125. 形質細胞様樹状細胞の自己免疫疾患に対する制御の解明

高木　秀明

宮崎大学 医学部 医学科 感染症学講座 免疫学分野

Key words：形質細胞様樹状細胞，I 型インターフェロン，炎症，自己免疫疾患，全身性エリテマトーデス

緒　言

樹状細胞（DCs）は樹状突起を有する免疫細胞であり、機能的に通常型樹状細胞（cDCs）と形質細胞様樹状細胞（pDCs）に大別されるサブセットから構成される。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し、免疫応答の司令塔として作用する。さらに、近年、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。

pDCs は cDCs と異なり、エンドソーム内核酸受容体である Toll 様受容体（TLR）7 と TLR9 を選択的に高発現しており、ウイルス由来核酸認識後に大量の I 型インターフェロン（IFN-I）を産生することから、ウイルス感染防御に重要な役割を果たすことが示されている[1)]。一方、pDCs は炎症反応により破壊された自己細胞由来の核酸も同様に認識して IFN-I を産生する。さらに、全身性エリテマトーデス（SLE）や尋常性乾癬等の自己免疫疾患では IFN-I の産生が血中で顕著に認められ、炎症組織に pDCs が選択的に集積していることが報告されている[2)]。これらの知見から、pDCs と IFN-I 介在性自己免疫疾患との関連が示唆されているが、pDCs の自己免疫病態形成への直接的な関与は明らかにされていない。

本研究では、pDCs 特異的発現分子である Siglec-H の欠損（*Siglech*^{kd}）マウスと pDCs 特異的消失（pDC-ablated）マウスを用いて、炎症の慢性化とこれによる免疫病態の発症･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目的とした。

方法および結果

1．pDCs による全身性炎症反応の制御

核酸リガンド認識に起因した炎症反応における pDCs の役割を明らかにするため、マウスに TLR7 リガンドである Imiquimod（IMQ）を投与し、血清中の IFN-I と炎症性サイトカインの産生および個体の生存率を解析した。その結果、Siglec-H 欠損マウスで による致死率が亢進していたが、pDCs 特異的消失マウスではこれらの減弱を示した（図 1）。以上の結果より、pDCs が TLR7 依存性全身性炎症反応の惹起に必須であり、Siglec-H が pDCs の機能を負に制御していることが明らかとなった。

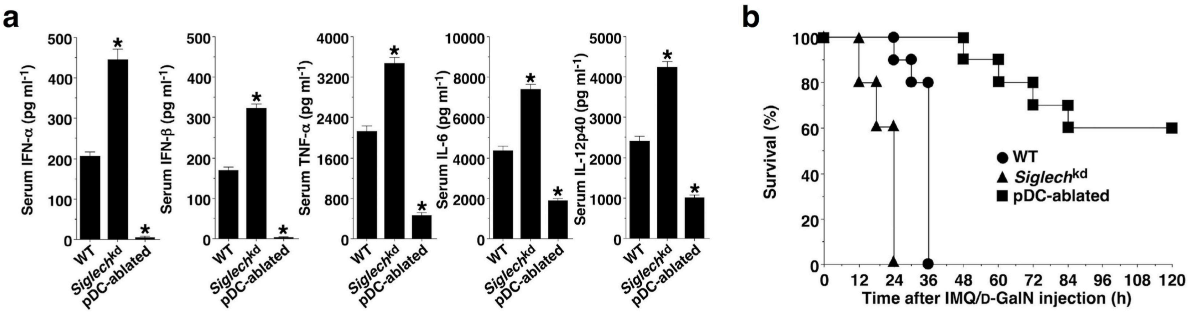

図 1. pDCs の TLR7 依存性全身性炎症反応に対する制御

a）IMQ 投与 24 時間後の血清中サイトカイン産生量をグラフに示す。Error bar: SD. *P < 0.01, ANOVA.

b）マウスに IMQ と D-GalN を投与し、投与後 120 時間までの生存率をグラフに示す。

2．pDCs による抗原特異的 T 細胞応答の制御

抗原特異的 T 細胞免疫応答における pDCs の役割を明らかにするために、卵白アルブミン（OVA）と IMQ を用いた免疫モデルにおける OVA 特異的エフェクター $CD4^+$T 細胞の誘導と OVA 特異的細胞傷害性 T 細胞（CTL）の誘導について解析した。その結果、Siglec-H 欠損マウスでは WT マウスと比較して、免疫後の脾臓中 IFN-γ 産生 $CD4^+$T 細胞の誘導が増強していたが、pDCs 特異的消失マウスでは減弱していた（図 2a、b）。一方、WT マウスにおける IFN-γ 産生 $CD8^+$T 細胞と OVA-tetramer 陽性 $CD8^+$T 細胞の誘導と比較して、Siglec-H 欠損マウスと DCs 特異的消失マウスではともにこれらの誘導が減弱していた（図 2c-f）。以上の結果から、pDCs は TLR7 依存性の抗原特異的 T 細胞応答の誘導に関与し、Siglec-H が pDCs の機能を制御していることが明らかとなった。

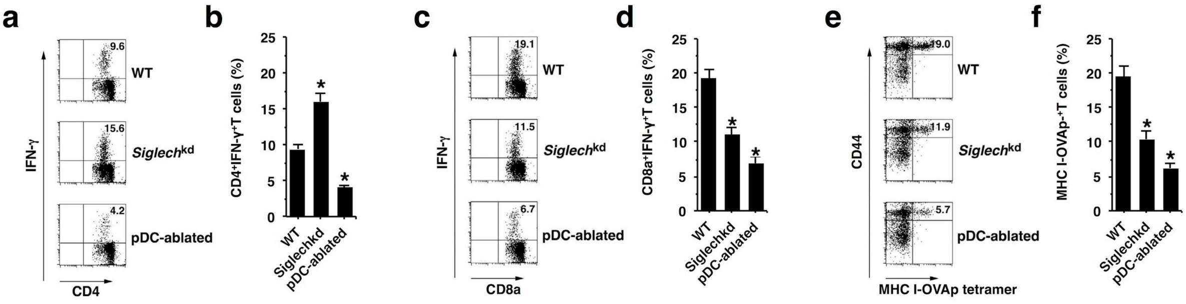

図 2. pDCs の TLR7 依存性抗原特異的 T 細胞免疫応答に対する制御

a、b）IMQ/OVA 免疫 14 日後の $CD4^+$T 細胞における IFN-γ 陽性細胞の FACS 解析プロット図（a）及び細胞比率（b）をグラフに示す。Error bar: SD. *P < 0.01, ANOVA.

c〜f）IMQ/OVA/抗 CD40 アゴニスト抗体免疫 6 日後の脾臓中の $CD8^+$T 細胞における IFN-γ 陽性細胞の FACS 解析プロット図（c）および細胞比率（d）、OVA 特異的 tetramer 陽性細胞の FACS 解析プロット図（e）および細胞比率（f）をグラフに示す。Error bar: SD. *P < 0.01, ANOVA.

3．pDCs による自己免疫疾患病態形成の制御

全身性慢性炎症性自己免疫病態の形成における pDCs の役割を明らかにするために、Pristane 誘発性ループス様腎炎モデルにおける免疫応答と免疫病態について解析した。その結果、Siglec-H 欠損マウスでは WT マウスと比較して、

腹腔内における炎症性単球の増加（図 3a）、IFN-I 関連遺伝子の発現の上昇（図 3b）、炎症性サイトカイン及び炎症性単球の動員に重要であるケモカインである CCL2 の産生の亢進（図 3c）が認められたが、pDCs 特異的消失マウスではいずれも減弱していた（図 3a-c）。以上の結果より、pDCs が pristan 誘発性炎症反応の惹起に必要であることが示された。

さらに、Siglec-H 欠損マウスでは WT マウスと比較して、血清中の抗核抗体（抗 ss-DNA, 抗 ds-DNA、抗 snRNP、抗 Sm 抗体）とクレアチニンの産生亢進が認められたが、pDCs 特異的消失マウスではいずれも減弱していた（図 3d）。また、腎臓病理解析において、WT マウスでは糸球体の肥大、糸球体間質基質増加、リンパ球浸潤ならびに糸球体周辺組織への IgG/IgM/C3 の沈着を呈する糸球体腎炎が認められた（図 3e）。一方、Siglec-H 欠損マウスでは糸球体腎炎病態が WT マウスと比較して増悪し、pDCs 特異的消失マウスでは緩和していた。以上の結果から、pDCs は IFN-I と炎症性サイトカインの産生を介して炎症反応を促進することにより、ループス様腎炎の発症と増悪に関与していることが明らかとなった。

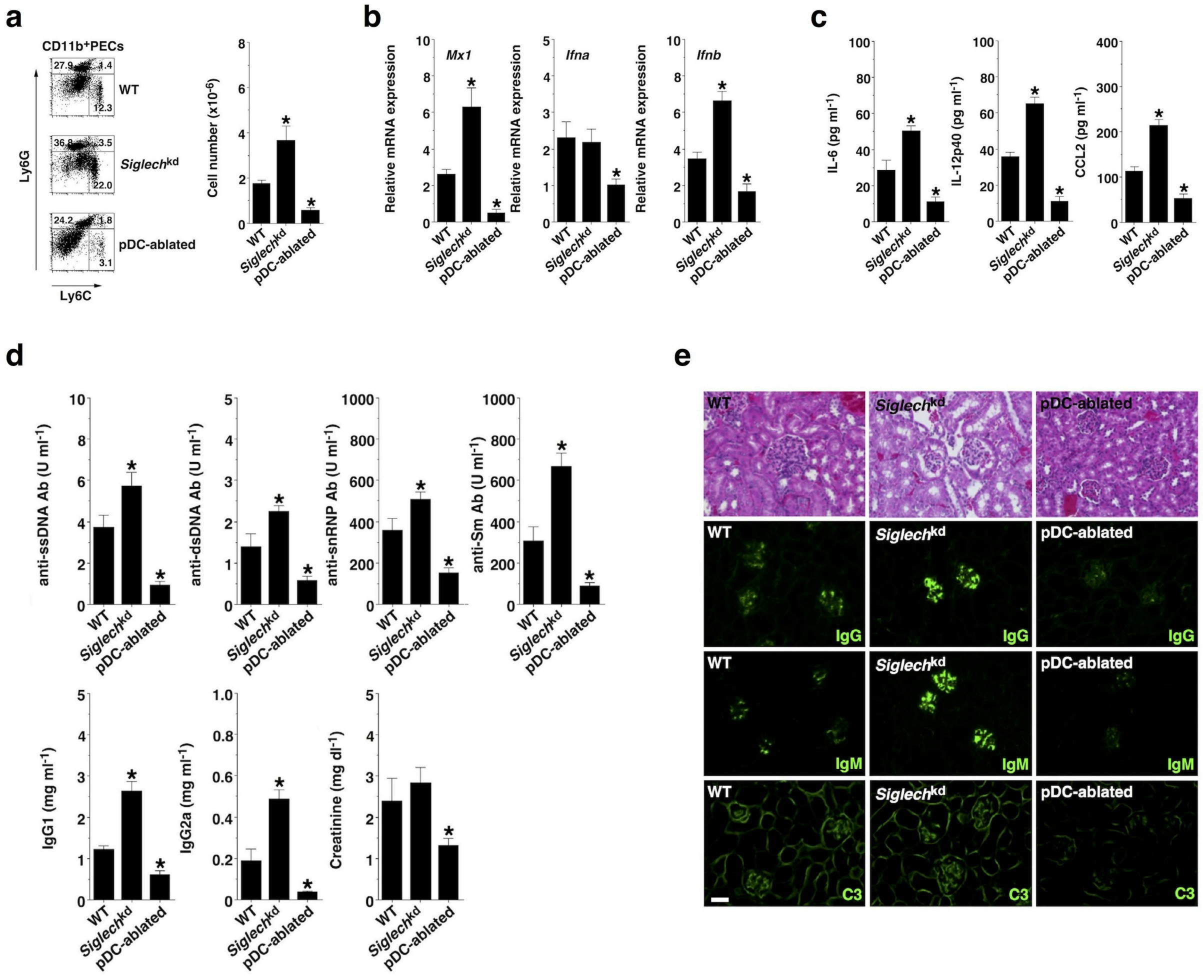

図 3.　pDCs のループス様腎炎に対する制御

a〜c）pristan 投与 14 日後の腹腔細胞の FACS 解析プロット図および細胞数（a）、腹腔細胞における IFN-I 関連遺伝子発現（b）および腹腔洗浄液中の IL-6、IL-12、CCL2 の産生量（c）をグラフに示す。Error bar: SD. *P < 0.01, ANOVA.

d）pristan 投与 4 ヶ月後の血清中の抗核抗体及びクレアチニンの産生量を示す。Error bar: SD. *P < 0.01, ANOVA.

e）腎臓組織切片の HE 染色、および蛍光免疫染色（IgG、IgM、C3）を示す。scale bar: 40 μm.

考　察

本研究により、pDCs が TLR7 依存性全身性炎症反応の惹起や IFN-I 介在性自己免疫疾患の病態形成に必要であり、Siglec-H が pDCs の機能制御分子であることが明らかとなった[3)]。従って、本研究により全身性慢性炎症性自己免疫病態の形成における pDCs の意義が解明されたことから、将来的に pDCs 機能を標的とした分子標的治療薬などの開発により、炎症性自己免疫疾患の新たな治療薬の創出が期待される。

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佐藤克明、宇都倫史、深谷知宏、宮崎大学医学部医学科解剖学講座組織細胞化学分野の菱川善隆、Narantsog Choijookhuu 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) Takagi H, Fukaya T, Eizumi K, Sato Y, Sato K, Shibazaki A, Otsuka H, Hijikata A, Watanabe T, Ohara O, Kaisho T, Malissen B, and Sato K. Plasmacytoid Dendritic Cells Are Crucial for the Initiation of Inflammation and T Cell Immunity In Vivo. Immunity. 2011;35(6):958-971. doi: 10.1016/j.immuni.2011.10.014

2) Gilliet M, Cao W, and Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells: sensing nucleic acids in viral infection and autoimmune diseases. Nat Rev Immunol. 2008;(8):594-606. doi: 10.1038/nri2358

3) Takagi H, Arimura K, Uto T, Fukaya T, Nakamura T, Choijookhuu N, Hishikawa Y, and Sato K. Plasmacytoid dendritic cells orchestrate TLR7-mediated innate and adaptive immunity for the initiation of autoimmune inflammation. Sci Rep. 2016;14(6):24477. doi: 10.1038/srep24477