

論文の内容の要旨

論文題目 The Pathological role of DCIR
in Autoimmune Encephalomyelitis in mice
(DCIR欠損による中枢性自己免疫疾患の増悪化)
氏名 妹尾 彬正

C型レクチン受容体 (CLR) は種々の免疫応答を調節する、パターン認識受容体の一種である。これまで我々は関節リウマチの病態解析の過程で、CLRであるDCIR (Dendritic cell immunoreceptor) が自己免疫応答に重要であることを見出した。DCIRは、細胞外に糖結合活性を担う糖認識ドメイン (CRD) を、細胞内に抑制性シグナル伝達モチーフである immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif を有している。DCIR KO マウスは関節リウマチのマウスモデルであるコラーゲン誘導関節炎に高感受性であることから (Noriyuki Fujikado, *et al.*, 2008)、DCIRは自己免疫疾患の病態形成に重要な因子であると考えられる。そこで本研究では、多発性硬化症の病態形成におけるDCIRの関与を調べるために、DCIR KO マウスに多発性硬化症のマウスモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) を誘導し解析を行った。本研究により、DCIRの多発性硬化症における病態形成との関係を詳細に解析した。

マウスにEAEを誘導して30日間の観察を行った。この結果、WTマウスに比べてDCIR KOマウスで症状が有意に悪化した (図1)。EAEを発症したマウスの脊髄切片を作製し組織学的に病態を調べたところ、DCIR KOマウスで細胞浸潤部位が増加していた。また神経傷害を示す脱髄箇所も多く観察された。さらに、脊髄中の浸潤細胞を解析したところ、細胞数全体が増加傾向にありEAEにおけるエフェクター細胞であるCD4⁺T細胞の割合がKOで有意に高く、DCIRが発現しているCD11c⁺DCの増加も見られた (図2)。これらの結果から、DCIRがEAEの病態形成に重要であることを明らかにした。

また、EAEの感作期における応答を調べるために、免疫後1週間のマウスからリンパ節細胞を回収し細胞分布を調べた。すると、CD4⁺T細胞の割合がWTに比べ優位に増えていた。このリンパ節細胞の抗原特異的応答を調べるため、MOG再

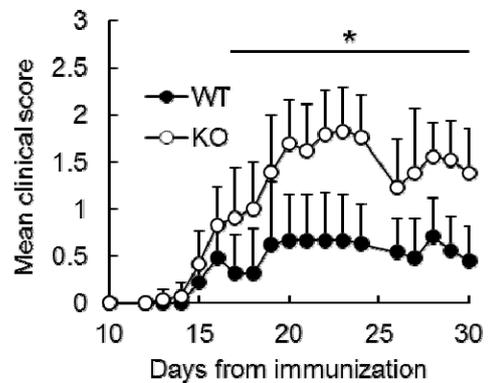


図2 *Dcir*欠損によりEAEが増悪化する

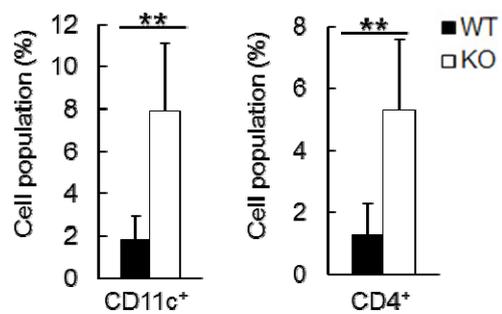


図1 浸潤細胞中のCD11c⁺、CD4⁺細胞の割合がKOで高い

刺激に対するリンパ節細胞増殖を調べた。その結果、WT マウスに比べて DCIR KO マウス由来のリンパ節細胞増殖が有意に亢進した (図 3)。これらの結果から、DCIR は EAE 発症において増悪期における炎症局所においても感作期におけるリンパ節においても抑制的に機能していることが明らかとなった。しかし、DC と T 細胞が炎症局所で相乗的に影響しあうことにより、DCIR KO マウスにおいて EAE の増悪化が見られることが考えられた。しかしながら、DC の共刺激分子や活性化マーカーは WT マウス由来の細胞と比較して差がなかった。免疫前には DC や CD4⁺ T 細胞に差が見られないことから、DCIR KO マウスでは免疫後に CD4⁺ T 細胞の増殖亢進が起こり、EAE 症状の増悪化に繋がることが考えられた。

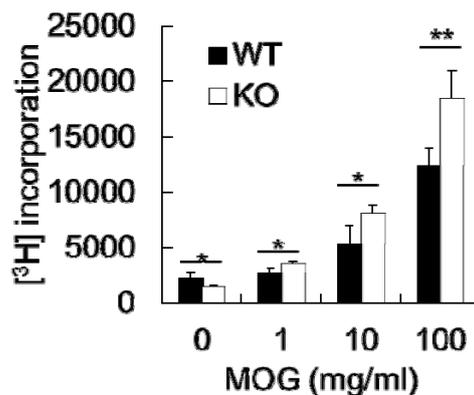


図 3 MOG 再刺激時に KO マウス由来のリンパ節細胞増殖が有意に亢進する

また EAE の発症時には獲得免疫応答に関与する細胞だけでなく、自然免疫応答に関与する細胞も影響することが明らかとなっている。そこで DCIR 欠損の影響が DC や B 細胞以外の免疫細胞にもないかどうか調べるため、公開されている遺伝子発現データベース間で免疫細胞における *Dcir* 遺伝子発現の比較解析を行った。そうしたところ、*Dcir* が DC と同じミエロイド系細胞であるマクロファージでも高発現していることが見出された。マクロファージについて解析を行うために、骨髄細胞を M-CSF 存在下で培養することで高純度のマクロファージ細胞を得た。この骨髄由来細胞を用いて、EAE 誘導時に用いるアジュバントである結核死菌を用いて刺激実験を行ったところ、KO マウス骨髄由来のマクロファージの炎症性サイトカイン産生が高くなっていることが見出された (図 4)。このことから、DCIR はマクロファージの機能も調節をしており、炎症応答を抑制するために機能していることが示唆された。

今回の研究結果から EAE においても DCIR KO マウスの症状が増悪化し、リンパ節中の T 細胞活性が亢進することが分かった。この亢進は DCIR が T 細胞に発現していないため DCIR 欠損による DC 機能の異常の影響と考えられる。さらに炎症局所において DC と T 細胞が共に増殖していることから、それらの細胞が相互に影響していることが考えられた。さらに、DCIR は DC の増殖だけでなくマクロファージの炎症性サイトカイン産生にまで影響を与え、炎症時の免疫応答を広く調節していることが考えられた。今後 DCIR の解析を進めることで、この分子を標的にした MS 治療薬の開発が期待される。

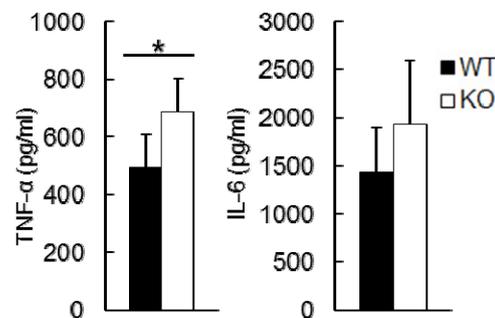


図 4 DCIR 欠損によりマクロファージのサイトカイン産生が亢進する