

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06471

研究課題名(和文)糖鎖認識受容体DCIRと糖鎖リガンドの相互作用による免疫応答制御の解明

研究課題名(英文)Regulation immune responses by the interaction between DCIR and its ligand

研究代表者

海部 知則(KAIFU, Tomonori)

東北医科薬科大学・医学部・講師

研究者番号：90343037

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：自然免疫受容体であるDCIRの機能不全は自己免疫様疾患や骨代謝疾患の発症につながることを示されており、DCIRの制御機構の解明は疾患の病態理解につながると期待される。我々はDCIRリガンドの同定に成功し、受容体による制御機構の理解に重要となるリガンドとの相互作用による機能制御を解析する土台が出来た。本研究によりDCIRの糖鎖リガンド発現を調節する糖鎖修飾酵素の発現パターンを理解することができた。また糖鎖修飾酵素による処理は免疫応答を抑制することが明らかとなり、DCIRのシグナル伝達を人為的に操作する可能性が開けた。このDCIRの人為的制御は新たな治療法の開発につながる可能性が高い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自然免疫受容体であるDCIRは免疫システムや骨代謝の恒常性を維持する重要な受容体のひとつである。本研究において糖鎖末端の構造を認識する受容体において、末端構造を糖鎖修飾酵素により変化させ受容体機能を発揮させることに成功した。糖鎖修飾酵素の発現様式やDCIR-リガンドの相互作用が免疫応答を負に調節する仕組みが明らかとなりDCIR制御の基礎的知見が得られた。DCIRは関節リウマチ等の自己免疫疾患と関与することが示されており、DCIRを標的とした医薬成分は新たな治療法の開発につながると期待している

研究成果の概要(英文)：Dysfunction of DCIR (Dendritic Cell ImmunoReceptor), an inhibitory C-type lectin, has shown to develop autoimmune-like diseases and disorders of bone metabolism. The understanding of DCIR-mediated regulation contributes to the comprehension of the pathogenesis for these disorders. We have succeeded to identify the functional DCIR ligand, resulting in the establishment of basic knowledge to understand the mechanisms underlying immune regulation by the interaction of DCIR and its ligand. Here, we showed the expression pattern of enzymes that modify the quantity of DCIR ligand in various cells. In addition, the in vivo and in vitro treatment of the enzyme capable of increasing DCIR ligand suppressed immune responses. The possible way to control DCIR-mediated signaling will contribute to the development of a new therapy for autoimmune and bone metabolic diseases.

研究分野：実験動物学

キーワード：DCIR C型レクチン受容体 アシアロ糖鎖 樹状細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

自然免疫受容体である DCIR(Dendritic Cell ImmunoReceptor)は関節炎発症関連遺伝子のひとつとして同定した。DCIR は細胞内領域に抑制性シグナルモチーフを有しており、生体システムを負に調節することが推測された。DCIR の生理的機能を理解するために作製した *Dcir*<sup>-/-</sup>マウスは自己免疫様疾患と腱附着部炎を伴う骨異形成を自然発症したことから、DCIR は免疫システムと骨代謝系を制御する抑制性受容体であることが示された。膜貫通型受容体の機能発揮にはリガンドとの相互作用が重要であるが、DCIR の機能的リガンドは不明であった。我々は高感度糖鎖アレイ検出法を用いて、DCIR がアシアロ二本鎖 N 型糖鎖に結合することを見出した。さらにこの糖鎖リガンドは DCIR 依存的に破骨細胞形成を抑制した。またアシアロ化を誘導する糖鎖修飾酵素が免疫応答を抑制したことからこの糖鎖リガンドが機能的リガンドであることが示された。これらから DCIR-糖鎖リガンドの相互作用が免疫系および骨代謝系を制御することが明らかとなった。しかしながら、DCIR と糖鎖リガンドの相互作用による免疫システムの制御機構、二本鎖糖鎖の脱シアル化の機構とアシアロ糖鎖の免疫系における生理的意義は明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

DCIR の機能的リガンド同定が成功したことで DCIR-糖鎖リガンドの相互作用による制御機構を解析する基盤が樹立出来た。DCIR リガンドはアシアロ糖鎖であることから糖鎖末端の修飾変化が細胞応答を制御していることが示唆された。そこで糖鎖リガンドの発現様式、DCIR-糖鎖リガンドの相互作用による樹状細胞制御機能を解析し、免疫システムの制御機構を明らかにすることを目的とする。

膜貫通型受容体の機能発揮にはリガンドとの相互作用が重要であるが機能的リガンドが不明である受容体は多い。C 型レクチン受容体のリガンド同定が精力的に進められ糖鎖リガンドとともにタンパク質や糖脂質と結合することが示されている。しかしながらリガンド結合による受容体機能の発揮機序は不明な受容体が多い。本研究により糖鎖リガンドの発現制御、受容体機能の誘導機序を解析し、自己免疫疾患の病態形成の理解につなげたい。

### 3. 研究の方法

#### (1) DCIR 糖鎖リガンドの特性と発現制御メカニズムの解析

DCIR リガンドの特性と発現部位を FACS、qPCR を利用して組織・細胞レベルで解析する。正常時と疾患誘導時の細胞や組織を染色することで発現部位を見当する。

#### (2) 糖鎖修飾酵素コンディショナルノックアウトマウス作製と疾患関連性の解析

機能的リガンドの存在量を増加させる糖鎖修飾酵素の生体内機能を解析するためにコンディショナルノックアウトマウスを新規に作製し、動物疾患モデルを利用して解析を行う。従来法での遺伝子改変マウスの作製と CRISPR/Cas9 法も検討していく。

#### (3) 糖鎖リガンドと DCIR による免疫制御機序の解析

DCIR-糖鎖リガンドの相互作用による免疫応答制御を調べるために、EAE を利用して DCIR-糖鎖リガンドの相互作用による免疫応答を個体・細胞レベルで解析する。

### 4. 研究成果

(1) DCIR 糖鎖リガンドの発現を正常時の免疫系細胞で調べたところ、一部の細胞に糖鎖リガンドの発現を確認したがその割合は低かった。通常状態では糖鎖リガンドの発現は低いことが示唆された。またミエロイド系細胞での糖鎖修飾酵素の発現を検出したところそれぞれの細胞群で発現パターンが異なることが明らかとなった。

(2) 糖鎖修飾酵素のコンディショナルノックアウトマウスの作製に取り組んだ。本研究期間にマウス系統の樹立は実現しなかったが、コンディショナルノックアウトマウス作製のための準備は終了した。今後は本研究の結果を基にしてマウス作製に取り組んでいきたい。

(3) EAE を誘導したマウスに糖鎖修飾酵素を投与すると臨床スコアが有意に減少することが明らかとなり、DCIR-糖鎖リガンドの相互作用により免疫応答が減弱することが示された。この作用は *Dcir*<sup>-/-</sup>マウスでは認められなかったことから DCIR 特異的作用である。また樹状細胞と T 細胞の共培養系に糖鎖修飾酵素を添加すると T 細胞応答が減少した。これらから、DCIR-糖鎖リガ

ンドの相互作用は樹状細胞機能を抑制しT細胞反応を制御していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 海部知則、武田和也、岩倉洋一郎、中村晃
2. 発表標題 C型レクチン受容体欠損による中枢神経系自己免疫疾患自然発症機序の解明
3. 学会等名 第67回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------