

博士論文(要約)

アルサス反応における αE 、 $\beta 7$ インテグリンの関与

山田大資

論文の内容の要旨

論文題目 アルサス反応における αE 、 $\beta 7$ インテグリンの関与

氏名 山田大資

免疫複合体沈着によって引き起こされる炎症・組織障害はⅢ型アレルギー反応と呼ばれ、血管炎、全身性エリテマトーデス、関節リウマチやクリオグロブリン血症などの自己免疫疾患の病態形成に関与している。このⅢ型アレルギーの実験モデルとして、抗体を局所に投与し抗原を静脈内に投与することで抗体投与部位に反応を生じさせる逆受動アルサス反応がある。抗体を外部から投与するため感作相が不要となり再現性が高いことが特徴である。このモデルにおいて免疫複合体は主にマスト細胞の表面にある $Fc\gamma$ 受容体によって認識され、 $TNF-\alpha$ などのサイトカインが産生され、その結果アルサス反応に特徴的とされる血管周囲の好中球浸潤や組織障害を引き起こす。

一般に炎症の過程においては血液循環中から炎症局所への白血球の遊走が極めて重要である。血液中の白血球はまず血管内皮細胞上で弱い接着、回転を生じ、その後固着し血管外に脱出するが、この過程は細胞表面に発現する多様な接着分子によって制御されている。**Selectin** は主に弱い接着、回転の段階で働くが、遺伝子欠損マウスを用いた検討により **L-selectin**、**E-selectin**、**P-selectin** や **P-selectin glycoprotein ligand-1** といった分子が逆受動アルサス反応に重要な役割を果たすことがわかってきている。固着の段階においては **integrin** とそのリガンドの相互作用が重要である。逆受動アルサス反応においては **$\beta 2$ integrin**、**intercellular adhesion molecule-1**、**vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1)** といった分子の欠損もしくは阻害により反応が低下することが報告されている。

integrin ファミリーは α 鎖と β 鎖からなるヘテロ二量体構造の膜貫通型の接着分子で細胞同士もしくは細胞と細胞外基質との接着に働く。これらの α 鎖と β 鎖は特定の組み合わせからなり、 $\beta 7$ integrin は $\alpha 4$ 鎖もしくは αE 鎖とのみヘテロダイマーを形成する。 $\alpha 4 \beta 7$ integrin はリンパ球、好酸球、マクロファージ、マスト細胞やナチュラルキラー細胞に発現し、そのリガンドは mucosal addressin cell adhesion molecule-1(MAdCAM-1)、VCAM-1 や fibronectin が知られている。 $\alpha 4 \beta 7$ integrin の主たるリガンドである MAdCAM-1 は腸管のパイエル板や腸間膜リンパ節の高内皮細静脈および腸管粘膜固有層の血管内皮細胞に発現しており、 $\alpha 4 \beta 7$ integrin はこれらの腸管関連リンパ組織へのリンパ球の遊走を司る。一方、 $\alpha E \beta 7$ integrin は $CD8^+$ T 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、樹状細胞や制御性 T 細胞の一部に発現することが知られている。 $\alpha E \beta 7$ integrin は腸管粘膜上皮内の T 細胞の大部分に発現しており、そのリガンドである E-cadherin と結合することで上皮内への T 細胞の保持を司っている。 $\alpha E \beta 7$ integrin のリガンドは E-cadherin の他にも 2 つ報告されている。1 つは毛細血管内皮に発現し、もう 1 つは口腔および皮膚の角化細胞に発現しているが、これらのリガンドの詳細は明らかにされていない。

$\alpha 4 \beta 7$ integrin と $\alpha E \beta 7$ integrin の機能に関して、これらの integrin は粘膜免疫や腸疾患に関わっていることが知られている。クローン病や潰瘍性大腸炎患者においては循環血液中および粘膜上皮内の $\alpha 4 \beta 7$ integrin 陽性 T 細胞数が変化することが報告されており、さらに $\alpha 4 \beta 7$ integrin は骨髄移植後 GVHD においてドナー由来 T 細胞が腸管に浸潤するために必須である。 $\alpha E \beta 7$ integrin も粘膜の炎症に重要な役割を果たすことが知られている。例えば $\alpha E \beta 7$ integrin 陽性樹状細胞は T 細胞を制御し、実験的大腸炎モデルにおいて不可欠と報告されている。骨髄移植後においてドナー由来の $\alpha E \beta 7$ integrin 陽性 $CD8^+$ T 細胞が

粘膜上皮内に浸潤することで腸管 GVHD の病態に深く関わるとの報告もある。一方、腸管以外の部分における $\alpha 4 \beta 7$ もしくは $\alpha E \beta 7$ integrin の関与の検討は少ない。 $\alpha 4 \beta 7$ integrin が T 細胞の遊走を制御することで接触皮膚炎に寄与することが報告されており、これらの integrin が皮膚免疫に関与する可能性が示唆されている。そこで我々は逆受動アルサス反応を用いて免疫複合体沈着による組織障害における $\alpha 4 \beta 7$ あるいは $\alpha E \beta 7$ integrin の関与を解析するためにこれらの integrin を欠損したマウスを用いて検討した。逆受動アルサス反応は皮内に抗体を投与し抗原を静脈内投与する皮膚逆受動アルサス反応および腹腔内に抗体を投与し抗原を静脈内投与する腹腔逆受動アルサス反応を行った。

実験の結果、 $\beta 7$ integrin 欠損マウスにおいては皮膚および腹腔逆受動アルサス反応後の好中球数、マスト細胞数がともに低下していた。アルサス反応においてはマスト細胞上の $Fc \gamma$ 受容体を介した免疫複合体の認識がきわめて重要であることが知られており、 $\beta 7$ integrin 欠損マウスにおける腹腔内好中球浸潤の低下はマスト細胞数の低下に起因すると考えられた。マスト細胞は $\beta 7$ integrin を発現し $\beta 7$ integrin 欠損マウスにおいて腹腔内マスト細胞数が低下していたことから、 $\beta 7$ integrin はマスト細胞の腹腔内への遊走や保持に関わっている可能性があると考えられた。 αE integrin 欠損マウスは野生型マウスに比べ腹腔逆受動アルサス反応における好中球数が低下していたが、マスト細胞数は低下していなかった。 αE integrin は好中球にもマスト細胞にも発現していないため、 αE integrin を発現する他の血球の関与が考えられた。これまで、 αE integrin を発現すると報告されている $CD8^+$ T 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、樹状細胞に関して腹腔逆受動アルサス反応後の細胞数を検討したところ、 αE integrin 欠損マウスにおいては $CD8^+$ T 細胞数が野生型マウスと比べて低下していることが明らかになった。腹腔内 $CD8^+$ T 細胞上の αE integrin 発現を検討したところ、腹腔内 $CD8^+$

T細胞の約半分に αE integrin を発現することが示された。さらに、これらの αE integrin 陽性 $CD8^+$ T細胞は IL-6、TNF- α 、IL-1 β といったアルサス反応に関わるサイトカインを多く発現していた。 αE integrin 陽性 $CD8^+$ T細胞の adoptive transfer により腹腔逆受動アルサス反応は回復したが、 αE integrin 陰性 $CD8^+$ T細胞では回復が見られなかった。これらの結果から、 αE integrin は $CD8^+$ T細胞の炎症局所への遊走に関わると同時に $CD8^+$ T細胞を活性化させサイトカイン産生を増強することにより、アルサス反応に関わっている可能性が示唆された。免疫複合体沈着による炎症および組織障害は血管炎をはじめとする多様な疾患において関与するが、 $\beta 7$ integrin や αE integrin がこれらの疾患に対し選択性のある治療標的となる可能性が示された。