

機関番号：12301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590274

研究課題名（和文）新規細胞間シグナル系を介した樹状細胞機能制御

研究課題名（英文）Regulation of dendritic cell functions by CD47-SIRP α system

研究代表者

小林 久江 (KOBAYASHI HISAE)

群馬大学・生体調節研究所・技術専門職員

研究者番号：80234839

研究成果の概要（和文）：

膜型分子である CD47 と SIRP α は各々の細胞外ドメインを介して相互作用することにより細胞間シグナル伝達システムとして機能する。SIRP α は樹状細胞に高発現しており、CD47-SIRP α 系が免疫機能制御に重要であると考えられる。本研究において研究代表者は、CD47-SIRP α 系が自己免疫疾患の発症や樹状細胞の恒常性の制御に重要であることを示した。また、抗 SIRP α 抗体を用いることにより自己免疫疾患を制御できる可能性を見出した。

研究成果の概要（英文）：

CD47 and SIRP α are transmembrane proteins and they constitute a cell-cell communication system by interacting their ectodomains. SIRP α predominately expresses in dendritic cells and CD47-SIRP α system is important for regulation of immunity. In this research project, we have shown that CD47-SIRP α participates in regulation of induction of autoimmune diseases and homeostasis of dendritic cells. Furthermore, we found anti-SIRP α antibodies can regulate induction of autoimmune 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	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：シグナル伝達

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：樹状細胞 SIRP α 自然免疫

1. 研究開始当初の背景

申請者の所属する研究室では、細胞質型チ

ロシンホスファターゼである SHP-1 と SHP-2 の結合基質として受容体型膜蛋白質 SIRP α

(別名 SHPS-1) を見出している (Motegi, *et al.*, *EMBO J.*, 2003)。SIRP α の細胞外領域には3つのイムノグロブリン様構造が、細胞内領域には4カ所のチロシンリン酸化部位が存在し、後者には SHP-1、SHP-2 が結合する。SIRP α は、特にマクロファージや樹状細胞に強く発現する。SIRP α は、その細胞外領域の生理的なりガンドである5回膜貫通型の分子CD47と相互作用することにより、新しい細胞間シグナル伝達系 (CD47-SIRP α 系) を形成する。例えば、SIRP α 遺伝子破壊 (KO) マウスを用いた解析から、赤血球や血小板上に発現するCD47がマクロファージ上のSIRP α と相互作用することにより、マクロファージによるこれら血球貪食を負に制御することが明らかになっている (Ishikawa-Sekigami, *et al.*, *Blood*, 2006)。樹状細胞-T細胞の相互作用においても、樹状細胞上のSIRP α とT細胞上のCD47が機能していると想定される。樹状細胞とT細胞の相互作用としては、抗原提示細胞である樹状細胞によるT細胞の活性化とTh1/Th2タイプへの分化制御の異常が自己免疫疾患やアレルギーの発症、あるいは感染や癌に対する抵抗性と病態の形成に重要な役割を果たしていることが明らかにされている。また最近では、自己免疫性疾患の成立にIL-17産生T細胞が主要な役割を果たすことが明らかとなり、自己免疫疾患における樹状細胞の新たな位置付けがされようとしている (Nakae *et al.*, *J. Immunol.*, 2003; Weaver *et al.*, *Immunity*, 2006 review)。SIRP α KOマウスから調製した脾臓樹状細胞では、T細胞の増殖活性化能が低下していることや、IL-12刺激に対するIFN- γ 産生能が低下している。さらに、Th17細胞がその発症に重要である実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の発症がSIRP α KOマウスで著明に抑制されている (Tomizawa *et al.*, *J.*

Immunol., 2007)。したがって、SIRP α シグナル系は、樹状細胞-T細胞間の相互作用において、樹状細胞の活性化に関しては予想に反して促進的に制御している可能性がある。さらに樹状細胞の分化誘導に関与している可能性が高い。

2. 研究の目的

樹状細胞は抗原提示細胞としてナイーブなT細胞を活性化することで、特異的な抗原に対する免疫系の活性化に中心的な役割を果たす。また、最近では自然免疫と獲得免疫をつなぐ重要な役割を担っていることが明らかになってきている。しかしながら、樹状細胞の分化・活性制御の分子機構については未だ十分には分かっていない。本研究では、樹状細胞による免疫系制御の基盤となる樹状細胞-リンパ球間相互作用について、新しい細胞間シグナルシステムCD47-SIRP α 系による制御機構を中心に、樹状細胞の制御メカニズムの解明に取り組み、感染症や自己免疫疾患、がん免疫療法への応用の基盤とすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) SIRP α KOマウスを用いて、自己免疫疾患モデルであるコラーゲン誘導性関節炎と接触過敏性皮膚炎モデルを用いて、疾患発症と症状の程度を野生型マウスと比較した。さらに新たに抗SIRP α 抗体を作製した。CD47とSIRP α の結合を阻害できる抗体を選別し、抗体投与による接触過敏性皮膚炎の発症への影響を検討した。

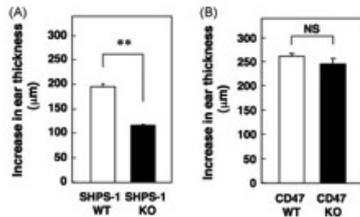
(2) SIRP α KOマウスの脾臓およびリンパ節DCのサブセットをフローサイトメトリーを用いて解析した。さらに骨髄由来血球細胞からの樹状細胞への分化について検討を行った。

4. 研究成果

(1) SIRP α KOマウスでは、コラーゲン誘導性

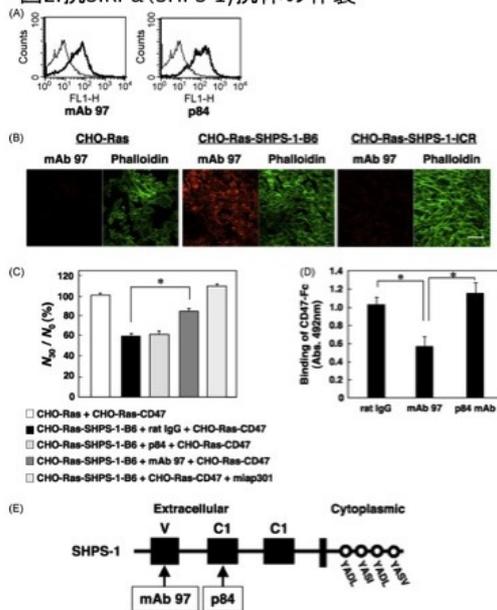
関節炎の発症が著しく抑制されることを見出した。また過敏性接触性皮膚炎の発症も抑制されることを見出した (図1)。さらに、

図1. SIRPα(SHPS-1)KOマウスとCD47KOマウスにおける接触性過敏性皮膚炎の発症



SIRPα KO マウス由来樹状細胞による CD4 陽性 T 細胞の Th17 への分化が障害されていることも明らかにした。また、CD47 と SIRPα の結合を特異的に阻害する SIRPα のモノクローナル抗体を作製した (図2)。

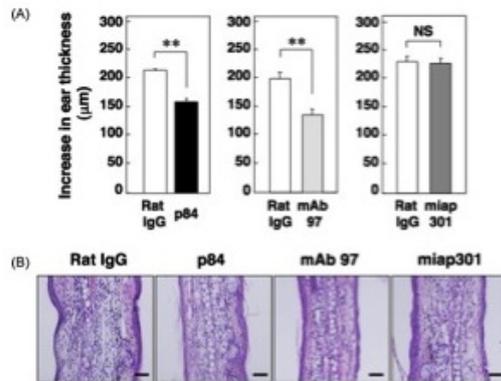
図2. 抗SIRPα(SHPS-1)抗体の作製



さらに、この抗体を用いて接触過敏性皮膚炎の発症を抑制できることを明らかにした (図3)。

(2) SIRPαが二次リンパ節内での樹状細胞の分化とホメオスタシスの維持に関与していることを、SIRPα変異マウスの脾臓での樹状細胞を解析することにより明らかにした。マウス脾臓には3種類の CD11c high DC (conventional DC, cDC)が存在し、SIRPαは

図3. 抗SIRPα(SHPS-1)抗体の接触性過敏性皮膚炎の発症への影響



そのうち CD8- CD4+cDC または CD8- CD4 +cDC に強く発現するが、SIRPα KO マウスにおいて、これらの分画のうち CD8- CD4+cDC のみが著しく減少していた (図4、5)。

図4. SIRPα KOマウス脾臓におけるCD4+ cDCs 減少

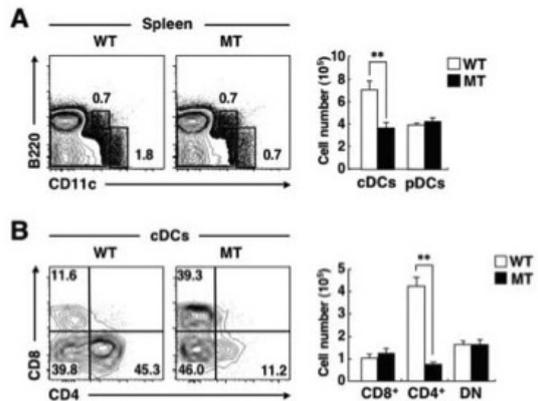
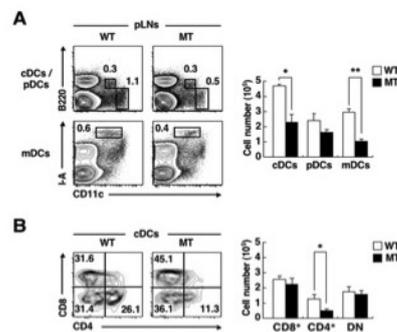


図5. SIRPα KOマウスリンパ節におけるCD4+ cDCs とmDCs 減少



以上の結果より、SIRPαは in vivo における cDC の二次リンパ組織内での恒常性の制御に重要なシグナル系であることが示唆された。

SIRPα 変異マウスの解析をさらに進め、

SIRP α 変異マウスの脾臓においては野生型マウスと比較してT細胞ゾーンでのCD4陽性T細胞数が減少していること、さらにT細胞ゾーンでのT細胞の発達とホメオスタシスに重要であるケモカインCCL19、CCL21、IL-7が減少していることを見出した。また、骨髄移植モデルを用いることにより、脾臓T細胞ゾーンの発達には、血球細胞上のSIRP α が重要であることを見いだした。一方でCD47欠損マウスもSIRP α 変異マウスと同様の表現型を示した。以上のことから、SIRP α と同じくそのリガンドであるCD47は、脾臓におけるT細胞の恒常性の維持に必須であることが示唆された。

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. Saito, Y., Iwamura, H., Kaneko, T., Ohnishi, H., Murata, Y., Okazawa, H., Kanazawa, Y., Sato-Hashimoto, M., Kobayashi, H., Oldenborg, P.-A., Naito, M., Kaneko, Y., Nojima, Y., and Matozaki, T. Regulation by SIRP α of dendritic cell homeostasis in lymphoid tissues. *Blood*, (査読有) Vol. 116, 2010, 3517-3525.
2. Kobayashi, M., Ohnishi, H., Okazawa, H., Murata, Y., Hayashi, Y., Kobayashi, H., Kitamura, T., and Matozaki, T. Expression of Src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase substrate-1 in pancreatic β -cells and its roles in promotion of insulin secretion and protection against diabetes. *Endocrinology*, (査読有) Vol. 149, 2008, 5662-5669.
3. Motegi, S., Okazawa, H., Murata, Y., Kanazawa, Y., Saito, Y., Kobayashi, H.,

Ohnishi, H., Oldenborg, P.-A., Ishikawa, O., and Matozaki, T. Essential roles of SHPS-1 in induction of contact hypersensitivity of skin. *Immunol. Lett.*, (査読有) Vol. 121, 2008, 52-60.

[学会発表] (計 1 件)

1. Kobayashi, M., Ohnishi, H., Murata, Y., Hayashi, Y., Kobayashi, H., Kitamura, T., and Matozaki T. Expression of SHPS-1 in pancreatic β -cells and its role in promotion of insulin secretion and protection against diabetes. 第8回国際プロテインホスファターゼカンファレンス 2008. 11. 12-14. 前橋テルサ (群馬)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 久江 (KOBAYASHI HISAE)
群馬大学・生体調節研究所・技術専門職員
研究者番号：80234839