

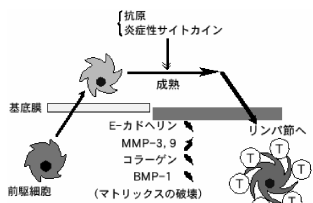
マウス系統間における皮膚炎症応答の違いとアレルギー獲得性の相関

●高原 和彦 ◆稲葉 カヨ

京都大学大学院生命科学研究科

＜研究の目的と進め方＞

生体は常に多数の抗原に接触しており、それに対する応答がアレルギー発症に長期的な影響を与えるものと予想される。生体で最も外来抗原と接触する機会が多い皮膚・粘膜には強力な抗原提示細胞である樹状細胞(DC)の一種ランゲルハンス細胞(LC)が存在し、マトリックス(ECM)の破壊を伴う炎症応答時には、成熟しつつリンパ節に至り免疫応答を惹起する(図)。生体内では、DCが発現する共刺激因子の強度・種類によってエフェクター細胞の応答が変化し、さらにこの共刺激因子の発現パターンは抗原の性質とDCの周囲の炎症環境に左右されると考えられる。そこで、炎症部位におけるマトリックス蛋白及びサイトカインの発現、ならびにLCの数的な変化を検討する共に、生体内でのLCの挙動を掴むためにLC特異的レクチンであるランゲリン他のクローニングを行った。



＜研究開始時の研究計画＞

炎症領域におけるECM及びLC関連遺伝子の変化とLCの動態をマウス系統間で比較する。その為に、LC特異マーカーであるランゲリンをクローニングする。次に、クローニングしたマウスランゲリン遺伝子を基に抗血清又は単クローナル抗体を作製する。この抗体を用いて、炎症領域におけるECMの変化及びLCの動態を組織学的に詳しく検討し、マウス系統間での差異を検討する。炎症7日目頃に予想される新たなLCの出現は血球系前駆細胞の標識と抗ランゲリン抗体を用いて解析する。また、マウスより同抗体を用いて高純度にランゲルハンス細胞を精製し、各種系統間でその性状を比較する。

＜研究期間の成果＞

1.皮膚LCの動態(図参照)を正常マウス用いて検討した結果、炎症応答時には、予想されたLC数の減少の後、炎症後期のマトリックスの再構築と同時期(約5日後)に新たなLCが供給された。また、LCの分化に必須であるTGF- β の活性化と基底膜成分ラミニン5のプロセッシングを担う(5)と考えられるBMP-1の発現も同時期に確認された。2.ヒトLCマーカーであるランゲリンのマウスのホモログをクローニングし、マウスならびにラットにおける遺伝子座を決定した(2)。ランゲリンmRNAは皮膚のみならず、体表リンパ節、脾臓等でも検出され、細胞内ランゲリンを認識する特異抗体を用いた解析から、CD8陽性LC/DCに発現していることが示された。また、骨髄由来樹状細胞を用いた検討において、ランゲリンmRNAは未熟樹状細胞にのみ発現され、成熟活性化に伴い減少することが明らかになった。3.アトピー傾向を示すNC/Ngaマウスにおける感作原塗布前後のLCの分布・移動と性状から、表皮LC数が減少しており、正常マウスに比べて成熟度が高いことが示唆された(未発表)。4.ランゲリンと同型

のレクチンmDC-SIGN, SIGNR1⁺4(3)およびDCIR(1)を同定し、前者の一群が真皮DCに発現することを示した。

＜国内外での成果の位置づけ＞

我々の研究からBMP-1が多数のECM関連蛋白質の成熟に関与することが明らかになり、後続の研究も含めそれがECM再構築の中心的な役割を成すことが明らかとなった。また、マウスランゲリンのレクチンとしての機能解析が大きく前進した。

＜達成できなかったこと、予想外の困難、その理由＞

当初、ランゲルハンス細胞特異的であると考えられていたランゲリンが、マウスにおいて表皮ランゲルハンス細胞特異的でなく広くCD8陽性DCに発現していること、およびランゲリン細胞外領域を認識する抗体が利用できなかったことから、高純度な真皮由来ランゲルハンス細胞の調製ができずマウス系統間での比較ができなかった。

＜今後の課題＞

前述したように、ランゲリン細胞外領域を認識する抗体の作製し、各種系統間で精製ランゲルハンス細胞の詳細な性質比較を可能にすること。

＜研究期間の全成果公表リスト＞

- ①発表論文
 - 1) 0602071148 Kanazawa, N., Okazaki, T., Nishimura, H., Tashiro, K., Inaba, K., and Miyachi, Y. DCIR acts as an inhibitory receptor depending on its immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif. *J. Invest. Dermatol.*, 118 (2), 261-266 (2002).
 - 2) 0602071152 Takahara, K., Omatsu, Y., Yashima, Y., Yasuhiro, M., Tanaka, S., Iyoda, T., Clausen, B., Matsubara, K., Letterio, J., Steinman, R. M., Matsuda, Y. and Inaba, K. Identification and expression of mouse Langerin (CD207) in dendritic cells. *Int. Immunol.* 14 (5), 433-444 (2002).
 - 3) 0602071155 *Park, C. G., *Takahara, K., Umamoto, E., Yashima, Y., Matsubara, K., Matsuda, Y., Clausen, B. E., Inaba, K. and Steinman, R. M. Five mouse homologues of the human dendritic cell C-type lectin, DC-SIGN. *Int. Immunol.* 13 (10), 1283-1290 (2001). (* equal contribution).
 - 4) 0602071158 Mott, J. D., Thomas, C. L., Rosenbach, M. T., Takahara, K., Greenspan, D. S. and Banda, M. J. Post-translational proteolytic processing of procollagen C-terminal proteinase enhancer release a metalloproteinase inhibitor. *J. Biol. Chem.* 275, 1384-1390 (2000).
 - 5) 0602071202 Amano, S., Scott, I. C., Takahara, K., Koch, M., Gerecke, D. R., Keene, D. R., Hudson, D. L., Nishiyama, T., Lee, S., Greenspan, D. S. and Burgeson R. E. Bone morphogenetic protein 1 (BMP-1) is an extracellular processing enzyme of the laminin 5 α 2 chain. *J. Biol. Chem.* 275, 22728-22735 (2000).