

免疫制御受容体による自己免疫疾患制御機構の解明

[1] 組織

代表者：中村 晃

(金沢医科大学)

対応者：高井 俊行

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 44万3640円

旅費 5万6360円

[2] 研究経過

[研究目的]

ヒト多発性硬化症モデルマウスにおける免疫制御受容体の機能解析

多発性硬化症 (Multiple sclerosis: MS) は、中枢神経系の慢性脱髄性疾患で、ミエリン塩基性蛋白など脳内の自己抗原に対する自己免疫反応によって生じる代表的なヒト自己免疫疾患である。好発年齢は30歳前後の若年成人であるが、小児期からも発症し、加齢に伴って高齢者においても再発・再燃することが知られている。発症原因は不明であるが、他の自己免疫疾患と同様に遺伝子背景のみならず環境要因など複数の原因が関与して発症すると考えられている。とりわけ、再発と緩解を繰り返す病態の特徴から、環境要因の一つにウイルス感染があると考えられている。これまで動物モデルとして、ミエリン塩基性蛋白を免疫して誘導する実験的自己免疫性脳脊髄炎 Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) とタイラーウイルス Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV) の慢性持続感染モデルが知られている。このうち EAE に関しては免疫学的機序が詳細に検討されているが、TMEV モデルについては不明な点が多く残されている。TMEV は抗原提示細胞である樹状細胞に感染することが判明しているが、侵入経路に関しては不明のままである。また発症には I 型インターフェロン (Interferon: IFN) の関与が指摘されているが、その産生細胞についても明らかになっていない。そこで本共同研究においては、TMEV 感染時において、IFN 産生にもっとも寄与する免疫細胞として、プラズマサイトイド樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cell: pDC) の関与があると仮定し、TMEV モデルにおける pDC の関与を追求することを目的とする。特に pDC に発現している免疫制御受容体、

PIR (Paired immunoglobulin-like receptor) や Fc 受容体 (Fc receptor: FcR) に注目し、その遺伝子欠損マウスにおいて、TMEV 感染実験を行い、脱髄病変への関与を検討する。さらにこれらの免疫制御受容体が、TMEV の標的受容体であると仮定し、TMEV との結合を分子間相互解析装置である Biacore により検討する。上記の実験を通じて TMEV モデルにおける新たな発症機序を明らかにするとともに、ヒト MS の新たな治療標的分子としての免疫制御受容体の可能性を追求することを目的とした。以下、研究活動状況の概要を記す。

[研究活動状況]

各種遺伝子欠損マウスを震災の影響もあり当初予定よりやや遅れて6、7月に搬入した。物件費には搬入費用も含まれている。さらに搬入後検疫のために行った感染症検査費も含まれている。以降、交配・維持を行い、研究に用いた。このほか物件費は主として研究に必要な抗体費用 (ELISA キットも含む) として使用した。また研究開始後約6ヶ月目となる10月19-21日にかけて加齢医学研究所にて高井教授との研究打ち合わせを行い、研究進捗状況と現在に到るその後の研究方針について確認した。その際にリコンビナント蛋白の提供を受けている。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本共同研究では分与を受けた各種遺伝子欠損マウスを交配・維持し、骨髄細胞より pDC を誘導し、TMEV 感染における生理作用について検討を行った。

1) TMEV 感染による IFN- α 産生の測定

野生型である B6 マウス骨髄より誘導した pDC において、TMEV を 24 時間感染後に培養上清中の IFN- α を測定したところ、IFN- α 産生を確認した。pDC は TMEV に感受性であることが判明した。

2) PIR-B および DAP12 欠損 pDC における TMEV 感染実験

PIR-B 欠損 pDC および DAP12 欠損 pDC においても TMEV 感染後の IFN- α を測定した使用した TMEV は野生型 TMEV と IFN 産生を阻害する L 蛋白を変異させた TMEV-L ウイルスを使用した。DAP12 欠損 pDC では IFN- α 産生は認められなかった。一方、

当初データが安定しなかったが、PIR-B 欠損 pDC では野生型 TEMV および TEMV-ウイルス感染とも IFN- α 産生は亢進していた (図 1)。TEMV 感染に対しては PIR-B は抑制的に作用していると考えられた。

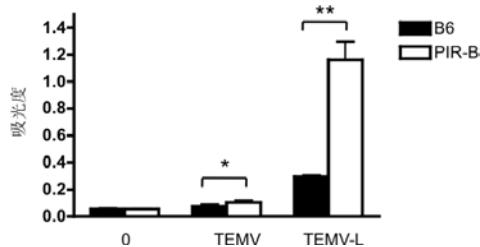


図 1 : PIR-B 欠損 pDC は TEMV 感染により IFN- α を高産生する

3) PIR-B および DAP12 会合受容体 TEMV との結合解析

PIR-B や DAP12 会合受容体が TEMV の侵入経路として利用されている可能性について検討を行っている。PIR-B 欠損および DAP12 欠損 pDC の細胞表面に結合する TEMV についてフローサイトメトリーにて検討したが、野生型 pDC と比較して明らかな差を認めなかった。提供をうけたリコンビナント PIR-B 蛋白は結合阻害のコントロールとして使用した。現時点では PIR-B および DAP12 会合受容体は TEMV とは結合しない可能性が考えられる。今後、分与をうけた遺伝子欠損マウスを用いて他の膜会合分子 (DAP10 および FcR γ 鎖) の欠損 pDC についても検討を加え、TEMV のウイルス受容体の同定を試みることを計画している。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究の進展の可能性を示すことにより、新たな競争的資金 (上原記念生命科学財団 平成 23 年度研究推進特別奨励金) の獲得につなげることができた。

[4] 成果資料

(1) Matsushita H, Endo S, Kobayashi E, Sakamoto Y, Kobayashi K, Kitaguchi K, Kuroki K, Söderhäll A, Maenaka K, Nakamura A, Strittmatter SM, Takai T: Differential but competitive binding of Nogo protein and class I major histocompatibility complex (MHCI) to the PIR-B ectodomain provides an inhibition of cells. *J. Biol. Chem.* 286: 25739-25747, 2011