

【アジュバントワークショップ 講演⑥】

「核酸アジュバントによる樹状細胞活性化の分子メカズム」

独立行政法人理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター  
生体防御研究チームリーダー 改正恒康

ご紹介ありがとうございました。私は、理化学研究所の改正です。

きょうは主に、核酸系アジュバントによる樹状細胞活性化の分子機構についてお話しさせていただきたいと思います。

核酸系アジュバントを認識する受容体は現在これだけ知られておりますけれども、私の本日の話は、エンドソームに発現しますTLR 7/9、そしてTLR 3、TLR 7/9については、主にシグナル伝達メカニズムを、TLR 3については、それを発現する樹状細胞サブセットを制御する機能分子についてお話しさせていただきたいと思います。

まず、TLR 7/9を発現する樹状細胞としましては、Plasmacytoid DCというのが知られております。これはマウスですけれども、マウスの脾臓でCD11c陽性細胞の中で、B220陽性の分画、このPlasmacytoid DCがTLR 7/9を選択的に発現しております。脾臓ばかりでなく、骨髄にも認められますが、このPlasmacytoid DCの特徴としましては、病原体センサーの中では特に、TLR 7/9だけを発現しているということが非常に重要でありまして、要するに、アジュバントについてはこのTLR 7/9のリガンドである核酸にしか反応いたしません。このTLR 7/9の刺激で大量のI型インターフェロン、特にインターフェロン $\alpha$ を産生するという特性を有しております。

これはマウスの系ですけれども、ヒトの系でもこの特性は保存されておまして、Plasmacytoid DCはTLR 7/9だけを発現していて、その刺激だけによって、インターフェロン $\alpha$ を産生します。この特徴はヒトでもマウスでも共通して認められます。

このTLR 7/9を介したI型インターフェロン産生というのは、ウイルス感染に対して防御的に機能いたしますし、また宿主由来の核酸も認識いたしまして、この場合にはI型インターフェロンは自己免疫疾患の病態形成にかかわるという病理学的な側面も持っております。

このTLR 7/9のシグナル伝達機構ですけれども、Toll-like receptorsのメジャーなアダプターでありますMyD88に依存してまして、ただし、

この下流でNF- $\kappa$ Bを活性化する経路と、IRF7を活性化する経路、この2つに分岐しております。Plasmacytoid DCでは、IRF7の発現が恒常的に高く、このパスウェイが非常にPDCに特異的なパスウェイとして機能しております。

MyD88はIRF7と直接会合するんですけども、IRF7の活性化には、リン酸化するキナーゼが必要であるということで、我々は数年前に、セリンスレオニンキナーゼのIKK $\alpha$ がこの経路に選択的に必須であることを見出しました。

最近、また九州大学の福井（宣規）先生のご研究なんですけれども、DOCK2と呼ばれるRacを活性化するような分子、これはGPCRの下流で効いているというふうに言われているんですけども、これが活性化によって膜へ移行し、Racを活性化すると。

このDOCK2の欠損マウスを解析してみると、IKK $\alpha$ 欠損マウスと同じように、インターフェロン $\alpha$ の産生が選択的に阻害されておりました。この場合は、TLR7/9をマウスに投与しての血中のサイトカインレベルを測定しているんですけども、インターフェロン $\alpha$ の産生障害がノックアウトマウスで認められて、一方、炎症性サイトカインの産生は正常であります。pDCをフィリファイして検討いたしましても同様の結果が得られて、インターフェロン $\alpha$ の選択的阻害が認められました。

シグナル伝達をいろいろ調べているんですけども、ポイントとしましては、IRF7が刺激に応じてワイルドタイプでは核内移行する。この核内移行が認められなくなる。CpGの刺激に応じて、IKK $\alpha$ のリン酸化がワイルドタイプでは認められるんですけども、このノックアウトマウスでは認められないということから、このDOCK2の欠損マウスのモレキュラーメカニズムとしましては、このIKK $\alpha$ をターゲットにしているんだろうということがわかってきまして、このIKK $\alpha$ の重要性がこの仕事でも再確認されております。

私は、これらの治験はマウスなんですけれども、ヒトのpDCについて、関西医科大学の尼川（龍一）先生、伊藤（量基）先生とも共同研究をしておるんですけども、ヒトのpDCでIKKが重要かどうかを、IKK阻害剤を用いて検討いたしました。

そうしますと、これは先ほどと同じように、ヒトのpDCではやはりマウスと同じように、TLR7/9に応答して、インターフェロン $\alpha$ を産生するわけ

なんですけれども、このインターフェロン $\alpha$ の産生というのがIKK inhibitor、この場合は、BAY-11というのを使っているんですけども、これによって阻害されました。一方、TNF- $\alpha$ の産生はほとんど阻害されませんでした。この阻害に用いた濃度というのは、大体 $10^{-9}$ から $10^{-7}$ モラーなんですけれども、これまでIKKのinhibitorであるI $\kappa$ B $\alpha$ のリン酸化を阻害するI $c_{50}$ は $10\mu\text{M}$ で、それよりずっと低い濃度で有効であるということがわかってきました。

このBAY-11でIRF7の核内移行を検討したんですけども、CpGによってIRF7が核内移行する。その核内移行が阻害されていたので、恐らくIRF7の活性化にマウスと同じように効いているのではないかということが示唆されました。

あと、時間の関係で、余りないんですけども、少しだけ、もう一つのサブセットについて、そのサブセットを制御する機能分子についてお話しさせていただきます。

Plasmacytoid DCはこういうふうに、B220陽性細胞として検出されるんですけども、このCD11c陽性、B220マイナスの細胞をT細胞と同じように、樹状細胞はCD4や8で分類したりしているんですけども、特に、このCD8陽性の細胞がTLR3を選択的に発現しているということ。二本鎖RNAに反応するのはこの樹状細胞だけで、このTLR3の作用によって大量の炎症性サイトカインを産生してきます。

この細胞は死細胞（デッドセル）を取り込む活性も強くて、クロスプレゼンテーションにも関与するというふうに言われておりますが、この細胞に特異的に発現している遺伝子はないかということで調べたところ、特にケモカインレセプター（Xcr1）の発現が顕著にふえておりました。これはマウスではCD8陽性細胞なんですけれども、ヒトの末梢血でもやはり非常に少ないんですけども、BDCA3陽性細胞と呼ばれる細胞集団がありまして、この細胞集団がマウスのCD8陽性樹状細胞に相当するというふうに言われております。

この細胞をとってきまして発現を見ますと、やはりTLR3と同じように、ヒューマンXcr1の発現も顕著に、非常にこの細胞でエンリッチされておりました。実際、時間の関係で省略しますけれども、このリガンドXcr1に対して、非常によくこのBDCA3陽性細胞がトランスウェルマイグレーションアッセイで反応いたします。

このXcr1のリガンドのほうですけれども、このリガンドがどこに発現しているかということ調べましたところ、これも時間の関係でNK細胞が非常にメジャーなソースであるということがわかってきました。実際、NK細胞をディプリートしますと、このシラムのXcr1のレベルはかなり減ります。このNK細胞の産生はIL2によって増強されます。

興味があるのは、T細胞を見ますと、T細胞はCD8陽性のT細胞だけが、この活性化で非常にリガンドの発現を上昇してきます。

これらの発現パターンというのは、今まではマウスのデータなんですけれども、ヒューマンでもほぼ同様に保存されておりまして、ヒューマンではリガンドがXcr1/2、両方あるんですけれども、構成的にNK2細胞において発現が高く、CD8陽性T細胞が活性化されると、非常によくこのXcr1を発現するというので、これが樹状細胞サブセット、これはマウスとヒューマン、非常に共通しているんですけれども、このXcl1というケモカイン受容体が、この樹状細胞サブセットに非常に選択的に発現していて、これはこのセキュリティな状況では、NK細胞がリガンドを発現している。何らかアクチベートされた状況では、IL-2、あるいはCD8陽性T細胞がこのリガンドを発現していて、このケモカインシステムというのは、非常にインネートとアダプティブなCTLレスポンスに非常に重要な役割を果たしているのではないかと。

この樹状細胞、もう一度確認のために言いますと、二本鎖RNAを認識するTLR3を発現しているのは、この細胞だけでして、この細胞の発現制御に非常に重要な役割を果たしているのではないかとということで、このケモカインシステムの重要性を今検討しているところです。

時間をオーバーしまして、すみませんでした。ありがとうございます。（拍手）