

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2009

課題番号：20890027

研究課題名（和文） 自然免疫応答における抑制性レセプターMAIR-Iの役割

研究課題名（英文） The role of inhibitory receptor MAIR-I in innate immunity

研究代表者

小田 ちぐさ (ODA CHIGUSA)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・研究員

研究者番号：50510054

研究成果の概要（和文）：

本研究では免疫担当細胞である肥満細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞に発現するMAIR-Iという受容体を欠損させることによって、腹膜炎-敗血症という非常に予後が不良の感染症において肥満細胞が、ひいては肥満細胞上のMAIR-Iが重要な役割を担っていることを明らかとした。肥満細胞におけるMAIR-Iの制御機構を明らかにすることによって、未だ明らかとなっていない敗血症の病態を解明し、新たな治療への道を開く可能性がある。

研究成果の概要（英文）：

Myeloid-associated immunoglobulin-like receptor (MAIR)-I is expressed on most myeloid lineage cells and regulates the activation of these cells. Here we showed that decreased mortality in MAIR-I-deficient mice with experimental peritonitis-sepsis. Because sepsis is the systemic inflammatory syndrome induced by severe infections, remains a leading cause of death worldwide, these results suggest that MAIR-I is a novel molecular target for the treatment of sepsis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	960,000	288,000	1,248,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,860,000	558,000	2,418,000

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：炎症、敗血症、MAIR-I、抑制性レセプター、自然免疫

1. 研究開始当初の背景

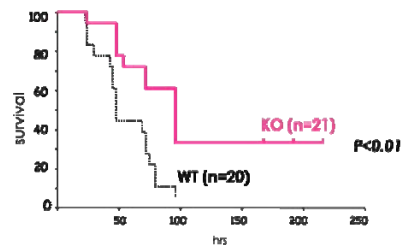
自然免疫応答の活性化制御機構の解明は、自然免疫システム全体を把握し、ひいては敗血症を含む自然免疫応答によって引き起こされる炎症性疾患を理解する上で重要である。申請者のグループは自然免疫系を担当する細胞に発現する、新たなペアレセプター分子群、MAIR (myeloid associated Ig like receptors) を同定した (Yotsumoto K, et al. J Exp Med. 2003)。MAIR 分子群はマウス染色体 11 番に位置し、MAIR-I から MAIR-IX の 9 つの遺伝子が近接して存在している。免疫グロブリン様ドメインを一つ持ち、その細胞外領域は互いに高度に保存されているが、細胞内領域により活性化と抑制性のレセプターに分けられる (Nakahashi et al, J Immunol. 2007, Nakano et al, Mol Immunol. 2008, Can et al, J Immunol. 2008)。このうち MAIR-I はマクロファージ、肥満細胞、好中球、樹状細胞に発現しており、細胞内領域の ITIM (Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) 配列を介して脱リン酸化酵素と会合し、抑制性シグナルを伝達する抑制性レセプターであること (Okoshi et al, Int Immunol. 2004) を明らかとした。

MAIR-I (CD300a)



申請者はペアレセプター分子群の自然免疫システムにおける生体内での活性化と抑制の制御を解明するために、MAIR-I 遺伝子欠損マウスを作製した。このマウスを用いて、盲腸を結紮して穿孔し、腹膜炎を起こすことにより誘導した敗血症モデルを作製したところ、野生型マウスに比較して生存率が亢進した。更に、LPS (lipopolysaccharide) の腹腔内投与によって引き起こされる敗血症においても同様に生存率が亢進することを確認した。

MAIR-I-deficient mice showed longer survival in CLP (cecum ligation and puncture) induced sepsis



2. 研究の目的

本研究では炎症における自然免疫応答の制御機構を新規抑制性レセプターMAIR-Iの機能解析を通じて明らかにすることを目的とする。具体的には本研究期間内に、(1)敗血症時の自然免疫系担当細胞の機能におけるMAIR-Iの役割の解析、(2)MAIR-Iがアポトーシス細胞を認識することによる免疫応答の解析、(3)アポトーシス細胞上に発現するMAIR-Iリガンドの同定を行う。

3. 研究の方法

(1)敗血症におけるMAIR-Iの役割の解明

- ①MAIR-I 遺伝子欠損マウス及び野生型マウスにおいて肥満細胞、好中球、マクロファージをそれぞれ欠損させたマウスを作製し、敗血症を誘導した際の生存率を観察する。
- ②敗血症時に誘導されてくる細胞集団をフローサイトメトリー法にて解析し、同時に血清中のサイトカイン、ケモカインをELISAにて測定する。
- ③LPSにて刺激培養した細胞における炎症性、抗炎症性サイトカインをELISAにて測定する。

(2)MAIR-Iのアポトーシス細胞に対する免疫応答の解明

アポトーシス細胞との共培養刺激による、

- ①MAIR-Iのチロシンリン酸化をWestern Blotting法にて解析する。
- ②炎症性、抗炎症性サイトカイン産生をELISAにて測定する。
- ③食食能をフローサイトメトリー法にて解析する。

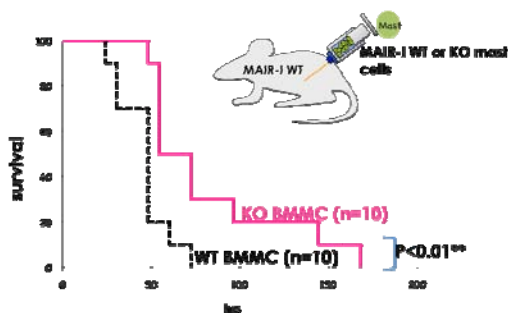
(3)アポトーシス細胞に発現するMAIR-Iリガンドの同定

- ①MAIR-IFcを用いた免疫沈降法により分子を同定する。
- ②MAIR-IFcとphosphatidylserineの特異的結合をELISA及びWestern Blotting法にて解析する。

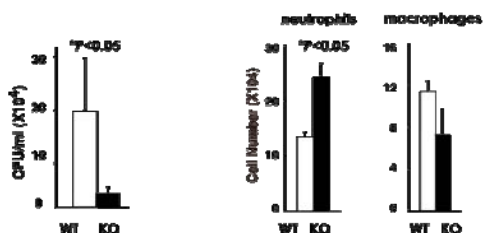
4. 研究成果

本研究では炎症における自然免疫応答の制御機構を新規抑制性レセプターMAIR-Iの機能解析を通じて明らかにすることを目的とした。既に、MAIR-Iは自然免疫系担当細胞である肥満細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞に発現し、アポトーシス細胞を認識していることを見出しており、更にMAIR-I遺伝子欠損マウスでは敗血症における生存率が亢進していることを明らかにしていた。平成20年度には、自然免疫系担当細胞であり、かつMAIR-Iが発現している細胞である、肥満細胞、好中球、マクロファージを欠損させたマウスを用いることによって、これらの細胞のうち、肥満細胞がMAIR-I遺伝子欠損マウスの敗血症における生存率の亢進に寄与していることを明らかとした。

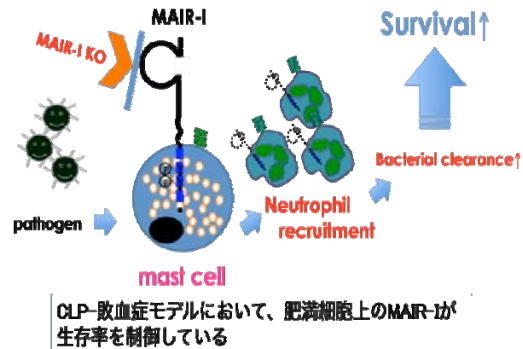
更に、MAIR-I遺伝子欠損マウスでは好中球の腹腔への浸潤が増加していることを見出され、この好中球の浸潤の増加によって細菌のクリアランスが亢進し、生存率が改善していると考えられた。



Bacterial clearance and neutrophil recruitment is enhanced after CLP in MAIR-I-deficient mice



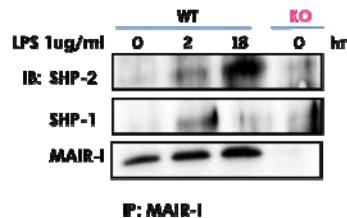
平成21年度には更に、骨髄由来肥満細胞をLPSで刺激するといったin vitroの解析を進め、肥満細胞においては、MAIR-Iを欠損していると肥満細胞が刺激を受けた際に早期にサイトカインやケモカインをより産生し、後期には沈静化している事を明らかとした。



CLP-敗血症モデルにおいて、肥満細胞上のMAIR-Iが生存率を制御している

更にそのMAIR-Iを介した刺激伝達経路には抑制性シグナルを伝達するSHP-1だけではなく、刺激時間依存性にSHP-2が会合してくる事を明らかとした。

骨髄由来肥満細胞において LPS刺激により、早期にはSHP-1が、後期にはSHP-2がMAIR-Iにrecruitされる



現在は論文としてまとめ、雑誌に投稿準備中である。本研究は肥満細胞におけるMAIR-Iの制御機構を明らかにすることによって、敗血症の病態を解明し、新たな治療への道を開く可能性があり、重要な意義があると考えられた。

しかし、アポトーシス細胞上にあると考えられたMAIR-Iのリガンド同定、及びMAIR-Iのアポトーシス細胞に対する免疫応答については未だ明らかとなっていないため、今後は引き続きこれらに対する研究を進めていく所存である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計1件)

1. 小田ちぐさ

A novel therapeutic approach for sepsis using a monoclonal antibody against MAIR-I (CD300a)

第39回日本免疫学会、2009年12月3日、大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小田 ちぐさ (ODA CHIGUSA)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・研
究員

研究者番号：50510054