

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：34315

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19391

研究課題名（和文）TrogoctosisによるMHCドレシ化分子機構の解明

研究課題名（英文）MHC dressing via trogoctosis

研究代表者

中山 勝文（Masafumi, Nakayama）

立命館大学・薬学部・教授

研究者番号：20453582

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究で我々は、樹状細胞（dendritic cells: DC）は死細胞に表出したホスファチジルセリン（PS）を認識してMHCIを含む死細胞膜断片をtrogoctosisによって引き抜くことを明らかにした。さらにこのプロセスはpolyI:C刺激で亢進することも判明した。以上の結果は、trogoctosisによるMHCIドレシ化は死細胞を伴う炎症病態での細胞性免疫誘導に重要な役割を担うことを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果により、MHCクラスI分子を身に纏った（ドレシ化）樹状細胞による新しい細胞性免疫誘導メカニズムが明らかとなった。このMHCクラスI分子のドレシ化を自在にコントロールする方法が開発できれば、それを正に調節することによって、がんやウイルス感染に対する防御機能を高めることに繋がり、逆に負に調節すれば、自己免疫疾患の発症抑制に繋がること期待される。

研究成果の概要（英文）：Trogoctosis is an active process whereby plasma membrane proteins are transferred from one cell to the other cell in a cell-cell contact-dependent manner. Conventional dendritic cells (DCs) reportedly acquire MHC class I (MHCI) via trogoctosis and subsequently prime CD8+ T cells via the pre-formed antigen-MHCI complexes without antigen processing. However, this mechanism is not fully understood. Here, we demonstrate that DCs rapidly acquire MHCI-containing membrane fragments from dead cells via the phosphatidylserine recognition-dependent mechanism. The MHCI dressing is enhanced by a TLR3 ligand polyinosinic-polycytidylic acid (polyI:C). These results suggest that trogoctosis-mediated MHCI dressing is involved in inflammatory diseases associated with cell death and type I IFN production.

研究分野：免疫学

キーワード：トロゴサイトーシス 樹状細胞 MHCクラスI 抗原提示

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Trogocytosis とは、細胞接触依存的に細胞膜が細胞間移動する現象であり、最初の発見は 50 年以上前のマウスアロ MHC 抗原の免疫細胞間移動の報告に遡る。当時はあまり注目されなかったが、最近 trogocytosis は哺乳動物に限らずアメーバ細胞でも観察されていることから、真核生物で広く保存されている生命現象だと考えられるようになった。しかしながら、その分子メカニズムや生理的意義は未だによく判っていない。そのなかで Trogocytosis 研究が最も進んでいる領域の一つは免疫学である。免疫ネットワークは、さまざまな細胞相互作用によって構築されているため、免疫機能分子の細胞間移動による免疫応答制御は、がんや感染症など様々な病気の発症・増悪に直結する可能性があるからである。

免疫応答の司令塔として機能する樹状細胞 (dendritic cells: DC) は trogocytosis によって他の細胞から MHC クラス I 分子 (MHCI) を引き抜いて身にまとい (ドレス化し)、その MHCI を用いて CD8 陽性 T 細胞へ抗原提示することが最近数多く報告されている。しかしながら DC がどのように MHCI を引き抜くのか、そして細胞性免疫応答における MHCI ドレス化の重要性はよく理解されていない。

2. 研究の目的

本研究は以下の 3 つの点について解明することを目的とした。

- (1) DC はどのように (どのような細胞から) MHCI を引き抜きドレス化するのか。
- (2) 引き抜いた MHCI はどのように DC 細胞表面上に存在するのか。つまり他細胞の MHCI が DC 細胞膜上に表出するのか、あるいは MHCI を含む細胞膜断片が DC 細胞膜と合しているのか。
- (3) ドレス化 MHCI による抗原提示能の意義は何か。

3. 研究の方法

- (1) $\beta 2m$ マイクログロブリン ($\beta 2m$) 遺伝子欠損 (KO) 細胞は機能的 MHCI が発現していないことから、 $\beta 2m$ KO DC と MHCI (H-2K^b) を発現する野生型細胞を共培養して MHCI の DC への移動をフローサイトメトリーおよび蛍光顕微鏡により観察した。
- (2) H-2K^b ドレス化 DC を金ナノ粒子標識抗 H-2K^b 抗体で染色し、その同在を免疫電子顕微鏡により解析した。
- (3) H-2K^b ドレス化 DC の抗原提示能解析には、モデル抗原として卵白アルブミン (OVA) を用い、CD8 陽性 T 細胞は、OVA 257-264 peptide-H-2K^b 複合体を認識する T 細胞受容体トランスジェニックマウスの OT-I マウスから調製した。その CD8 陽性 T 細胞を CFSE 蛍光標識したのち、DC と共培養もしくはマウスに移入した。その CD8 陽性 T 細胞が分裂すると CFSE 蛍光強度が低下するため、その低下割合を抗原提示能の指標とした。

4. 研究成果

- (1) マウス脾臓 DC を生細胞と共培養した際には DC の MHCI ドレス化は認められなかった。一方、死細胞と培養した際にはその顕著な MHCI ドレス化が認められた。またこのとき死細胞に表出するホスファチジルセリン (PS) を MFG-E8 D89E 可溶性タンパク質でマスクすると MHCI ドレス化が有意に抑制された (図 1)。これらの結果は、DC は死細胞の PS を認識して MHCI を含む膜断片を引き抜くことを示唆する。

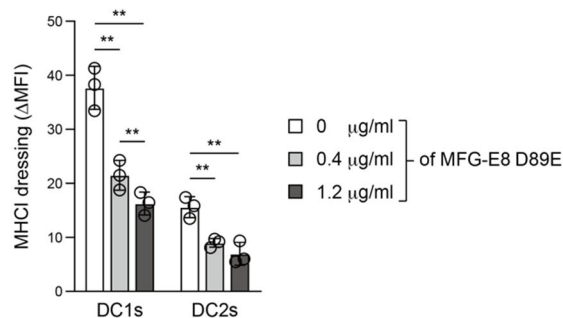


図 1. 脾臓 DC1 および DC2 サブセットは共に死細胞から MHCI を引き抜いて身に纏う (ドレス化する) が、その MHCI ドレス化は MFG-E8 タンパク質で阻害される (Hori et al., iScience 2024 より転載)。

(2) MHC I ドレス化 DC を金ナノ粒子標識抗 H-2K^b 抗体で染色したのち、電子顕微鏡観察すると、H-2K^b を含む死細胞由来膜断片が DC 細胞膜と会合していることが判明した(図2)。さらにこの MHC I ドレス化はクエン酸処理することによって消失することも判明した。一方で DC 細胞膜上に発現している Tim3 および Tim4 は、クエン酸処理ではそれら発現レベルに影響しなかった。以上の結果は、死細胞由来 MHC I は DC 細胞膜上に存在するのではなく、MHC I を含む死細胞由来細胞膜断片が DC 細胞膜と会合していることを示唆する。

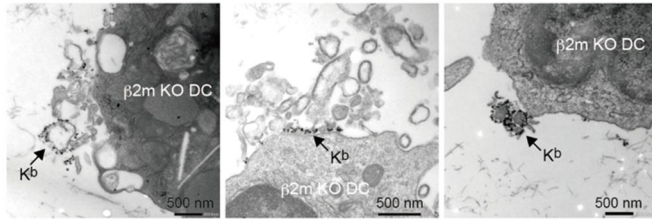


図2. MHC I (Kb) を含む死細胞由来膜断片は DC 細胞表面と会合する (Hori et al., iScience 2024 より転載)。

(3) 野生型 B6 (H-2K^b) マウスあるいはβ2m KO マウスに CFSE 標識 OT-I CD8⁺ T 細胞を移入した翌日に OVA を含む野生型 B6 マウスあるいはβ2m KO マウス由来の死細胞を移入した。このとき一部のマウスには polyI:C を同時に投与した。その 2 日後にマウス脾臓での CD8⁺ T 細胞の増殖をフローサイトメトリーにより解析した。その結果、野生型 B6 マウス由来死細胞を移入したβ2m KO マウスでは、polyinosinic-polycytidylic acid (polyI:C)未投与群では顕著な OT-I CD8⁺ T 細胞の増殖が認められなかったが、polyI:C 投与群でその顕著な増殖が認められた(図3)。以上の結果は、MHC I ドレス化による抗原提示はウイルス感染時などの炎症時に重要な役割を担うことを示唆する。

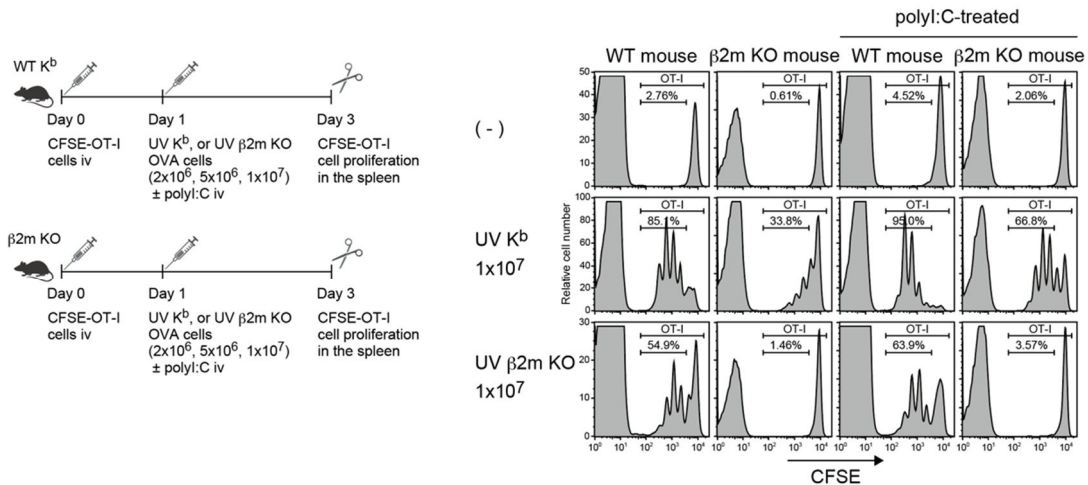


図3. 野生型マウスあるいはβ2m KO マウスに CFSE 標識した OT-I CD8 陽性 T 細胞を移入後、OVA タンパク質を含む野生型死細胞あるいはβ2m KO 死細胞を投与した。MHC I ドレス化を介する OT-I CD8 陽性 T 細胞の増殖は、polyI:C 刺激時に顕著に認められた (Hori et al., iScience 2024 より転載)。

本研究成果により、MHC I ドレス化による抗原的機構の一端が明らかとなった。つまり DC は polyI:C 刺激を受けた際に死細胞の PS を認識して MHC I を含む膜断片を引き抜き、その MHC I を用いて CD8 陽性 T 細胞に抗原提示することが明らかとなった(図4)。この引き抜きには PS 受容体が関与すると考えられるが、Tim4、Tim3、MerTK、Axl といった PS を直接的あるいは間接的に認識する受容体が関与する可能性は低いことも判明した。この受容体の同定が今後の課題である。

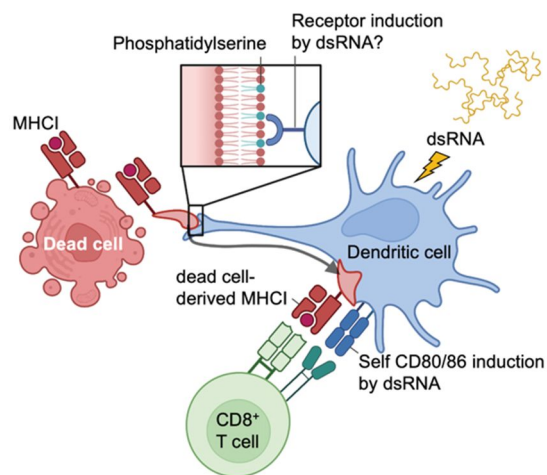


図4. DC は死細胞由来 MHC I を PS 認識依存的に引き抜いて抗原提示する。その過程は polyI:C 刺激で亢進する (Hori et al., iScience 2024 より転載)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kuroiwa M, Yamaguchi S-I, Kato Y, Hori A, Toyoura S, Nakahara M, Morimoto N, and Nakayama M	4. 巻 875
2. 論文標題 Tim4, a macrophage receptor for apoptotic cells, binds polystyrene microplastics via aromaticaromatic interactions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Sci. Total Environ.	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.scitotenv.2023.162586	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 Yamaguchi S-I, Xie Q, Ito F, Terao K, Kato Y, Kuroiwa M, Omori S, Taniura H, Kinoshita K, Takahashi T, Toyokuni S, Kasahara, K, and Nakayama M	4. 巻 -
2. 論文標題 Carbon nanotube recognition by human Siglec-14 provokes inflammation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nat. Nanotechnol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41565-023-01363-w	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 Hori A, Toyoura S, Fujiwara M, Taniguchi R, Kano Y, Yamano T, Hanayama R, Nakayama M.	4. 巻 27
2. 論文標題 MHC class I-dressing is mediated via phosphatidylserine recognition and is enhanced by polyI:C	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 109704
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2024.109704	査読の有無 無
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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 豊浦早織, 堀亜里沙, 加納康隆, 中山勝文
2. 発表標題 トロゴサイトーシスによる免疫活性化機構
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 堀埜里沙, 豊浦早織, 加納康隆, 華山力成, 中山勝文
2. 発表標題 樹状細胞によるアポトーシス細胞由来MHCクラスI分子のトロゴサイトーシスにはホスファチジルセリン認識が関与する
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 豊浦早織, 堀埜里沙, 加納康隆, 中山勝文
2. 発表標題 トロゴサイトーシスによる免疫活性化機構
3. 学会等名 第16回次世代を担う若手のための医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 中山勝文、他	4. 発行年 2023年
2. 出版社 エルゼビア・ジャパン	5. 総ページ数 603
3. 書名 分子細胞生物学	

1. 著者名 堀埜里沙, 中山勝文、他	4. 発行年 2022年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 131
3. 書名 実験医学6月号	

〔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
---------	---------