of methodology in the evaluation of renal mononuclear phagocytes and analysis of a model of experimental nephritis with Shp1 conditional knockout mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 100741
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrep.2020.100741	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Wang B, Saito Y, Nishimura M, Ren Z, Tjan LH, Refaat A, Iida-Norita R, Tsukamoto R, Komatsu M, Itoh T, Matozaki T, Mori Y.	4. 巻 94
2. 論文標題 An animal model that mimics human herpesvirus 6B pathogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01851-e01819
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JVI.01851-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Komori S, Saito Y, Respatika D, Nishimura T, Kotani T, Murata Y, Matozaki T.	4. 巻 49
2. 論文標題 SIRP + dendritic cells promote the development of fibroblastic reticular cells in murine peripheral lymph nodes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 1364-1371
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/eji.201948103	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sato-Hashimoto M, Nozu T, Toriba R, Horikoshi A, Akaike M, Kawamoto K, Hirose A, Hayashi Y, Nagai H, Shimizu W, Saiki A, Ishikawa T, Elhanbly R, Kotani T, Murata Y, Saito Y, Naruse M, Shibasaki K, Oldenborg PA, Jung S, Matozaki T, Fukazawa Y, Ohnishi H	4. 巻 8
2. 論文標題 Microglial SIRP regulates the emergence of CD11c+ microglia and demyelination damage in white matter	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e42025
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.42025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Murata Y, Saito Y, Kotani T, Matozaki T	4. 巻 109
2. 論文標題 CD47-signal regulatory protein signaling system and its application to cancer immunotherapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2349-2357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13663	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 齊藤 泰之
2. 発表標題 免疫細胞ヒト化マウスを用いたがん免疫療法のin vivo評価系の開発
3. 学会等名 徳島大学研究クラスター「統合的がん創薬研究クラスター」第3回合同ミーティング
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hazama D, Murata Y, Tanaka D, Okamoto T, Saito Y, Kotani T, Nishimura Y, Matozaki T
2. 発表標題 A novel macrocycle peptide targets CD47-SIRPalpha axis and enhances the macrophage-mediated tumor killing
3. 学会等名 78回日本癌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 的崎 尚、村田 陽二、齊藤 泰之、小谷 武徳
2. 発表標題 SIRP 抗体を用いた新規のがん免疫療法:CD20及びPD-1抗体との併用による有効性
3. 学会等名 第78回日本癌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Komori S, Saito Y, Respatika D, Nishimura T, Kotani T, Murata Y, Matozaki T
2. 発表標題 Importance of SIRP + dendric cells for the development of fibroblastic reticular cells of peripheral lymph nodes
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村田 陽二、齊藤 泰之、小谷 武徳、的崎 尚
2. 発表標題 チロシンホスファターゼ SHP-1/2 結合タンパク質 SIRP による自然免疫細胞の機能制御
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 的崎 尚、齊藤 泰之、小谷 武徳、村田 陽二
2. 発表標題 細胞間シグナルCD47-SIRP 系による血球寿命制御とその臨床応用
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村田 陽二、羽間 大祐、田中 大介、岡本 武士、齊藤 泰之、小谷 武徳、的崎 尚
2. 発表標題 新規SIRP 阻害剤の開発とその抗腫瘍効果
3. 学会等名 第18回生体機能研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小森 里美、齊藤 泰之、ダトゥ レスパティカ、西村 太一、小谷 武徳、村田 陽二、的崎 尚
2. 発表標題 SIRP 陽性樹状細胞による末梢リンパ節ストローマ細胞の発達制御
3. 学会等名 第9回秋ノカタセ 研究会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 羽間 大祐、村田 陽二、田中 大介、岡本 武士、齊藤 泰之、小谷 武徳、西村 善博、的崎 尚
2. 発表標題 膜型分子SIRP を標的とする新たな免疫チェックポイント阻害剤の開発
3. 学会等名 第9回秋ノカタセ 研究会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Komori S, Saito Y, Respatika D, Kotani T, Murata Y, Matozaki T
2. 発表標題 SIRP +Dendritic Cells regulate organization of lymph node stromal sells in vivo
3. 学会等名 第47回日本免疫学学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishimura T, Saito Y, Komori S, Respatika D, Washio K, Kotani T, Murata Y, Mizobushi S, Matozaki T
2. 発表標題 Importance of SIRP on dendritic cells for the development of exprerimental autoimmune encephalomyelitis
3. 学会等名 第47回日本免疫学学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Saito Y, Hazama D, Murata Y, Manz MG, Matozaki
2. 発表標題 Xenograft mouse models for in vivo evaluation of cancer immunotherapy targeting human macrophages
3. 学会等名 Regeneron HIS Mice Workshop (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Saito Y
2. 発表標題 SIRP + dendritic cells regulate homeostasis of fibroblastic reticular cells via TNF receptor ligands in the adult spleen
3. 学会等名 Workshop on Frontiers in Phosphatase Research and Drug Discovery (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishimura T, Saito Y, Washio K, Komori S, Respatika D, Kotani T, Murata Y, Mizobuchi S, Matozaki T
2. 発表標題 Critical role of SIRP on dendritic cells for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis
3. 学会等名 Workshop on Frontiers in Phosphatase Research and Drug Discovery (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Saito Y, Komori S, Respatika D, Washio K, Kotani T, Murata Y, Matozaki T
2. 発表標題 SIRP + Dendritic Cells regulate homeostasis of fibroblastic reticular cells via TNF receptor ligands in the adult spleen
3. 学会等名 15th International Symposium on Dendritic Cells (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 齊藤 泰之、小森 里美、Datu Respatika、鷺尾 健、西村 太一、小谷 武徳、村田 陽二、的崎 尚
2. 発表標題 SIRP 陽性樹状細胞による脾臓細網線維芽細胞の恒常性の制御
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西村 太一、齊藤 泰之、鷺尾 健、小森 里美、小谷 武徳、村田 陽二、溝淵 知司、的崎 尚
2. 発表標題 実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症制御におけるCD47-SIRP 系の役割について
3. 学会等名 第17回生体機能研究会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織			
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考