

## [0027]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2012

<https://doi.org/10.15017/26861>

---

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 27, 2013. 九州大学生体防御医学研究所  
バージョン :  
権利関係 :

感 染 ネットワーク 研 究 セ ン タ ー  
Research Center for Infectious Diseases

## 感染制御学分野

### Division of Host Defense

教 授：吉開 泰信

Professor : Yasunobu Yoshikai, M.D., Ph.D.

生体防御機構とは、外から侵入する微生物やアレルゲンなどの異物や死細胞などの自己老廃物や腫瘍細胞を処理し、個体の独立性、恒常性を維持する仕組みをいう。微生物の侵入に際して、あらかじめ備わった自然免疫とリンパ球の免疫応答によって獲得される獲得免疫でこの侵入者を撃退する。自然免疫を担う細胞性因子の代表として、好中球やマクロファージなどの食細胞が挙げられる。これらの細胞は、細菌由来のくり返しパターン、病原体関連分子パターン pathogen-associated molecular pattern (PAMP) を認識するパターン認識受容体 Pattern recognition receptor (PRR) で、迅速に貪食、排除を行う。自然免疫リンパ球 (innate lymphocytes) と呼ばれるナチュラルキラー (natural killer ; NK) 細胞、 $\gamma$   $\delta$  型 T 細胞や NK マーカーをもった NK T 細胞は細菌の感染細胞の発現する微生物由来または自己細胞由来の成分を認識して活性化され、感染細胞を傷害する一方で、サイトカインを産生して獲得免疫を方向づける自然免疫と獲得免疫との橋渡しの役割を担う。獲得免疫を担う T 細胞および B 細胞は細菌由来の抗原で活性化され、直接的に細胞傷害活性で感染細胞を排除し、サイトカインや抗体を産生して自然免疫と共同で、効率よく微生物の排除を行う。微生物が完全に排除され、戦いが終了するとほとんどの活性化リンパ球はアポトーシスで細胞死を起し、免疫反応が終息する。一部のリンパ球は記憶細胞となり、再感染時には迅速に応答して感染防御を行う。結核などの慢性感染症では抗原刺激が持続して獲得免疫が疲弊 exhausted に陥る。これは過剰な免疫応答で正常組織の傷害を防ぐためと考えられる。当研究分野では病原微生物などの異物から宿主を防御する生体防御機構を解明し、その分子基盤に基づいて生体防御機構を再構築することによって、難治性疾患（感染症, 癌, 自己免疫アレルギー病）の先端的治療法の開発をめざしている。

人事面では平成 24 年 4 月から、大学院医学系学府医学科修士課程 (MC) の畑野晋也が教室に参加した。平成 24 年 9 月から産休で休職していた小山田亜希子特任助教が復職し、ハンドイン研究補助者措置制度 (Hand in Hand) で研究補助員大野美和が参加した。平成 24 年 10 月から非常勤研究員の中村梨沙が長崎大学医学部感染分子解析学教室の特任助教として赴任した。平成 25 年 3 月 DC4 年藤村謙二郎 (整形外科)、有森陽二郎 (呼吸器内科) が博士課程を修了した。また免疫機構センター助教の遜孫 (中国医科大学免疫学教授赴任予定) が退職し、代わりに黄銀霞が採用された。

### A. $\gamma$ $\delta$ 型 T 細胞の分化と機能

CD30 ligand (CD30L) とそのレセプターである CD30 は、それぞれ TNF スーパーファミリー、TNFR スーパーファミリーに属しており、ともに活性化 T 細胞に発現することが知られている。本研究

ではCD30L/CD30 遺伝子欠損マウスを用いて、CD30L/CD30 シグナルが自然免疫 IL-17 産生  $\gamma\delta$  T 細胞の胎生期胸腺での機能分化には関与しないが、末梢組織（腹腔、腸管、子宮、肺肝臓）での維持と *Listeria monocytogenes*（リステリア）および *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin (BCG) の感染早期での IL-17 産生  $\gamma\delta$  T 細胞の活性化において重要な役割を担うことを明らかにした。

免疫していなくともでもあらかじめ記憶細胞の特徴を有するリンパ球が生体内に存在し、免疫応答に重要な役割を担っていることが明らかになりつつある。これらのリンパ球は自然免疫リンパ球 (innate lymphocytes) とよばれ、 $\gamma\delta$  型 T 細胞、NK T 細胞、上皮間 CD8  $\alpha\alpha$  T リンパ球および MHC クラス Ib 拘束性 CD8 T 細胞がこれらに相当すると考えられる。①メモリー型の形質発現する。②自己抗原をクロスして認識する。③胸腺で独自に分化してネガティブセレクションをうけない。④Toll-like receptor などパターン認識レセプターを発現している。など特徴があげられる。我々は自然免疫  $\gamma\delta$  T 細胞が胎生期胸腺で IL-17 産生細胞に分化しており 1)、感染早期に IL-17 を産生し、好中球浸潤を誘導することで感染初期防御に関与していることを明らかにしている 2)。我々が見いだしたこの IL-17 産生  $\gamma\delta$  型 T 細胞は、この「自然免疫リンパ球」の代表に相当すると考えられる。一方、CD30 ligand (CD30L) とそのレセプターである CD30 は、それぞれ TNF スーパーファミリー、TNFR スーパーファミリーに属しており、ともに活性化 T 細胞に発現することが知られている。我々は CD30L/CD30 を介したシグナルは、Th17 細胞の機能分化に重要であることを明らかにしてきた。本研究では CD30L/CD30 遺伝子欠損マウスを用いて、自然免疫 IL-17 産生  $\gamma\delta$  T 細胞の胎生期胸腺での機能分化、末梢組織での維持機構、さらに感染防御機構における CD30L/CD30 シグナルの役割について検討を行った。

#### 1) 胸腺での $\gamma\delta$ 型 T 細胞の分化における CD30L/CD30 の役割

CD30L または CD30 遺伝子欠損 (KO) マウスの胎生期 1 9 日胸腺と生後 6 週の胸腺の  $\gamma\delta$  型 T 細胞数は野生型マウスとかわらなかった。V $\gamma$ 1, V $\gamma$ 4, V $\gamma$ 5 および V $\gamma$ 1 $\gamma$ 4 $\delta$  の  $\gamma\delta$  型 T 細胞数に変化を認めず、また PMA/ION 刺激後の IL-17A 産生  $\gamma\delta$  型 T 細胞数、IFN- $\gamma$  産生  $\gamma\delta$  型 T 細胞数にも変化は認められなかった。CD30L/CD30 シグナルは胸腺での  $\gamma\delta$  T 細胞の分化に関与しないと考えられた。

#### 2) 末梢組織での $\gamma\delta$ 型 T 細胞の維持における CD30L/CD30 の役割

CD30L/CD30 シグナルの IL-17 産生  $\gamma\delta$  T 細胞の末梢組織における役割を明らかにするため、CD30L または CD30 KO マウスの腸管粘膜固有層 (LPL)、子宮粘膜、腹腔、肝臓、肺、リンパ節、および脾臓での  $\gamma\delta$  型 T 細胞とその V レパートアーをフローサイトメーターおよび RT-PCR で調べた。その結果、どの臓器でも  $\gamma\delta$  型 T 細胞数は WT マウスとかわらなかった。一方、CD30L または CD30 KO マウスの V レパートアー検索では V $\gamma$ 1V $\gamma$ 4 $\gamma$   $\delta$  型 T 細胞数が有意に低下しており、逆に V $\gamma$ 1 $\gamma$ 4 $\delta$  T 細胞と V $\gamma$ 4 $\delta$  T 細胞は増加していた。とくに V $\gamma$ 1V $\gamma$ 4 $\gamma$   $\delta$  型 T 細胞が大部分をしめる腹腔内と LPL でその傾向が顕著であった。RT-PCR の解析では V $\gamma$ 1V $\gamma$ 4 $\gamma$   $\delta$  型 T 細胞は V $\gamma$ 6 と V $\delta$  1 遺伝子を発現しており、CD30L または CD30 KO マウスで V $\gamma$ 6 と V $\delta$  1 mRNA が消失していた。細

胞内サイトカイン解析ではPMA/ION刺激なしでも腹腔内とLPLにおいてIL-17A産生 $V\gamma 1V\gamma 4^- \gamma \delta$ 型T細胞が認められたがCD30LまたはCD30 KOマウスで有意に減少した。一方、IFN- $\gamma$ 産生 $\gamma \delta$ T細胞の割合は変わらなかった。CD30Lの発現は $V\gamma 1V\gamma 4^- \gamma \delta$ 型T細胞にみられた。

### 3) 感染症での $\gamma \delta$ 型T細胞CD30L/CD30シグナルの役割

CD30L KOマウスにリステリアまたはBCGを腹腔内接種したところ、CD30LKOマウスでは感染後早期（リステリアでは3日目、BCGでは7日目）の腹腔内での菌排除能が有意に低下していた。CD30L欠損マウスでは、感染早期の腹腔内のIL-17の低下が見られ、IL-17産生 $V\gamma 1V\gamma 6^- \gamma \delta$ 型T細胞が有意に減少していた。抗CD30アゴニスト抗体投与によりCD30L欠損マウスの感染早期で低下していた菌排除能が回復した。一方で、野生型マウスに可溶性CD30-免疫グロブリン融合蛋白（CD30-Ig）を投与してCD30L/CD30シグナルを阻害すると感染早期の菌排除能が低下した。

本研究により、CD30/CD30Lを介したシグナルは、自然免疫IL-17産生 $\gamma \delta$ 型T細胞、とくに $V\gamma 6^+$ T細胞の末梢組織での維持と細菌感染早期に自然免疫反応の一部として働くIL-17産生 $\gamma \delta$ 型T細胞の活性化に重要な働きをすることが明らかとなった。今後、CD30/CD30シグナルがなぜ $V\gamma 6^+$ T細胞に選択的に働くのか、またIL-17産生 $\gamma \delta$ 型T細胞の胸腺分化に必要なNOTCH/HES/IL-7RとCD30L/CD30シグナルの関与について検討する予定である。

## B. 制御性CD8T細胞の解析

メモリーT細胞のマーカーを発現するCD8T細胞は、ナイーブマウスにも存在するが、その起源はヘテロな細胞集団と考えられている。最近、メモリー型CD8T細胞の中でも、Programmed death-1 (PD-1)が陽性な細胞には、免疫制御活性があることが示された。しかし、その起源や他の制御性T細胞サブセットとの関係については明らかではなかったため、これらの詳細な表現型および機能解析を行なった。表面分子の発現パターンをみると、慢性ウイルス感染などで誘導される疲弊した(exhausted)CD8T細胞に似ていたが、PD-1陽性メモリー型CD8T細胞は新生時期から、それも胸腺でも認められたことから、自然発生するものと思われた。 $\beta 2$ ミクログロブリン欠損マウスをレシピエントに用いた骨髄キメラマウスの解析から、PD-1陽性メモリー型CD8T細胞は、骨髄由来細胞によって正の選択を受けることが明らかになった。すなわち非通常型T細胞に属することが分かったが、IL-15には非依存性である点ではそれらと異なっていた。PD-1陽性メモリー型CD8T細胞は細胞回転が早かったが、これと一致してシクロフォスファミド感受性が高いことが分かった。シクロフォスファミド投与により遅延型過敏症反応が増強されるが、この反応はPD-1陽性メモリー型CD8T細胞によって抑制された。以上の結果から、ナイーブマウスに自然発生するPD-1陽性メモリー型CD8T細胞は、ユニークな非通常型CD8T細胞サブセットで、古くから知られているシクロフォスファミド高感受性サプレッサーCD8T細胞に相当するものと考えられた。

## 業績目録

### 原著論文

1. Kumamaru, H., Saiwai, H., Ohkawa, Y., Yamada, H., Iwamoto, Y., Okada, S. 2012  
Age-related differences in cellular and molecular profiles of inflammatory responses after pinal cord injury.  
J Cell Physiol. 227, 1335-46
2. Takeuchi, A., Etoh, M., Kamiryu, Y., Yamada, H., Shibata, K., Naito, S., and Yoshikai, Y. 2012  
A reduction of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells by cyclophosphamide contributes to an anti-tumor effect of nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation in mice.  
Int. J. Cancer. 130, 365-76
3. Tsushima, H., Okazaki, K., Takayama, Y., Hatakenaka, M., Honda, H., Izawa, T., Nakashima, Y., Yamada, H., Iwamoto, Y. 2012  
Evaluation of cartilage degradation in arthritis using T1ρ magnetic resonance imaging mapping.  
Rheumatol. Int. 32:2867-75.
4. Somada, S., Muta, H., Nakamura, K., Sun, X., Honda, K., Ihara, E., Akiho, H., Takayanagi, R., Yoshikai, Y., Podack, E.R., Tani, K. 2012  
CD30L/CD30 interaction is involved in pathogenesis of inflammatory bowel disease.  
Dig. Dis. Sci. 57:2031-7
5. Arimori, Y., Nakamura, R., Hirose, Y., Murosaki, S., Yamamoto, Y., Shidara, O., Ichikawa, H., Yoshikai, Y. 2012  
Daily intake of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 enhances type I interferon production in healthy humans and pigs.  
Immunophar. Immunotoxi. 34:937-43.
6. Kumamaru, H., Ohkawa, Y., Saiwai, H., Yamada, H., Kubota, K., Kobayakawa, K., Akashi, K., Okano, H., Iwamoto, Y., Okada, S. 2012  
Direct isolation and RNA-seq reveal environment-dependent properties of engrafted neural stem/progenitor cells.  
Nat. Commun. 16:3:1140.
7. Sakuraba, K., Shibata, K., Iwamoto, Y., Yoshikai, Y., Yamada, H. 2013  
Naturally occurring PD-1+ memory phenotype CD8 T cells belong to nonconventional CD8 T cells and are cyclophosphamide-sensitive regulatory T cells.  
J. Immunol. 90: 1560-6.
8. Saiwai, H., Kumamaru, H., Ohkawa, Y., Kubota, K., Kobayakawa, K., Yamada, H., Yokomizo, T., Iwamoto, Y., Okada, S. 2013  
Ly6C(+) Ly6G(-) Myeloid-derived suppressor cells play a critical role in the resolution of acute inflammation and the subsequent tissue repair process after spinal cord injury.  
J. Neurochem. in press
9. Sun, X., Shibata, K., Yamada, H., Guo, Y., Muta, H., Podack, E.R. Yoshikai, Y. 2013  
CD30L/CD30 is critical for maintenance of IL-17A-producing  $\gamma\delta$  T cells bearing V $\gamma$ 6 in mucosa-associated tissues

in mice.

Mucosal Immunol. in press

10. Fujimura, K., Oyamada, A., Iwamoto, Y., Yoshikai, Y., Yamada, H. 2013  
Limited role of IL-2 signaling during in vivo development of effector CD4 T cell subsets  
J. Leuko Biol. in press
11. Miyake, Y., Toyonaga, K., Mori, D., Kakuta, S., Hoshino, Y., Oyamada, A., Yamada, H., Ono, K., Suyama, M., Iwakura, Y., Yoshikai, Y., Yamasaki, S. 2013  
C-type lectin MCL is an FcR-coupled receptor that mediates the adjuvanticity of mycobacterial cord factor.  
Immunity. in press

## 総説

1. 吉開 泰信. 2012  
γδ 型 T 細胞の発見と感染防御機構での役割の解明  
モダンメディアアンセルアダムス 8 : 35-45
2. 吉開 泰信. 2012  
IL-17 産生 γδ 型 T 細胞の感染防御における役割  
感染・炎症・免疫 42 : 64-66
3. 吉開 泰信. 2012  
呼吸器における感染防御機構  
家畜感染症学会誌 1 : 3105-3116
4. 吉開 泰信. 2013  
感染と免疫  
最新医学 68 : 578-591
5. Shibata K. 2012  
Close link between development and function of γδ T cells.  
Microbiol. Immunol. 56:217-27.
6. 柴田 健輔. 2012  
IL-17 産生 γδ T 細胞の分化と活性化  
臨床免疫・アレルギー科 第 58 巻 第 5 号 p588-592

## 著書

1. 吉開泰信. 2012.  
免疫学総論  
レビンソン微生物学・免疫学 原書 11 版 (吉開泰信、西山幸廣 監修)  
丸善出版
2. 吉開泰信. 2013.  
免疫学総論

戸田新細菌学 改訂第 34 版 (編集 吉田真一、柳雄介、吉開泰信 編)  
南山堂

3. 吉開 泰信. 2013.  
第Ⅱ部 免疫システムの基本メカニズム 第2章 誘導的メカニズム【外来性抗原排除のメカニズム】  
A 細菌感染に対する反応  
標準免疫学 第3版、印刷中  
医学書院
4. 吉開 泰信. 2013.  
自然免疫を構成する細胞群  
リップスコットイラストレイテッド免疫学 原書2版 (編集矢田純一、高橋秀美)、印刷中  
丸善出版
5. 吉開 泰信. 2013.  
感染防御免疫  
南山堂辞典、印刷中  
南山堂

## 学会発表

1. Yasunobu Yoshikai (2012/4/17-18)  
CD30 ligand is a target for a novel biological therapy against chronic inflammatory diseases.  
Innovation Summit Tokyo 2012-Chronic Inflammation and Autoimmune Diseases, Tokyo
2. 田代泰隆、中島康晴、岡崎賢、馬渡太郎、福士純一、糸川高史、大石正信、山田久方、岩本幸英(2012/4/26-28)  
アダリムマブはBio-naive でMTX 併用の関節リウマチにおいて寛解導入・維持に有用である  
第56回日本リウマチ学会総会・学術集会, 東京都
3. 中島康晴、山田久方、岡崎賢、馬渡太郎、福士純一、糸川高史、大石正信、田代泰隆、岩本幸英(2012/4/26-28)  
内科と整形外科とのチーム医療 整形外科の立場から  
第56回日本リウマチ学会総会・学術集会, 東京都
4. 藤村謙次郎、橋口智光、櫻庭康司、小山田亜希子、岩本幸英、吉開泰信、山田久方(2012/4/26-28)  
抗原特異的 Th17 細胞のクローン増殖における IL-2 の役割  
第56回日本リウマチ学会総会・学術集会, 東京都
5. 中村真隆、柴田健輔、山田久方、吉開泰信(2012/7/9-11)  
Notch-IL-7Ra 経路は自然発生 IL-17 産生  $\gamma\delta$ T 細胞分化に必須である  
第23回日本生体防御学会学術総会, 東京都
6. 柴田健輔、中村真隆、山田久方、吉開泰信(2012/7/9-11)  
Notch,  $\gamma\delta$ TCR シグナルによる  $\gamma\delta$ T 細胞機能分化制御  
第23回日本生体防御学会学術総会, 東京都
7. 野口直人、山田久方、上野すぎ、中嶋裕也、隈本正一郎、丸山功、安藤洋太郎、吉開泰信(2012/7/9-11)  
クロレラ熱水抽出物の摂取が健常人の免疫機能に及ぼす影響

第23回日本生体防御学会学術総会, 東京都

8. Hisakata Yamada, Koji Sakuraba, Akiko Oyamada, Risa Nakamura, Kenjiro Fujimura, Yasunobu Yoshikai (2012/12/5-7)  
IL-21 plays critical roles in the production of pathogenic autoantibody in a murine model of autoimmune arthritis.  
第41回日本免疫学会総会・学術集会, 神戸市
9. Koji Shinoda, Xun Sun, Hisakata Yamada, Kensuke Shibata, Junnichi Kira, Yasunobu Yoshikai (2012/12/5-7)  
The critical role of CD30L/CD30 signaling in the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis.  
第41回日本免疫学会総会・学術集会, 神戸市
10. Risa Nakamura, Yinxia Huang, Yojiro Arimori, Naoya Ohara, Hisakata Yamada, Yasunobu Yoshikai (2012/12/5-7)  
IL-21 plays an important role in host defence against chronic bacterial infection.  
第41回日本免疫学会総会・学術集会, 神戸市
11. Kensuke Shibata, Masataka Nakamura, Hisakata Yamada, Koichi Ikuta, Yasunobu Yoshikai (2012/12/5-7)  
Notch-RBP-Jk-IL-7 receptor alpha axis is essential for the maintenance of IL-17 producing  $\gamma\delta$  T cells.  
第41回日本免疫学会総会・学術集会, 神戸市
12. Xun Sun, Danan Wang, Eckhard R. Podack, Yasunobu Yoshikai and Changlong Lu (2012/12/5-7)  
CD30L/CD30 signaling plays an important role in maintenance of a unique subset of naturally occurring IL-17A-producing gammadelta T cells in mucosal-associated tissues in mice.  
第41回日本免疫学会総会・学術集会, 神戸市
13. 吉開 泰信 (2012/12/8)  
呼吸器における感染防御機構  
第2回家畜感染症学会学術集会, 福岡市
14. Masataka Nakamura, Kensuke Shibata, Hisakata Yamada and Yasunobu Yoshikai (2013/3/3-3/6)  
Notch-RBP-Jk-IL-7 receptor alpha axis is essential for the maintenance of IL-17-producing  $\gamma\delta$  T cells.  
Post-GCOE Symposium and Retreat in Singapore, Singapore

## 免疫制御学分野（分子免疫学分野）

Division of Molecular Immunology

教授：山崎 晶

Professor : Sho Yamasaki, Ph.D.

本分野では、免疫受容体を介する外界の適切な認識と免疫応答の制御機構の解明に注力して研究を行っている。生体は常に自己・非自己に起因する危機に曝されているが、我々の免疫系はこれを様々な免疫受容体で察知し、多様な細胞応答を惹起して個体の恒常性を維持している。当分野では、免疫受容体を介する自己・非自己の認識機構の分子基盤の解明を通して、感染性疾患、自己免疫疾患に対する有効な治療法の確立に寄与したいと考えている。

平成 23 年 2 月に郷田真純が技能補佐員として参加し、同年 4 月に塩川萌が修士課程大学院生として、卒業研究学生として生命科学科 4 年の織田智博が参加した。現在、免疫受容体が自己・非自己・損傷自己を識別する戦略と普遍原理の解明を目指して、以下に掲げるテーマに関して研究を行っている。

### A. C 型レクチンレセプターによる自己・非自己の認識と意義

#### a. C 型レクチン Mincle のリガンド探索

C 型レクチン Mincle (macrophage inducible C-type lectin, Clec4e) はストレスに伴って発現が誘導され、炎症性サイトカイン産生等を促す活性化レセプターである。我々はこれまで、Mincle が生体の危機を感知して、炎症を促すセンサーとして機能することを見出してきた。Mincle が認識するリガンドとして、損傷自己より放出される核タンパク質、並びに非自己病原体である病原性真菌、*Malassezia* を同定している。さらに感染制御学分野との共同研究により、新たに Mincle が結核菌由来糖脂質で古くから強いアジュバントとして知られていたトレハロースジミコール酸 (TDM; trehalose-6,6'-dimycolate) を認識することを見出した。現在、結核菌感染に対する生体防御応答における Mincle の役割を解析している。また、新たなアジュバント候補という観点から Mincle の新規リガンドの探索を進めたところ、TDM を上回る活性を有する化合物を発見し、この化合物は *in vivo* でも細胞性免疫を強く活性化することを見出した。*Malassezia* からは TDM とは異なる 2 種類の新たな糖脂質リガンドを同定した。これらに加えて、新たな DAMPs (damage-associated molecular patterns) としての内因性リガンドの探索も進行中であり、現在 2 つの候補を見出しつつある。

## **b. 新たな結核菌受容体 MCL の同定**

Mincle はリガンド刺激に応答してミエロイド系細胞に誘導されてくるが、無刺激時の発現はほとんど認められない。このことは、TDMに応答してMincleの発現を誘導する新たな受容体の存在を示唆する。そこで、Mincle 遺伝子を GFP と置換したノックインマウスを樹立し、Mincle タンパク非存在下で Mincle 遺伝子発現をモニターできる系を確立した。このシステムを用いて新規受容体の探索を進めた結果、C型レクチン MCL (Clec4d) を同定した。MCL はミエロイド系細胞に恒常的に発現し、Mincle 同様に FcR $\gamma$  鎖に会合する活性化受容体であり、結核菌糖脂質 TDM を認識することを見出した。MCL 欠損マウスを樹立したところ、Mincle の発現が大幅に減弱し、自然免疫応答の低下が観察された。獲得免疫応答においては、MCL 欠損マウスは TDM 誘導性 EAE に強い抵抗性を示した。現在 MCL が獲得免疫活性化にどのように寄与しているのかを解析中であり、新たなアジュバント開発にも期待が持たれる。

## **c. C型レクチンの発現制御破綻に伴う疾患の解析**

C型レクチン Mincle は通常ストレス時のみ発現し、炎症を促す受容体であることから、その発現制御の破綻が疾患を誘導する可能性も想定される。実際、種々の自己免疫疾患において Mincle の恒常的発現が報告されていることから、Mincle を恒常的に発現するトランスジェニックマウスを樹立し、この因果関係を検討したところ、20 週令前に全個体が致死性疾患を発症して死亡することが判明した。損傷自己の過剰な感知と応答が生体の恒常性破綻と疾患に直結することを示す知見であり、現在疾患発症の分子機構を解析している。

## **d. 新規C型レクチンの自己・非自己リガンドの同定**

C型レクチンには未だリガンド不明の orphan receptor が数多く残されている。レポーター細胞を用いて、これら機能未知のレクチンレセプターの自己・非自己リガンドの探索を実施し、新たなレクチンレセプターとそのリガンドの同定に至った。現在このレセプターのリガンド認識機構、またその生理的意義解明に注力した研究を推進している。

## **B. T細胞抗原受容体を介する自己の識別とT細胞分化の制御機構**

### **a. pre-TCR を介するリガンド非依存的T細胞分化機構の解明**

これまでの研究から、プレT細胞レセプター (pre-TCR) は電荷を介した自発的な会合を介して TCR $\beta$  の完成をモニターし、生存シグナルを誘導してその後の分化過程につなげている ( $\beta$ セレクション) ことが明らかとなった。pre-TCR の電荷を変化させることで $\beta$ セレクシ

ョンの効率, ひいてはT細胞分化が顕著に傷害されるノックインマウス(pT $\alpha$ <sup>4A/4A</sup>マウス)を既に樹立しているため, このマウスを用いて $\beta$ セクションがTCR $\beta$ 鎖多様性形成に及ぼす役割を解析中である.

また, ノックインマウスでは, TCR $\beta$ 鎖の対立遺伝子排除の破綻が生じており, 1つのT細胞に2つのTCR $\beta$ を発現する細胞の比率が増加していることも明らかとなった. 以上より, pre-TCRによるリガンド非依存的シグナルは, pT $\alpha$ に会合し得る $\beta$ 鎖を広く選択してレパトアを確保し, かつ2つのTCR $\beta$ 鎖を発現する危険は回避するという生物学的に重要な機能を持ち, またその強さは絶妙なレベルに設定されていると考えられる. これをクローンレベルで証明するため, 現在次世代シーケンサーを用いて, 野生型, ノックインマウスにおける全TCR $\beta$ 鎖レパトアの解析を進めている. 同時に, 1つのT細胞に2つのTCRが発現してしまう状況が実際自己免疫疾患に繋がる可能性についても解析する.

## b. positive/negative selectionの分子機構

$\beta$ -selectionを経た胸腺細胞は, 次に完成した $\alpha\beta$ TCRが認識する抗原の親和性に応じて生存, 死の運命が決定される(positive/negative selection)と考えられている. ところが, TCRがどのような分子機構でリガンドの質的差異を識別し, 異なる細胞応答を惹起しているのかは未だに不明である. 近年我々は, positive selectionに伴って強くリン酸化されるキナーゼを見出し, このキナーゼの欠損マウスを樹立したところ, CD4<sup>+</sup>T細胞のみが特異的に消失することを見出した. これらのマウスの解析を通して, 受容体が抗原の微弱な質的違いを感知し, 異なった細胞応答に振り分ける機構の普遍原理を明らかにすることを目指している.

## 業績目録

### 原著論文

1. Ishikawa T, Ito F, Yoshida S, Saijo S, Matsuzawa T, Gono T, Saito T, Okawa Y, Shibata N, Miyamoto T, Yamasaki S. 2013.  
Identification of distinct ligands for the C-type lectin receptors Mincle and Dectin-2 in the pathogenic fungus *Malassezia*.  
Cell Host Microbe. in press.
2. Miyake Y, Toyonaga K, Mori D, Kakuta S, Hoshino Y, Oyamada A, Yamada H, Ono K, Suyama M, Iwakura Y, Yoshikai Y, Yamasaki S. 2013.  
C-type lectin MCL is an FcR $\gamma$ -coupled receptor that mediates the adjuvant activity of mycobacterial cord factor.

Immunity. in press.

3. Behler F, Steinwede K, Balboa L, Ueberberg B, Maus R, Kirchhof G, Yamasaki S, Welte T, Maus UA. 2012.  
Role of Mincle in alveolar macrophage-dependent innate immunity against mycobacterial infections in mice.  
J. Immunol. 189, 3121-3129.
4. Miyake Y, and Yamasaki S. 2012.  
Sensing necrotic cells.  
Adv. Exp. Med. Biol. 738, 144-152.

## 総説

1. 山崎晶, 永田雅大. 2013.  
レクチンによる認識  
標準免疫, 3.
2. 永田雅大, 山崎晶. 2012.  
C型レクチンを介する pathogen と danger signal の認識  
臨床免疫・アレルギー科, 58, 496-502.
3. 豊永憲司, 山崎晶. 2012.  
C型レクチンによる損傷自己および病原体の認識  
医学のあゆみ, 243, 24-28.
4. 森大輝, 山崎晶. 2012.  
生体内の変化を認識する C型レクチン受容体 Mincle—病原体と損傷自己の認識  
週間医学のあゆみ, 242, 345-346.
5. 森大輝, 山崎晶. 2012.  
C型レクチンによる異物認識機構と生体防御：結核菌受容体 Mincle の役割  
感染炎症免疫, 42, 296-305.

## 学会発表

1. Sho Yamasaki (2012, 4/17-18).  
Sensing “danger” through C-type lectin receptors.  
Medical Science Forum Tokyo 2012 on Immunity for the Control of Autoimmune Diseases (ICAD), 東京.
2. Sho Yamasaki (2012, 6/28-29).  
Immune responses through C-type lectin receptors.  
RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2012, 横浜.

3. 山崎 晶 (2012, 7/23-26).  
免疫応答のフロントライン.  
第 14 回免疫サマースクール 2012, 栃木.
4. Sho Yamasaki (2012, 12/2-4).  
Immune responses through C-type lectin receptors for endo/exogenous adjuvants.  
International Symposium on Etiology and Therapeutics of Autoimmune Diseases, Fukuoka.
5. Miyake Yasunobu, Toyonaga Kenji, Mori Daiki, Kakuta Shigeru, Iwakura Yoichiro, Yamasaki Sho (2012, 12/5-7).  
Identification of novel TDM receptor that triggers Mincle induction.  
第 41 回日本免疫学会学術集会, 神戸.
6. Mori Daiki, Miyake yasunobu, Toyonaga Kenji, Kakuta Shigeru, Iwakura Yoichiro, Yamasaki Sho (2012, 12/5-7).  
TDM promotes acquired immune responses through C-type lectin receptor Mincle and DC-Clec.  
第 41 回日本免疫学会学術集会, 神戸.
7. Toyonaga Kenji, Miyake Yasunobu, Mori Daiki, Yamasaki Sho (2012, 12/5-7).  
Characterization of DC-Clec as an activation receptor for TDM.  
第 41 回日本免疫学会学術集会, 神戸.
8. Yonekawa Akiko , Saijo Shinobu, Ishikawa Eri, Inoue Hiromasa, Yamasaki Sho (2012, 12/5-7).  
Dectin-2 is an essential receptor for mycobacterial lipoglycan.  
第 41 回日本免疫学会学術集会, 神戸.
9. Nagata Masahiro, Shimamura Michio, Ishikawa Eri, Nagai Shigenori, Koyasu Shigeo, Yamasaki Sho (2012, 12/5-7).  
Recognition of amphiphilic acylglucoside derived from Helicobacter pylori by C-type lectin receptor Mincle.  
第 41 回日本免疫学会学術集会, 神戸.
10. 山崎 晶 (2012, 12.4).  
C 型レクチンによるアジュバント認識と免疫応答.  
BioLegend ナイトセミナー, 神戸.
11. Sho Yamasaki (2012, 12/14-16).  
Immune response against damaged-self through C-type lectin receptors.  
第 85 回日本生化学会大会, 福岡.
12. 山崎 晶 (2013, 2.23).  
Immune responses through C-type lectin receptors for adjuvants.

第2回御茶ノ水動脈硬化フォーラム, 東京.