

An ITAM-Syk-CARD9 signalling axis triggers contact hypersensitivity by stimulating IL-1 production in dendritic cells

安川, 晋輔

<https://hdl.handle.net/2324/1500575>

出版情報：九州大学, 2014, 博士（医学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）



氏 名： 安川 晋輔

論 文 名： An ITAM-Syk-CARD9 signalling axis triggers contact hypersensitivity
by stimulating IL-1 production in dendritic cells
(接触皮膚炎では樹状細胞における ITAM-Syk-CARD9
シグナル伝達経路が IL-1 産生に重要な役割を持つ)

区 分： 甲

論 文 内 容 の 要 旨

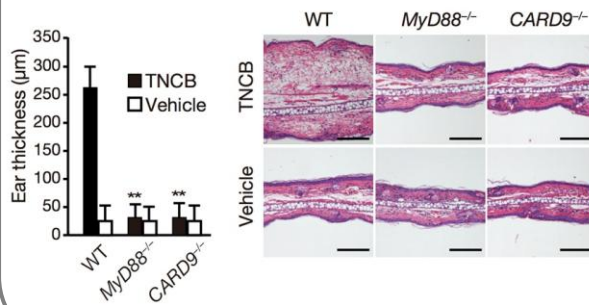
アレルギー性接触皮膚炎(ACD)は、金属や低分子化合物(ハプテン)などの接触アレルゲンに感作された T 細胞によって引き起こされる遅延型過敏反応である。獲得免疫の成立には抗原提示に関わる樹状細胞(DC)等の自然免疫の活性化が不可欠であるが、多様な化学物質がどのようにして自然免疫を活性化させるかに関しては謎の部分が多かった。

我々は、ACD 感作に関わる自然免疫活性化経路を明らかにするため、TLR のシグナル伝達モチーフである MyD88 の欠損マウスと ITAM 関連受容体のシグナル伝達モチーフである CARD9 の欠損マウスを用いて ACD の動物実験モデルである Contact hypersensitivity (CHS)を行った。その結果、いずれの欠損マウスも顕著に CHS 応答が減弱した(図 1)。これらの欠損マウス由来の *in vitro* でのハプテン刺激 DC (TNP-DC) の接種による CHS 感作試験を行った結果、CARD9 欠損 DC は CHS 誘導能が著しく抑制されていたが、MyD88 欠損はそれに影響を与えなかった。また、MyD88 は IL-1R1 シグナルを伝達することが知られているが、IL-1R1 や MyD88 欠損マウス由来の T 細胞は、*in vitro* 共培養系においても、*in vivo* の CHS 誘導試験においても、エフェクター T 細胞への分化が著しく抑制されることが判った。このことから、CARD9 シグナルは接触アレルゲンによる DC の活性化に重要であり、一方、IL-1-IL-1R1 を介した MyD88 シグナルはナイーブ T 細胞をプライミングする補助シグナルとして働くことが明らかとなった。この結果は、CHS 感作相において DC から分泌される IL-1 の重要性を示唆していた。

In vitro において DC を接触アレルゲンで刺激すると、IL-1 α と IL-1 β の両方の分泌が誘導される。我々は、この分泌が NLRP3 インフラゾーム、CARD9、DAP12、Syk シグナルに依存することを見いだした。一方、MyD88 欠損は接触アレルゲンによる IL-1 産生に影響しないことも判った。さらに、骨髓キメラと Treck 法を組み合わせる方法で DC 特異的に NLRP3、CARD9、DAP12、MyD88 を欠損したマウスを作製し、これらのマウスで CHS 試験を行った所、*in vitro* での IL-1 分泌能に一致して、NLRP3、CARD9、DAP12 の DC 特異的欠損マウスは接触アレルゲンによる T 細胞感作が顕著に障害され、CHS 反応が著しく減弱した(図 2)。一方、DC 特異的 MyD88 欠損は CHS 反応に影響を与えなかった。また、CARD9 や DAP12 を欠損する DC は、接触アレルゲン刺激後の TNF、IL-6、IL-12 産生も著しく低下することも判った。従って、ITAM-CARD9 経路が接触アレルゲンによる自然免疫活性化に必須であることが明らかとなった。

接触アレルゲンによって IL-1 が分泌されるメカニズムを探った結果、接触アレルゲン刺激は ITAM シグナル依存的な Syk のリン酸化 (=活性化) を誘導し、これによって Syk 依存的な ROS の産生と、ROS およびポタシウム流出依存的な NLRP3 インフラマゾームの活性化を誘導することが判った。一方で、CARD9 や BCL10 を欠損した DC では、アレルゲン刺激による ROS 産生やインフラマゾームの活性化は正常に誘導されたが、NF- κ B 活性化を介した pro-IL-1 α および pro-IL-1 β の産生誘導が選択的に阻害されることが判った。従って、接触アレルゲンによる Syk の活性化により、CARD9/BCL10-NF- κ B 経路を介した Pro-IL-1 の誘導(シグナル1)と、ROS-NLRP3 インフラマゾーム経路を介した caspase-1 の活性化(シグナル2)の両方が生じ、これによりエフェクターT 細胞分化に必須な IL-1 が DC から分泌されることが明らかとなった(図3)。

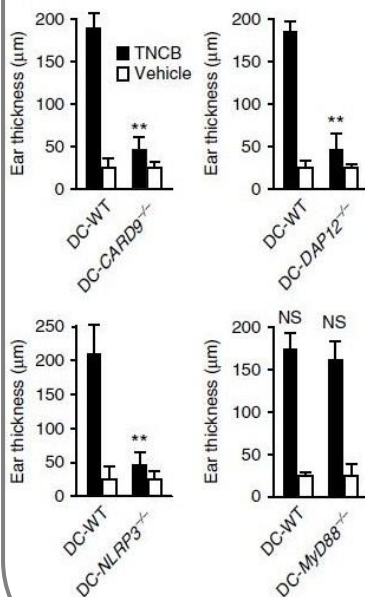
図 1



CHS 試験。ハプテン(TNCB)に感作したマウスの耳にハプテンを再塗布した場合、24 時間後に回目の腫脹が CARD9 や MyD88 欠損マウスでは減少する。

** P>0.01

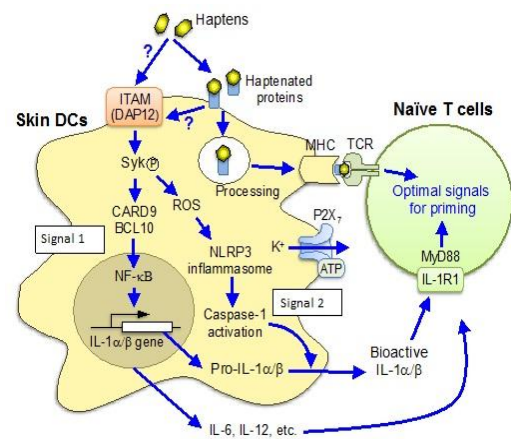
図 2



DC 特異的な KO マウスを使用した CHS
CARD9、NLRP3、DAP12 を DC 特異的に欠損するマウスは CHS 反応が減弱するが、DC での MyD88 欠損は影響がない。

** P>0.01

図 3



ITAM-Syk-CARD9 経路によって制御される接触アレルゲンによる IL-1 産生と T 細胞のプライミング機構