

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24249021

研究課題名(和文) 免疫グロブリン様受容体の炎症性疾患における病理学的意義の解明

研究課題名(英文) Immunology

研究代表者

渋谷 彰(Akira, Shibuya)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：80216027

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,500,000円

研究成果の概要(和文)：感染性炎症、自己免疫性炎症、炎症性腸疾患、アレルギー性炎症などの炎症性疾患の免疫応答のメカニズムには不明の点が多く、その解明は炎症性難治疾患の克服に必須である。本研究では、これらの難治性疾患を縦系とし、申請者が世界に先駆けて同定し、その研究で世界を牽引してきた免疫グロブリン様受容体を横系として、炎症性疾患の病態における免疫グロブリン様受容体の役割を個別かつ包括的に解明することを目的とした。その結果、MAIR-I が肥満細胞の活性化を制御し敗血症の病態に関与すること、MAIR-II が炎症性単球の感染局所への遊走を制御し、腹膜炎の病態に関与することなどを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The mechanisms of immune responses in infectious diseases, autoimmune diseases, inflammatory bowel diseases and allergy are incompletely understood. It is essentially required for the overcome of these intractable diseases to clarify the mechanisms. The aim of this study is to clarify the role of the immunoglobulin-like receptors that we first identified in the pathogenesis of these intractable diseases. We demonstrated that MAIR-I regulates mast cell activation and is involved in the pathogenesis of sepsis in mice. We also demonstrated that MAIR-II regulates the transmigration of inflammatory monocytes into the site of infection and is involved in the peritonitis in mice.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫グロブリン様受容体 炎症 自己免疫病 発がん 感染

### 1. 研究開始当初の背景

免疫グロブリン様受容体 (Immunoglobulin-Like Receptor; IgLR) は、細胞外に免疫グロブリン様ドメインを有する I 型の細胞膜貫通型受容体の総称である。IgLR は機能的な特徴から抗原受容体、共刺激分子、接着分子、サイトカイン受容体、成長因子受容体、受容体型チロシンキナーゼなどに分類される。免疫細胞にはこれらすべてのタイプの IgLR が発現し、他の細胞に発現する細胞膜型分子あるいは可溶性分子をリガンドとして認識、結合し、細胞外環境の情報を細胞内に伝達する。抗原に対する免疫応答カスケードの大きな特徴は、多様な免疫細胞同士の直接の接触を介して、あるいはサイトカイン、成長因子などの可溶性蛋白を介して、時空間の中で互いに自在に連携するところにある。これらの IgLR の全貌を明らかにすることは、免疫応答の基盤的理解と様々な疾患病態の制御技術の開発に重要である。

IgLR は、特に免疫細胞の活性化を起点として誘導される炎症応答ネットワークにおいて、中心的な役割を担っている。我々は、IgLR の中でも特に免疫細胞の活性化を制御する分子群に焦点をあて、これらの中から、未知の分子を同定し、その生理学的、病理学的役割を解明することを通して、IgLR の炎症応答ネットワークにおける意義を明らかにすることを目指してきた。その中で申請者らは、(1)キラーリンパ球共刺激分子 DNAM-1、(2)IgM 受容体 Fc $\alpha$ / $\mu$ R、(3)骨髄球細胞活性化制御分子 MAIR-I、MAIR-II、(4)アレルギー抑制分子 Allergin-1 などの IgLR を世界に先駆けて同定した。これらは、英国 (2000 年)、オーストラリア (2004 年)、およびスペイン (2010 年) で開催されたヒト白血球抗原ワークショップで、それぞれ CD226 (DNAM-1)、CD300a (MAIR-I)、CD300d (MAIR-II)、CD351 (Fc $\alpha$ / $\mu$ R) と命名された。申請者らは、これまでそれぞれの分子の構造と機能について精力的に解

析し、この領域の研究で世界を牽引してきた。

### 2. 研究の目的

我々が同定した IgLR の重要な共通点は、炎症反応に中心的な役割を担う骨髄球系細胞での発現様式が類似し、いずれも炎症応答に複雑に関与することである。

本研究では、それぞれの分子の炎症応答における役割を、疾患モデルマウスを用いて詳細に明らかにし、炎症疾患に対する分子標的療法開発の基盤的知見を包括的に得ることを目的とする。そのために、期間内に以下の成果を得ることを到達目標とした。

- (1) すでに申請者が樹立した 5 つの IgLR の遺伝子欠損マウスを用いて、炎症性疾患モデルマウス (1. 自己免疫性炎症、2. アレルギー性炎症、3. 炎症性腸疾患、4. 感染性炎症) を作製し、これらの分子のそれぞれの疾患病態における役割を明らかにする。
- (2) 5 つの分子は多様な免疫細胞に発現することから、それぞれコンディショナル遺伝子欠損マウスを樹立し、上記炎症病態におけるこれらの分子が発現する責任細胞を同定するとともに、その免疫ネットワークにおける役割を明らかにする。
- (3) まだ不明である MAIR-II、Allergin-1 のリガンドを同定し、その発現分布を明らかにする。5 つの分子とリガンドとの結合の炎症病態における時空間的局在をイメージング等の手法を用いて明らかにし、これらの分子の炎症疾患における時空間的意義を明らかにする。
- (4) 1)-3) の成果を基盤にして、それぞれの分子の中和抗体、あるいはアゴニスト抗体を作製し、疾患モデルを用いて分子標的療法の可能性について検討する。

### 3. 研究の方法

我々がすでに樹立した 5 つの IgLR の遺伝子欠損マウスに加えて、細胞系列特異的なコ

ンディショナル遺伝子欠損マウスを樹立し、それぞれについて自己免疫性炎症、アレルギー性炎症、炎症性腸疾患、感染性炎症を誘導する。この結果から、個々の炎症病態に関与する IgLR とそれが発現する責任免疫細胞を同定する。さらにまだ不明である2つの IgLR のリガンドを同定する。炎症病態に関与する IgLR とそのリガンドとの結合の、炎症病態における病理学的意義について、細胞レベル、個体レベル、時空間レベルで明らかにする。IgLR に対する中和抗体、あるいはアゴニスティック抗体により、炎症病態の改善が見られるか、マウスモデルにより解析する。

#### 4. 研究成果

19編の論文を発表した。そのうち、主な成果について下記に述べる。

##### (1) MAIR-I のリガンドの同定とその機能の解明

敗血症は、細菌が感染した際、細菌が産生するエンドトキシンなどが全身に拡がり、多臓器不全、組織還流の低下、血圧低下、ショックなどの症状を呈する重篤な全身疾患である。米国では毎年100万人の患者が発症し、そのおよそ3割は死亡し、死因で最多の疾患となっている。これまで、肥満細胞は、感染局所で細菌をいち早く感知し、細菌を貪食する顆粒球を血管内から感染局所に動員し、敗血症への進展を抑制する働きをもつことが知られていた。本研究では、細胞膜上に発現する分子である MAIR-I が肥満細胞の顆粒球を動員する働きをむしろ抑制し、敗血症の進展に寄与していることを明らかにした。一方で、MAIR-I に対する特異的な中和抗体や、特異的に結合するタンパクにより MAIR-I の働きを抑えると、敗血症への進展が抑制され、死亡率を著明に低下することを見いだした (Nakahashi-Oda C, et al. *J Exp Med* 2012)。これらは新たな敗血症治療薬につながるものとして期待される。

##### (2) MAIR-II の炎症疾患における機能の解明

細菌、ウイルス、寄生虫などの病原体が人体に侵入し感染すると、血液中を流れている炎症性単球と呼ばれる免疫細胞が血管壁を通過し、感染局所に集積する。炎症性単球は、そこで病原体を貪食するなどして感染から体を守る重要な働きをしている。しかし、炎症性単球がどのようなメカニズムで感染局所に集積するかについては長い間、未解明のままだった。

我々は、感染した細菌から放出される菌体成分を感知した炎症性単球が、トル様受容体 (TLR4) とメア2 (MAIR-II) と呼ばれる炎症性単球の細胞膜上に存在する分子を介して、炎症局所の血管の内壁に強固に接着し、感染局所に集積することを発見した。また、TLR4 や MAIR-II を欠損させたマウスで、細菌の感染が進展しショックで死亡する敗血症を誘導すると、野生型マウスと比較し、およそ9倍も高い確率で死亡することを見いだした。これらの結果は、これまで不明であった病原体の感染を免疫細胞がコントロールするメカニズムの一端を世界で初めて明らかにしたものである (Totsuka et al, *Nature Communication* 2014)。

この研究成果に基づいて、今後、炎症性単球をより強力に働かせる技術が確立されれば、敗血症などを含む種々の重篤な感染症に対する新しい予防法や治療法の開発につながりうる。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計19件)

1. Takeshima K, Sato K, Nabekura T, Nagamune K, Hamada H, Yoshikawa H, Shibuya A, Shibuya K. Increased CD11b+ Gr-1+ cell population in the placenta after infection with *Toxoplasma gondii*. *Microbiol. immunol*, 59:95-98, 2015 査読有 (DOI: 10.1111/1348-0421.12225)
2. Kurita N, Honda S, Shibuya A. Increased serum IgA in Fc $\alpha$ / $\mu$ R-deficient mice on the

- (129 x C57BL/6) F1 genetic background. *Mol Immunol*, 63:367-372, 2015 査読有 (DOI: 10.1016/j.molimm.2014.09.008)
3. Nagumo Y, Iguchi-Manaka A, [Shibuya A](#), Shibuya K. Increased CD112 expression in methylcholanthrene-induced tumors in CD155-deficient mice. *PLoS ONE*, 9(11), 2014 査読有 (DOI: 10.1371/journal.pone.0112415)
  4. Nanatsue K, Ninomiya T, Tsuchiya M, Tahara-Hanaoka S, [Shibuya A](#), Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Arinami T, Noguchi E. Influence of MILR1 promoter polymorphism on expression levels and the phenotype of atopy. *J Hum Genet*, 59(9):480-483, 2014 査読有 (DOI: 10.1038/jhg.2014.57)
  5. Sabato V, Boita M, Shubber S, Bridts CH, [Shibuya A](#), De Clerck LS, Falcone FH, Ebo DG. Mechanism of phosphatidylserine inhibition of IgE/FcεRI-dependent anaphylactic human basophil degranulation via CD300a. *J Allergy Clin Immunol*, 134(3):734-737, 2014 査読有 (DOI: 10.1016/j.jaci.2014.03.029)
  6. Totsuka N, Kim YG, Tahara-Hanaoka S, Nakahasi-Oda C, Honda S, Shibuya K, [Shibuya A](#). Toll-like receptor 4 and MAIR-II/CLM-4/LMIR2 immunoreceptor regulate VLA-4-mediated inflammatory monocyte migration. *Nature Communications*, 5:4710, 2014 査読有 (DOI: 10.1038/ncomms5710)
  7. Tanaka T, Tahara-Hanaoka S, Nabekura T, Ikeda K, Jiang S, Tsutsumi S, Inagaki T, Magoori K, Higurashi T, Takahashi H, Tachibana K, Tsurutani Y, Raza S, Anai M, Minami T, Wada Y, Yokote K, Doi T, Hamakubo T, Johan A, Frank J G, Nakajima A, Aburatani H, Naito M, [Shibuya A](#), Kodama T, Sakai J. PPARβ/δ activation of CD300a controls intestinal immunity. *Scientific Reports*, 4:5412, 2014 査読有 (DOI: 10.1038/srep05412)
  8. Satake K, Shimizu Y, Sasaki Y, Yanagawa H, Suzuki H, Suzuki Y, Horikoshi S, Honda S, Shibuya K, [Shibuya A](#), Tomino Y. Serum under-O-glycosylated IgA1 level is not correlated with glomerular IgA deposition based upon heterogeneity in the composition of immune complexes in IgA nephropathy. *BMC Nephrology*, 15:89, 2014 査読有 (DOI: 10.1186/1471-2369-15-89)
  9. Nabekura T, Kanaya M, [Shibuya A](#), Fu G, Gascoigne NR, Lanier LL. Costimulatory molecule DNAM-1 is essential for optimal differentiation of memory natural killer cells during mouse cytomegalovirus infection. *Immunity*, 40(2):225–234, 2014 査読有 (DOI: 10.1016/j.immuni.2013.12.011)
  10. Georgiev H, Danisch S, Chambers BJ, [Shibuya A](#), Förster R, Bernhardt G. TIGIT versus CD226: Hegemony or coexistence? *Eur J Immunol*, 44:307-308, 2014 査読有 (DOI: 10.1002/eji.201343925)
  11. Kim YG, Udayanga K G S, Totsuka N, Weinberg J B, Núñez G, [Shibuya A](#). Gut dysbiosis promotes M2 macrophage polarization and allergic airway inflammation via fungi-induced PGE<sub>2</sub>. *Cell Host & Microbe*, 15(1):95–102, 2014 査読有 (DOI: 10.1016/j.chom.2013.12.010)
  12. Yoshizawa Y, Honda S, [Shibuya A](#). Involvement of Fcα/μR (CD351) in autoantibody production. *Mol Immunol*, 57(2):216-219, 2013 査読有 (DOI: 10.1016/j.molimm.2013.10.002)
  13. Nagai K, Tahara-Hanaoka S, Morishima Y, Tokunaga T, Imoto Y, Noguchi E, Kanemaru K, Imai M, Shibayama S, Hizawa N, Fujieda S, Yamagata K, [Shibuya A](#). Expression and Function of Allergin-1 on Human Primary Mast Cells. *Plos One*, e76160, 2013 査読有 (DOI: 10.1371/journal.pone.0076160)
  14. Takagaki K, Satoh K, Honda S, [Shibuya A](#). Molecular characterization of the dimer formation of Fcα/μ receptor (CD351). *Mol Immunol*, 56(1-2):23-27, 2013 査読有 (DOI: 10.1016/j.molimm.2013.04.003)
  15. Arai S, Maehara N, Iwamura Y, Honda S, Nakashima K, Kai T, Ogishi M, Morita K, Kurokawa J, Mori M, Motoi Y, Miyake K, Matsushashi N, Yamamura K, Ohara O,

- Shibuya A, Wakeland E K, Li Q-Z, Miyazaki T. Obesity-associated autoantibody production requires AIM to retain the immunoglobulin M immune complex on follicular dendritic cells. *Cell Reports*, 1187-1198, 2013 査読有 (DOI:10.1016/j.celrep.2013.03.006)
16. Yamashita Y, Abe F, Hirochika R, Tahara-Hanaoka S, Shibuya A, Shibuya K. Establishment and characterization of a novel anti-DNAM-1 monoclonal antibody. *Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy*, 32(1):60-64, 2013 査読有 (DOI:10.1089/mab.2012.0083)
17. Danisch S, Qiu Q, Seth S, Ravens I, Dorsch M, Shibuya A, Shibuya K, Förster R, Bernhardt G. CD226 interaction with CD155 impacts on retention and negative selection of CD8 positive thymocytes as well as T cell differentiation to follicular helper cells in Peyer's Patches. *Immunobiology*, 218(2):152-158, 2013 査読有 (DOI: 10.1016/j.imbio.2012.02.010)
18. Yoh K, Morito N, Ojima M, Shibuya K, Yamashita Y, Morishima Y, Ishii Y, Kusakabe M, Nishikii H, Fujita A, Matsunaga E, Okamura M, Hamada M, Suto A, Nakajima H, Shibuya A, Yamagata K, Takahashi S. Overexpression of ROR $\gamma$ t under control of the CD2 promoter induces polyclonal plasmacytosis and autoantibody production in transgenic mice. *Eur J Immunol*, 42(8):1999-2009, 2012 査読有 (DOI: 10.1002/eji.201142250)
19. Nakahashi-Oda C, Tahara-Hanaoka S, Shoji M, Okoshi Y, Nakano-Yokomizo T, Ohkohchi N, Yasui T, Kikutani H, Honda S, Shibuya K, Nagata S, Shibuya A. Apoptotic cells suppress mast cell inflammatory responses via the CD300a immunoreceptor. *J Exp Med*, 209(8):1493-1503, 2012 査読有 (DOI:10.1084/jem.20120096)

[その他]

ホームページ等

<http://immuno-tsukuba.com/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

渋谷 彰 (SHIBUYA, AKIRA)  
筑波大学・医学医療系・教授  
研究者番号：80216027