

樹状細胞の新機能の発見

—腸炎制御への新たなアプローチ—

要旨

和歌山県立医科大学先端医学研究所生体調節機構研究部の改正恒康教授、大田友和大学院生（学振特別研究員）を中心とした共同研究グループは、病原体やがんに対する免疫応答に重要な樹状細胞[1]の一つのサブセットが、腸管の免疫系を維持することによって、腸炎の病態を制御している新たなメカニズムを発見しました。

樹状細胞は、ウイルスや細菌などの病原体の感染を認識し、炎症性サイトカイン[2]などの免疫系活性化因子を産生したり、T細胞に抗原を提示し、ヘルパーT細胞（Th細胞）への分化を誘導することにより、抗体産生などの免疫応答を誘導します。また、細胞傷害性T細胞（cytotoxic T cell, CTL）[3]を誘導することにより、病原体やがん細胞を排除する機能も持っています。このように、樹状細胞は、免疫担当細胞として、病原体やがんに対する防御免疫応答に重要な役割を果たしています。近年、樹状細胞は単一の細胞集団ではなく、機能や特徴が異なるいくつかのサブセットから構成されることがわかってきています。

樹状細胞のサブセットのうち、ケモカイン受容体 XCR1[4]を発現する樹状細胞（XCR1陽性樹状細胞）は、特に、CTLを誘導する活性が強く、病原体やがんに対する防御免疫応答の主役を担っていることが知られています。しかしながら、XCR1陽性樹状細胞が、感染やがんのない定常状態や、種々の炎症性疾患においてどのような役割をはたしているのかについては、よく分かっていませんでした。ある特定の細胞集団の役割を知るためには、その細胞集団を欠失させることが非常に有用です。そこで、共同研究チームは、XCR1陽性樹状細胞だけを欠失する遺伝子改変マウス（XCR1陽性樹状細胞欠失マウス）を作成し、解析を行いました。

XCR1陽性樹状細胞欠失マウスにおいては、腸管組織のT細胞が減少し、残存しているT細胞においても、腸管特有の遺伝子発現パターン、膜タンパク発現パターンが障害されていると共に、細胞死の徴候も顕著に認められました。このことから、XCR1陽性樹状細胞は、腸管T細胞集団の生存維持と分化に重要な役割を果たしていることが明らかになりました。次に、化学物質の経口投与により腸炎を誘導したところ、コントロールのマウスと比較して、XCR1陽性樹状細胞欠失マウスにおいて、症状の重篤化が認められたことから、XCR1陽性樹状細胞は腸炎の増悪にブレーキをかけていると考えられました。また、XCR1遺伝子を欠損するマウス、および、XCR1のリガンドであるケモカイン XCL1の遺伝子を欠損す

るマウスを解析したところ、XCR1 陽性樹状細胞欠失マウスと同様に、腸管 T 細胞の減少が認められました。さらに、XCL1 の発現が、脾臓やリンパ節の T 細胞に比較して、腸管組織の T 細胞において高いこと、そして、腸管内で T 細胞と XCR1 陽性樹状細胞が密に相互作用していることも明らかになりました。以上の結果から、XCR1 陽性樹状細胞は、ケモカインシステム (XCR1-XCL1 相互作用) を介して、腸管 T 細胞と密接にクロストークすることにより、腸管内の免疫環境を維持していることが明らかになりました。

潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患は、腸管に炎症や潰瘍を引き起こす疾患で、難病に指定されています。その原因として、免疫系の関与が指摘されているものの、どのような機構で発症、増悪しているのかほとんどわかっていません。XCR1 陽性樹状細胞、および XCR1 や XCL1 の発現パターン、機能は、マウスだけではなく、ヒトでも存在し、機能しています。今回明らかになった、XCR1 陽性樹状細胞および XCR1-XCL1 相互作用を介した腸管免疫制御機構がヒトにおいても機能している可能性は高く、今後、ヒトの炎症性腸疾患の病態の解明、新たな治療法の開発が進むことが期待されます。

本研究は、改正恒康教授が、理化学研究所 (理研) 免疫・アレルギー科学総合研究センター (現在、統合生命医科学研究センター) 在籍時に作成した遺伝子改変マウスを用いており、大阪大学免疫学フロンティア研究センター (免疫機能統御学、岸本基金) からも支援を受けています。成果は英国のオンライン科学雑誌『*Scientific Reports*』(3月23日付け) に掲載されます。

1. 背景

樹状細胞は、病原体やがんに対して、炎症性サイトカインなど種々の免疫系活性化因子を産生するばかりでなく、それらの抗原を T 細胞に提示し、Th 細胞や CTL などへ分化誘導することにより、適切な免疫応答を誘導する機能を持っています。近年、樹状細胞は単一の細胞集団ではなく、機能や特徴が異なるいくつかのサブセットから構成されていることが明らかになってきました。

XCR1 陽性樹状細胞は、樹状細胞全体の 5-10%を占める樹状細胞サブセットであり、脾臓やリンパ節などのリンパ組織ばかりでなく、皮膚や腸管などの末梢組織にも広く分布しています。XCR1 陽性樹状細胞は、病原体やがんに対して CTL を誘導する活性が強いという機能的特性を持っています。改正恒康教授らは、この XCR1 陽性樹状細胞に着目し、これまで、この細胞を生体内で一定の時期だけ欠失させることができるマウス (XCR1 陽性樹状細胞誘導的欠失マウス) やこの細胞にのみ蛍光タンパクを発現させるマウス (XCR1 陽性樹状細胞可視化マウス) を作成し、細菌感染やワクチンによる生体での CTL 誘導免疫応答における XCR1 陽性樹状細胞の重要性や CTL 誘導免疫応答における、XCR1 陽性樹状細胞の生体内での挙動を明らかにしていました (Yamazaki *et al.* J Immunol, 2013; Kitano *et al.* PNAS, 2016)。

しかし、XCR1 陽性樹状細胞誘導的欠失マウスにおいては、欠失期間が短く、XCR1 陽性樹状細胞が、長期にわたる生体の恒常性維持や炎症性疾患の病態形成にどのように関与しているのかについての解析には適していませんでした。そこで、共同研究グループは、XCR1 陽性樹状細胞を長期間持続的に欠失させる遺伝子改変マウス (XCR1 陽性樹状細胞欠失マウス) を樹立し、このマウスを解析することによって、生体の恒常性維持における XCR1 陽性樹状細胞の役割を明らかにすることを試みました。

2. 研究手法と成果

共同研究グループは、XCR1 遺伝子を発現する細胞に選択的にジフテリアトキシン A サブユニット (DTA) を発現させるようにデザインした遺伝子改変マウス (XCR1-DTA マウス) を作成しました。このマウスにおいては、DTA の持つ細胞毒性のために、DTA を発現する細胞、すなわち XCR1 陽性樹状細胞が選択的に欠失することが期待されます。そして期待通り、XCR1-DTA マウスでは、XCR1 陽性樹状細胞が欠失していたので、このマウスを XCR1 陽性樹状細胞欠失マウスとして解析しました (図 1)。このマウスは、定常状態では、特に著明な病態を示しませんが、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) の経口投与により腸炎を誘導させたところ、コントロールマウスに比較して、体重減少が顕著で、下痢や血便も重症化するなど、腸炎症状の重篤化が認められました。この結果から、XCR1 陽性樹状細胞が腸炎病態の重症化にブレーキをかける役割を果たしていることが示唆されました。

また、XCR1 陽性樹状細胞欠失マウスにおいて、種々の組織で T 細胞集団を解析したと

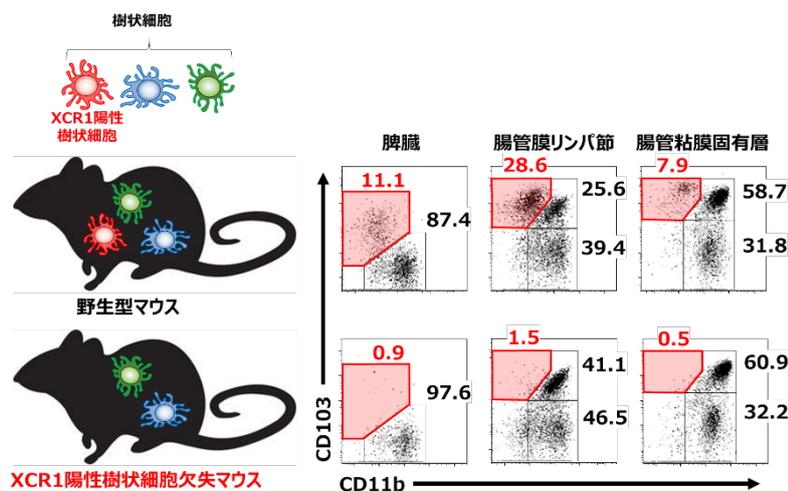
ころ、脾臓やリンパ節では正常でしたが、腸粘膜固有層および腸上皮内などの腸管組織において、著明な T 細胞の減少が認められました。腸管組織の T 細胞は、脾臓やリンパ節の T 細胞と比較して、CD103 の発現が増強している一方、CD62L の発現が低下しているなど、腸管特有の膜タンパク発現パターンを示します。しかし、XCR1 陽性樹状細胞欠失マウスにおいて残存している腸管 T 細胞は、CD103 の発現が低下している一方、CD62L の発現は増強していました。また、膜タンパク以外の種々の免疫系機能分子の発現パターンも障害されており、細胞死の徴候も顕著に認められました。腸管組織の T 細胞は腸炎症状の重篤化にブレーキをかけていることが知られているので、XCR1 陽性樹状細胞は、これら腸管 T 細胞の生存および分化を維持することにより腸炎症状を制御していると考えられました。

これまでに、XCR1 のリガンドが XCL1 であること、そして、XCR1-XCL1 相互作用が CTL の応答に関与していることは知られていますが、XCR1-XCL1 相互作用が腸管免疫においてどのような役割を果たしているのかについてはわかっていませんでした。そこで、この点を明らかにするために、XCR1 欠損マウスおよび XCL1 欠損マウスを解析したところ、いずれの欠損マウスにおいても、腸管組織の T 細胞の減少が認められました。この結果から、XCR1 は単なるマーカーではなく、XCL1 からシグナルを受け取って機能していると考えられました。また、正常なマウスにおいては、腸管組織の T 細胞において、脾臓やリンパ節の T 細胞よりも、XCL1 遺伝子が高く発現されていること、また、腸管 T 細胞と XCR1 陽性樹状細胞が密に相互作用していることも観察され、XCL1 の産生源が腸管 T 細胞であることが示唆されました。さらに、XCR1 陽性樹状細胞欠失マウスにおいて、腸管 T 細胞における XCL1 遺伝子発現が低下しており、XCR1 陽性樹状細胞が、腸管 T 細胞の XCL1 遺伝子発現の維持にも必要であることもわかってきました。

このように共同研究グループは、今回の研究により、XCR1 陽性樹状細胞が、ケモカインシステム (XCR1-XCL1 相互作用) を介して、腸管 T 細胞と密接にクロストークすることにより、腸管内の免疫環境を維持し、腸炎の増悪にブレーキをかけているというメカニズム、すなわち、腸管免疫の恒常性維持のための新しいメカニズムを明らかにすることができました (図 2)。

図1 XCR1 陽性樹状細胞欠失マウスの作製

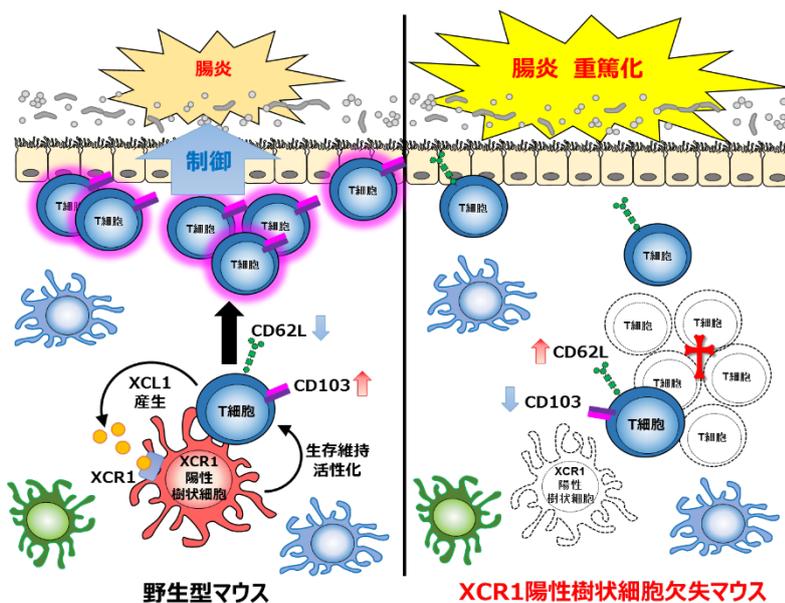
XCR1 遺伝子を発現する細胞に選択的に DTA を発現させるようにデザインした遺伝子改変マウス (XCR1 陽性樹状細胞欠失マウス) を作成した。XCR1 陽性樹状細胞は、樹状細胞の一つのサブセットであり、脾臓、リン



パ節や腸管において、CD103 陽性 CD11b 陰性の樹状細胞の大部分を占めるが、XCR1 陽性樹状細胞欠失マウスでは、この細胞集団の選択的な欠失が認められた (赤枠)。

図2 XCR1 陽性樹状細胞による腸管免疫制御機構

本研究により、XCR1 陽性樹状細胞は腸管 T 細胞の生存維持と活性化を介して、腸管内の免疫環境を維持し、腸炎の増悪にブレーキをかけていること、そして、このような XCR1 陽性樹状細胞と腸管 T 細胞のクロストークに、XCR1 と腸管 T 細胞由来の XCL1 の相互作用が重要な働きをしていることが明らかになった。



すなわち、XCR1-XCL1 相互作用を中心とした、XCR1 陽性樹状細胞と腸管 T 細胞のクロストークという新しい腸管免疫制御機構が示された。

3. 今後の期待

XCR1 陽性樹状細胞、および XCR1 や XCL1 の発現パターンは、マウスばかりでなく、ヒトにおいてもよく保存されています。したがって、今回の研究で明らかになった腸炎制御機構は、ヒトにおいても作用していると考えられます。この機構はこれまで全く想定されていなかった新しい機構であり、今後、この機構の解明、検証を進めることにより、潰

瘍性大腸炎やクローン病などの難治性腸疾患における、病態の解明や治療法の開発に向けて新たなアプローチが可能になることが期待されます。

また、本研究で作成された XCR1 陽性樹状細胞欠失マウスは、他の様々な疾患モデルに応用することが可能であり、今後のさらなる発展も期待できます。

4. 論文情報

<タイトル>

Crucial roles of XCR1-expressing dendritic cells and the XCR1-XCL1 chemokine axis in intestinal immune homeostasis

<著者名>

Tomokazu Ohta, Masanaka Sugiyama, Hiroaki Hemmi, Chihiro Yamazaki, Soichiro Okura, Izumi Sasaki, Yuri Fukuda, Takashi Orimo, Ken J. Ishii, Katsuaki Hoshino, Florent Ginhoux and Tsuneyasu Kaisho

<雑誌>

Scientific Reports

5. 補足説明

[1] 樹状細胞

樹状突起を持つ白血球で、病原体を認識して取り込み、T 細胞に様々な情報を伝える抗原提示細胞。ロックフェラー大学ラルフ・スタインマン教授により発見され、その功績に対し、2011 年ノーベル医学生理学賞が授与されている。

[2] 炎症性サイトカイン

サイトカインとは、細胞同士の情報伝達にかかわる様々な生理活性を持つタンパク質の総称である。炎症性サイトカインは、病原体の侵入などの際に産生され、生体防御に関与する多種類の細胞に働き、炎症反応を引き起こす。

[3] 細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T cell, CTL)

T 細胞のうち、CD8 陽性の T 細胞は活性化されると CTL へと分化する。CTL は、ウイルス感染細胞やがん細胞を標的として攻撃する。

[4] XCR1

細胞移動を誘導する一群のタンパク質はケモカインと総称される。XCR1 はケモカインの受容体の 1 つ。XCR1 に結合するケモカイン (リガンド) として、マウスでは XCL1、ヒトでは XCL1、XCL2 (XCL1、XCL2 は遺伝子座が隣接しており、機能、構造、発現パターンなどほとんど同じ) が同定されている。

6. 発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせ下さい

和歌山県立医科大学 先端医学研究所 生体調節機構研究部

教授 改正 恒康 (かいしょう つねやす)

大学院生 (学振特別研究員) 大田 友和 (おおた ともかず)

TEL : 073-441-0606 FAX : 073-445-5585

E-mail : tkaisho@wakayama-med.ac.jp



改正 恒康



大田 友和

<機関窓口>

和歌山県立医科大学 総務課

TEL : 073-441-0710 FAX : 073-441-0713

E-mail : waidai@wakayama-med.ac.jp