

105. 自己免疫疾患における形質細胞様樹状細胞の役割の解明

佐藤 克明

Key words : 樹状細胞, T 細胞, 炎症, 適応免疫,
自己免疫疾患

宮崎大学 医学部 医学科
感染症学講座 免疫学分野

緒 言

樹状細胞 (dendritic cells: DCs) は樹状突起を有する抗原提示細胞であり, 機能的に通常型樹状細胞 (conventional DCs: cDCs) と形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid DCs: pDCs) に大別されるサブセットから構成される^{1,2)}. DCs は自然免疫と適応免疫を繋ぐ最も強力な抗原提示細胞として様々な抗原特異的エフェクター T 細胞の誘導を介して免疫系を賦活する^{1,2)}. さらに, 近年, 臨床研究から免疫疾患の発症・増悪における DCs の役割が着目されつつある. しかしながら, 生体内での免疫応答や免疫病態の形成における DC サブセットの役割やその機能を制御する機構についてはいまだ不明である.

pDCs は cDCs とは異なり病原体由来の核酸を認識する Toll 様受容体 (toll-like receptor; TLR) 7 と TLR9 のみを高発現し, 多量の I 型 IFN (interferon) を産生する^{3,5)}. 従って, pDCs はこの特性により病原体感染防御に重要であることが推察されている^{3,4)}.

また, pDCs は炎症反応により破壊された自己由来の核酸も同様に認識して I 型 IFN を産生する^{3,4)}. 尋常性乾癬や全身性エリテマトーデス等の自己免疫疾患では I 型 IFN の産生が血中で顕著に認められ, 炎症組織に pDCs が選択的に集積することが報告されている^{3,4)}. しかしながら, 現状ではこれら I 型 IFN 介在性自己免疫疾患の発症・増悪への pDCs の直接的な関与は証明されていない.

我々は先に免疫応答における pDCs の役割とともに pDCs の特異的発現分子として同定した Siglec-H による pDCs 機能の分子制御機構の解明を目的として, “Siglec-H” と pDCs それ自身を標的とした Siglec-H 欠損マウスと pDCs 特異的消失マウスを作製した⁶⁾. その解析の結果, Siglec-H が pDCs 機能制御分子であることを明らかにし, 生体内において pDCs が I 型 IFN 産生と細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 生成を介する宿主の抗ウイルス感染防御免疫の成立に重要であることを初めて明らかにした⁶⁾.

本研究では, Siglec-H 欠損マウスと pDCs 特異的消失マウスを用いた尋常性乾癬様炎症モデルと全身性エリテマトーデスモデルにおいて, 炎症の慢性化とこれによる自己免疫病態の発症・増悪における pDCs の役割とその Siglec-H を介する分子基盤を解明することを試みた.

方法、結果および考察

1. pDCs による炎症反応の制御

pDCs の Siglec-H を介した TLR7 リガンド誘発性炎症反応に対する制御について検討した (図 1). 野生型 (WT) マウスでは TLR7 リガンドである Imiquimod (IMQ) と D-galactosamine の投与により血清中での IFN- α , TNF (tumor necrosis factor) - α , IL (interleukin) -6, IL-12p40 の産生が認められ, 投与後 24 時間以内に炎症性ショックにより全例死亡した. 一方, Siglec-H 欠損マウスではこれら血清中サイトカイン産生の著しい亢進が認められ, 若干早い死亡が観察された. しかしながら, pDCs 特異的消失マウスでは I 型 IFN のほぼ完全な産生抑制, 炎症性サイトカインについては部分的な産生抑制が認められ, 死亡率の低下が示された. 以上の結果から, 生体内において pDCs は TLR7 リガンド刺激に対する I 型 IFN の主要な産生細胞であり, 炎症性サイトカインの産生には部分的に寄与していることが示され, Siglec-H が直接的にこれらサイトカイン産生を制御していることが明らかとなった.

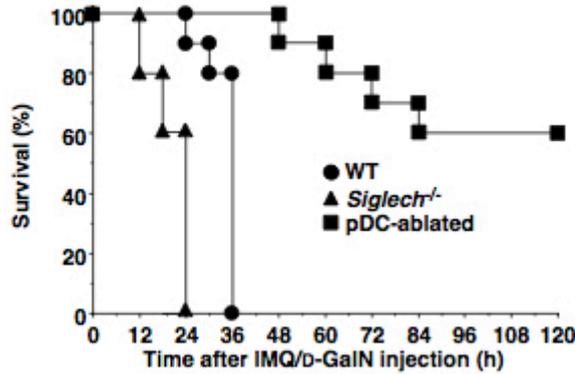
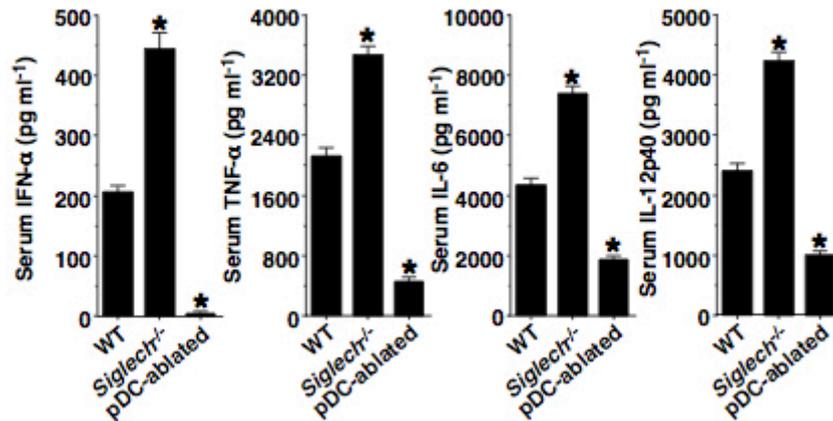
A**B**

図1. pDCsのSiglec-Hを介するTLR7依存性炎症応答制御。

WTマウス, Siglec-H欠損マウス, pDCs特異的消失マウスにIMQとD-galactosamineを投与した。A)投与3時間後,血清中でのIFN- α , TNF- α , IL-6, IL-12p40の産生をELISA法にて測定した。Error bar: SD. Asterisk: P < 0.01 (WTマウスとの比較)。B)投与後の生存率を経時的に測定した。

2. pDCsによる抗原特異的CD4⁺T細胞応答の制御

pDCsのSiglec-Hを介した抗原特異的CD4⁺T細胞応答に対する制御について検討した(図2)。モデル抗原である卵白アルブミン(ovalbumin: OVA)とIMQの免疫後,WTマウスのOVA特異的CD4⁺T細胞の増殖能とIFN- γ 産生能,およびCD4⁺IFN- γ ⁺TH1(type-1 T helper T)細胞生成能と比較して,Siglec-H欠損マウスではこれらの抗原特異的CD4⁺T細胞応答の増強,pDCs特異的消失マウスでは減弱を示した。以上の結果から,生体内においてpDCsはSiglec-H制御下において活性化後,サイトカイン産生に基づいて抗原特異的エフェクターCD4⁺T細胞を誘導することが考えられた。

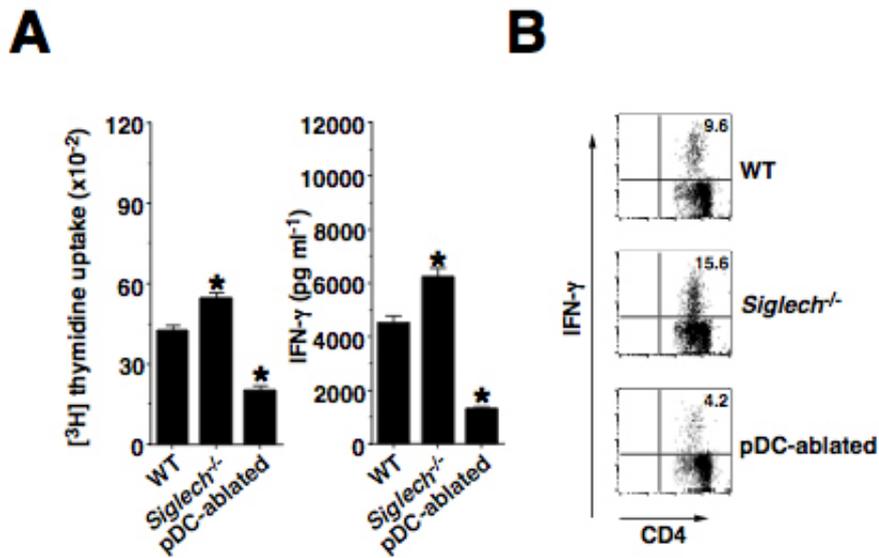


図2. pDCs の Siglec-H を介する TLR7 依存性抗原特異的 CD4⁺T 細胞応答制御.

WT マウス, Siglec-H 欠損マウス, pDCs 特異的消失マウスに IMQ と OVA を免疫した. 免疫 14 日後に各マウスの脾臓 CD4⁺T 細胞を調製し, OVA を抗原とした WT マウス由来脾臓 DCs との共培養を 3 日間行った. A) 脾臓 CD4⁺T 細胞の OVA 特異的な増殖反応 (3Hthymidine 取り込み能: 左パネル) を計測するとともに ELISA 法による IFN-γ 産生 (右パネル) を測定した. Error bar: SD. Asterisk: P < 0.01 (WT マウスとの比較). B) 脾臓 CD4⁺T 細胞の細胞内 IFN-γ 産生をフローサイトメトリー法にて測定した. 各ドットプロット図内の数値は CD4⁺T 細胞中の IFN-γ 陽性率を示す.

3. pDCs による抗原特異的 CD8⁺T 細胞応答の制御

pDCs の Siglec-H を介した抗原特異的 CD8⁺T 細胞応答への制御について検討した (図3). WT マウスでは OVA と IMQ の免疫により CD44^{high}MHC I-OVA_p テトラマー陽性と IFN-γ 産生能を示す抗原特異的 CTL が生成した. 一方, Siglec-H 欠損マウスでは抗原特異的 CTLs の生成が低下し, pDCs 特異的消失マウスではさらなる低下が認められた. 以上の結果から, 生体内において pDCs は Siglec-H が関与する抗原クロスプレゼンテーションを介して CD8⁺T 細胞の惹起を行い, CTLs の生成に寄与することが明らかとなった.

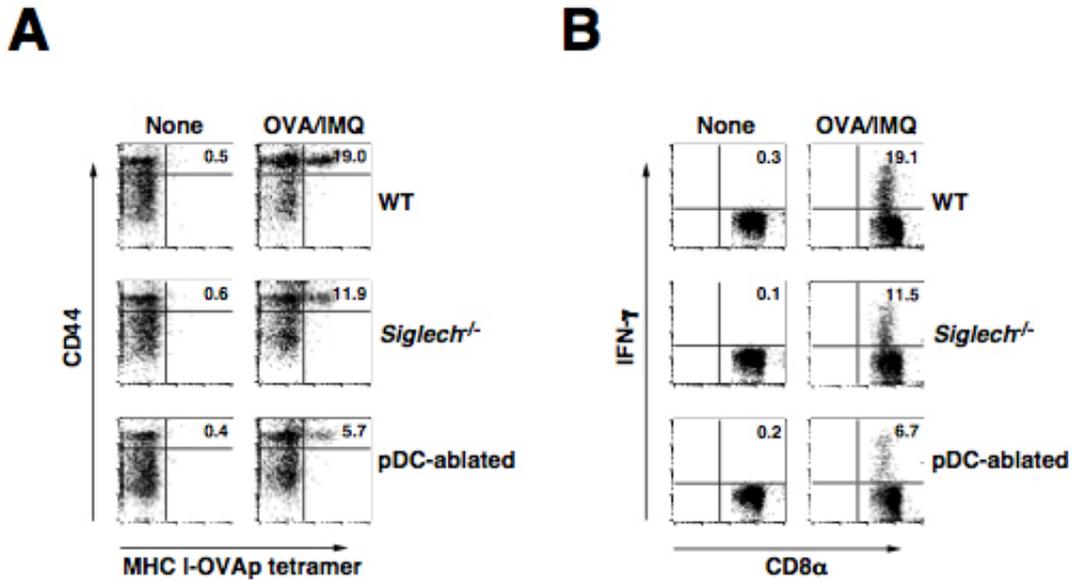


図3. pDCsのSiglec-Hを介するTLR7依存性抗原特異的CD8⁺T細胞応答制御。

WTマウス, Siglec-H欠損マウス, pDCs特異的消失マウスにIMQ, OVA, アゴニスト抗CD40抗体を免疫した. 免疫6日後に各マウスの脾臓CD8⁺T細胞を調製した. A) 脾臓CD8⁺T細胞のCD44発現およびMHC I-OVAp tetramer結合をフローサイトメトリー法にて測定した. 各ドットプロット図内の数値はCD8⁺T細胞中のCD44^{high}MHC I-OVApテトラマー陽性率を示す. B) 脾臓CD8⁺T細胞の細胞内IFN- γ 産生をフローサイトメトリー法にて測定した. 各ドットプロット図内の数値はCD8⁺T細胞中のIFN- γ 陽性率を示す.

4. pDCsによる自己免疫疾患の制御

pDCsのSiglec-Hを介した尋常性乾癬の発症・増悪に対する制御について検討した(図4). WTマウスへのIMQ塗布では血清中のIFN- α の産生が誘導されるとともに尋常性乾癬様炎症の病態が発症し, 経時的に増悪した. 一方, Siglec-H欠損マウスではWTマウスと比較して, IFN- α の産生亢進と尋常性乾癬様炎症病態のさらなる増悪が認められた. また, pDCs特異的消失マウスではWTマウスと比較して, IFN- α の産生と尋常性乾癬様炎症病態の発症が著しく抑制された. 以上の結果から, pDCsは尋常性乾癬様炎症の発症・増悪に関与することが明らかとなった. 現在, 全身性エリテマトーデスモデルについても自己免疫病態の形成におけるpDCsのSiglec-Hを介した制御機構について解析中である.

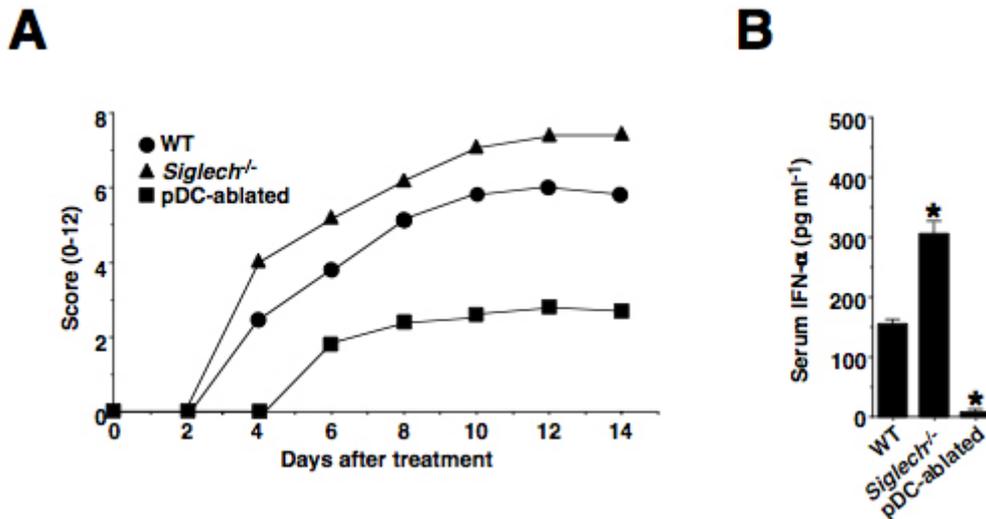


図4. pDCsのSiglec-Hを介するTLR7依存性尋常性乾癬様炎症制御。

WTマウス, Siglec-H欠損マウス, pDCs特異的消失マウスの背部皮膚にIMQクリームを塗布した。A) IMQクリーム塗布後, 背部皮膚の紅斑スコア(0~4), 脱落乾燥表皮スコア(0~4), 肥厚スコア(0~4)をそれぞれ経日的に計測し, 総合皮膚病態スコアを算出した(0~12)。B) IMQクリーム塗布10日後, 血清中のIFN- α の産生をELISA法にて測定した。Error bar: SD. Asterisk: $P < 0.01$ (WTマウスとの比較)。

この研究から, pDCsの慢性炎症性自己免疫病態の形成での役割について, pDCsが自己核酸の認識後に過度のサイトカインを産生することにより炎症反応を惹起・慢性化させ, 同時に自己成分の自己反応性T細胞への抗原提示により自己免疫応答を誘導して慢性炎症性自己免疫疾患の惹起・進行・重症化を導く機構が推察された。今後の発展としてpDCsを標的としたI型IFN介在性慢性炎症性自己免疫疾患への画期的な創薬の開発に繋がることを期待される。

共同研究者

本研究の共同研究者は, 宮崎大学医学部医学科感染症学講座免疫学分野の高木秀明, 深谷知宏, 宇都倫史である。本稿を終えるにあたり, 本研究に御支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Sato, K. & Fujita, S. : Dendritic cells-nature and classification. *Allergol. Int.*, **56** : 183-191, 2007.
- 2) Shortman, K. & Naik, S. H. : Steady-state and inflammatory dendritic-cell development. *Nat. Rev. Immunol.*, **7** : 19-30, 2007.
- 3) Gilliet, M., Cao, W. & Liu, Y. J. : Plasmacytoid dendritic cells: sensing nucleic acids in viral infection and autoimmune diseases. *Nat. Rev. Immunol.*, **8** : 594-606, 2008.
- 4) Swiecki, M. & Colonna, M. : Unraveling the functions of plasmacytoid dendritic cells during viral infections, autoimmunity, and tolerance. *Immunol. Rev.*, **234** : 42-62, 2010.
- 5) Kaisho, T. & Tanaka, T. : Turning NF- κ B and IRFs on and off in DC. *Trends Immunol.*, **7** : 329-336, 2008.
- 6) Takagi, H., Fukaya, T., Eizumi, K., Sato, Y., Sato, K., Shibazaki, A., Otsuka, H., Hijikata, A., Watanabe, T., Ohara, O., Kaisho, T., Malissen, B. & Sato, K. : Plasmacytoid dendritic cells are crucial for the initiation of inflammation and T cell immunity *in vivo*. *Immunity*, **35** : 958-971, 2011.