

平成28年4月11日

各報道機関 御中

宮崎大学企画総務部 広報・渉外課

医学部 佐藤克明教授の論文プレスリリースについて

拝啓 時下ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

日頃より本学の教育・研究についてご理解とご協力を賜り厚く御礼申し上げます。
この度、本学医学部医学科の佐藤克明教授が、ネイチャー・パブリッシング・グループの*Nature Communications*誌に論文名「*Clec4A4 is a regulatory receptor for dendritic cells that impairs inflammation and T cell immunity*」が受理されました（プレスリリース内容は別紙参照）。

免疫応答とは、生体内に侵入した細菌やウイルスなどの病原体（抗原）を認識して排除し、宿主を病気や感染から守る高度なシステムです。その一方で病原体（抗原）に対して過剰な免疫応答が起こった場合や、自己成分（タンパク質）を誤って認識した場合には、宿主にとって不利益な炎症反応や自己免疫疾患に繋がると考えられています。本論文では、免疫細胞の一種である「樹状細胞」に発現する「Clec4A4」が免疫応答のブレーキ役としてはたらき、過剰な炎症反応の進展や自己免疫病の発症を阻止することを明らかにしました。

尚、解禁日時は2016年4月12日（英国時間10:00、日本時間19:00）でありますことを申し添えます。

敬具

2016年4月11日
国立大学法人宮崎大学

免疫応答のブレーキ分子を同定

—樹状細胞に発現する Clec4A4 が免疫応答の抑制に関与—

本研究成果のポイント

- タンパク質「Clec4A4」が免疫応答の司令塔「樹状細胞」の活性化を抑制する
- Clec4A4 は過剰な炎症反応と自己免疫疾患を阻止する
- 炎症性疾患と自己免疫疾患の新たな治療法開発へ手がかり

宮崎大学（池ノ上 克学長）は、免疫細胞（白血球）の一種である「樹状細胞^{*1}」に発現するタンパク質「Clec4A4^{*2}」が免疫応答のブレーキ役としてはたらき、過剰な炎症反応の進展や自己免疫疾患の発症を阻止することを明らかにしました。これは医学部医学科（丸山眞杉医学部長）感染症学講座免疫学分野の佐藤克明教授らによる研究成果です。

免疫応答は、生体内に侵入した細菌やウイルスなどの病原体（抗原）を認識して排除し、宿主を病気や感染から守る高度なシステムです。免疫応答には自然免疫応答と適応免疫応答があります。自然免疫応答とは、最初に侵入してきた病原体（抗原）を抗原提示細胞^{*3}である樹状細胞やマクロファージ^{*4}が取り込んで活性化し、情報伝達物質（サイトカイン^{*5}）を分泌して自身や他の免疫細胞による捕食、殺菌を促し、適切な炎症を引き起こすシステムです。それと同時に、抗原提示細胞がヘルパーT細胞^{*6}やキラーT細胞^{*6}に病原体（抗原）の情報とサイトカインを与えて活性化させ、病原体やその感染細胞を攻撃して排除するシステムを適応免疫応答と呼びます。ところが病原体（抗原）に対して過剰な免疫反応が起こった場合や、自己成分（タンパク質など）を誤って認識した場合には、宿主にとって不利益な炎症反応や自己免疫疾患^{*7}に繋がると考えられています。しかし、免疫応答の司令塔である樹状細胞の活性化がどのように調節され、炎症反応や自己免疫疾患を抑制するかについては不明でした。

研究チームは、樹状細胞にのみ発現する膜タンパク質である Clec4A4 に着目し機能を調べた結果、Clec4A4 が樹状細胞による T 細胞の活性化やサイトカインの産生を抑制することを発見しました。さらに、Clec4A4 を欠損した遺伝子改変マウス（Clec4A4 欠損マウス）では、野生型マウスに比べて、細菌感染によって致命的な炎症反応を引き起こされる敗血症^{*8}が劇症化し、また、自己免疫疾患が増悪することも見いだしました。このことから、Clec4A4 は樹状細胞の活性化を抑制することにより、過剰な炎症反応と自己免疫疾患を抑制する、との結論を得ました。

この成果を応用し、Clec4A4 を標的として樹状細胞の機能を調節すれば、敗血症などの炎症性疾患や自己免疫疾患への新たな治療法の開発につながると期待できます。

本研究成果は、2016年4月12日（英国時間 10:00、日本時間 19:00）に英国科学誌『Nature Communications』のオンライン速報版）で公開されます。

1. 背景

細菌やウイルスなどの病原体に感染すると、生体は防御するために免疫応答を引き起こします。免疫応答には、自然免疫応答と適応免疫応答があります。自然免疫応答では、免疫細胞（白血球）の1つである抗原提示細胞（樹状細胞やマクロファージなど）が抗原を認識して活性化し、サイトカインを産生します。その結果、自身や他の免疫細胞による捕食、殺菌を促して適切な炎症反応を引き起こし、病原体の増殖を防止します。さらに適応免疫応答では、抗原提示細胞により抗原情報とサイトカインを伝達されたT細胞が、ヘルパーT細胞やキラーT細胞に分化、活性化して、特定の抗原やその感染細胞を攻撃します。ところが、病原体に対しての免疫応答が過剰となった場合や、自己成分（タンパク質など）を誤って認識した場合には、宿主にとって不利益な炎症反応や自己免疫疾患に繋がると考えられています。

樹状細胞は免疫細胞の中で最初に病原体に出会い、T細胞を最も強く活性化することから「免疫反応の司令塔」としての役割を担っており、これまで樹状細胞の活性化について盛んに研究が行われてきました。しかしながら、樹状細胞の活性化がどのように調節され、炎症反応や自己免疫疾患を抑制するかについては不明でした。

研究チームは、樹状細胞にのみ発現する膜タンパク質であるClec4A4に着目し、過剰な炎症応答や自己免疫疾患を抑制するメカニズム解明に挑みました。

2. 研究手法と成果

研究チームは、免疫応答におけるClec4A4の役割を明らかにするために、Clec4A4を欠損させた遺伝子改変マウス（Clec4A4欠損マウス：図1）を作製しました。

まず、Clec4A4と樹状細胞の機能との関係性を調べるために、野生型マウスやClec4A4欠損マウスの樹状細胞を精製し、病原体成分を加えて試験管内で培養しました。その結果、野生型マウスの樹状細胞と比較して、Clec4A4欠損マウスの樹状細胞ではT細胞の活性化（図2A）やサイトカインの産生（図2B）が亢進していました。これは、Clec4A4が樹状細胞によるT細胞活性化とサイトカイン産生を抑制することを示しています。

次に、野生型マウスやClec4A4欠損マウスの腹腔内に大腸菌を感染させることにより細菌性腹膜炎を発症させ、血液中のサイトカインの産生量と生存率をそれぞれ測定しました。その結果、野生型マウスと比較して、Clec4A4欠損マウスでは感染による血液中のサイトカインの産生が亢進しており（図3A）、生存率が著しく低下していました（図3B）。これは、Clec4A4が細菌性腹膜炎による過剰なサイトカイン産生を抑制し、敗血症を軽減することを示しています。

また、野生型マウスやClec4A4欠損マウスに、中枢神経系の難病である多発性硬化症^{*9}の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）^{*10}を発症させ、手・足・尾の麻痺を指標とした病態進行とEAEの原因となる自己反応性T細胞の活性化をそれぞれ測定しました。その結果、野生型マウスと比較して、Clec4A4欠損マウスではEAE病態が増悪化し（図4A）、自己反応性T細胞の活性化が亢進していました（図4B）。これは、Clec4A4が自己反応性T細胞の生成を抑制し、EAE病態を軽減することを示しています。

これらは、Clec4A4がブレーキ役として樹状細胞の機能を調節することにより、病原体の感染に対して適切な炎症反応を引き起こして病原体の増殖を防止し、また、自

己反応性T細胞の生成を抑制して自己免疫疾患の発症を阻止することも示しています（図5）。しかしながら、Clec4A4が無い場合には樹状細胞が暴走し、宿主にとって不利益な過度の炎症反応や自己免疫疾患が引き起こされることが示唆されました（図5）。

3. 今後の期待

今回、Clec4A4 が、免疫応答の始動を担う樹状細胞の機能を制御する重要な役割を担っていることが分かり、宿主の生体防御反応の調節や自己免疫疾患を引き起こすシステムの一部を明らかにすることができました。今後、この知見を応用して、Clec4A4を標的として樹状細胞の機能を調節すれば、炎症性疾患や自己免疫病への新たな治療法の開発につながると期待できます。

〈原著論文情報〉

Tomofumi Uto, Tomohiro Fukaya, Hideaki Takagi, Keiichi Arimura, Takeshi Nakamura, Naoya Kojima, Bernard Malissen, and Katsuaki Sato

“Clec4A4 is a regulatory receptor for dendritic cells that impairs inflammation and T cell immunity” *Nature Communications*, 7:1-15, 2016

doi:10.1038/NCOMMS11273

<報道担当・問い合わせ先>

(問い合わせ先)

国立大学法人宮崎大学

医学部医学科

感染症学講座免疫学分野

教授 佐藤 克明 (さとう かつあき)

TEL : 0985-85-9815 FAX : 0985-85-9815

国立大学法人宮崎大学

医学部総務係

TEL : 0985-85-9014 FAX : 0985-85-3101

(報道担当)

国立大学法人宮崎大学企画総務部広報・渉外課

TEL : 0985-58-7114 FAX : 0985-58-2818

<補足説明>

※1 樹状細胞

樹状突起をもつ白血球で、微生物の排除や T 細胞に異物の情報を伝える細胞（抗原提示細胞）としてはたらき、免疫反応の本質的な司令塔としての役割を担っている。

※2 Clec4A4

C 型レクチン（C-type lectin : Clec）とは、カルシウム依存性の糖鎖結合活性を持つタンパク質であり、その細胞膜貫通型受容体の形をとるものが C 型レクチン受容体（C-type lectin receptor : CLR）である。Clec4A4 は樹状細胞に特異的に発現する CLR であり、糖鎖結合後に、細胞内へ負のシグナルを伝える可能性がある。

※3 抗原提示細胞

樹状細胞やマクロファージなどを含む白血球の一種。体内に侵入してきた微生物（細菌やウイルス）やその感染細胞などの断片を異物（抗原）として自己の細胞表面上に提示し、T 細胞を活性化させる細胞。抗原提示細胞は細胞表面上に主要組織適合抗原分子（MHC 分子）を持ち、これに抗原をのせて提示する。T 細胞は MHC 分子上に提示された抗原を認識して活性化し、引き続いて適応免疫応答を起こす。抗原提示細胞の中で樹状細胞が最も強力に T 細胞を活性化させる。

※4 マクロファージ

大食細胞とも呼ばれ、微生物・異物、死んだ細胞の貪食作用を示す白血球。

※5 サイトカイン

免疫細胞から分泌されるタンパク質で、特定の受容体を発現する細胞に情報伝達を行う。多くの種類があるが、特に免疫や炎症に関与したものが多い。また細胞の増殖、分化、細胞死、あるいは創傷治癒などに関与するものもある。

※6 ヘルパーT細胞、キラーT細胞

T 細胞はリンパ球の一種で、CD4 陽性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞に分けられる。CD4 陽性 T 細胞はヘルパーT細胞に分化し、サイトカインを産生して他の免疫細胞の活性化を調節する。CD8 陽性 T 細胞はキラーT細胞に分化し、宿主にとって異物になる細胞（ウイルス感染細胞、がん細胞など）や、病原体を認識して破壊する。

※7 自己免疫疾患

異物を認識し排除するための役割を持つ免疫システムが、誤って自分自身の正常な細胞や組織に対して過剰に反応し攻撃を加えてしまうことで症状を起こす疾患の総称。

※8 敗血症

微生物に感染した際、局所で感染を抑えることができず、感染が全身に波及し、体内のあらゆるところで樹状細胞やマクロファージなどの白血球が過剰に活性化し、多量のサイトカインを放出して急激に炎症反応を引き起こす病態。重篤な場合には多臓器不全に至り、

集中治療室（ICU）や新生児 ICU での主要な死亡原因となっている。細菌性腹膜炎とは外科的介入を要する腹腔内感染によらない腹水の感染であり、結果的に敗血症を引き起こすことがある。この敗血症の治療法は、抗生物質やステロイド製剤投与などの対処療法であり、今なお効果的な治療法がない。

※9 多発性硬化症

多発性硬化症は中枢神経系の慢性炎症性疾患で、自己免疫疾患の一つと考えられている。病変が中枢神経内に多発し、その発生場所により、運動麻痺、感覚麻痺、視力障害など様々な症状が出現する。また再発を繰り返すことにより、徐々に神経障害が蓄積していくことが多い。現在再発を抑制し予後を改善する免疫治療は数種類あるが、進行を抑制する治療は確立していない。

※10 実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE)

ミエリンオリゴ糖タンパク質ペプチド (MOGp) などの特定の自己抗原をマウスに注射すると、多発性硬化症に似た脳脊髄炎を発症する。これはミエリンを自己抗原と認識して反応する T 細胞（自己反応性 T 細胞）が誘導され、それが中枢神経系に侵入することで、自己のミエリンを攻撃し、脱髄を起こすためと考えられている。実験的自己免疫性脳脊髄炎は多発性硬化症の動物モデルとして使われている。英語表記「**Experimental autoimmune encephalomyelitis**」の略として EAE とも呼ばれる。

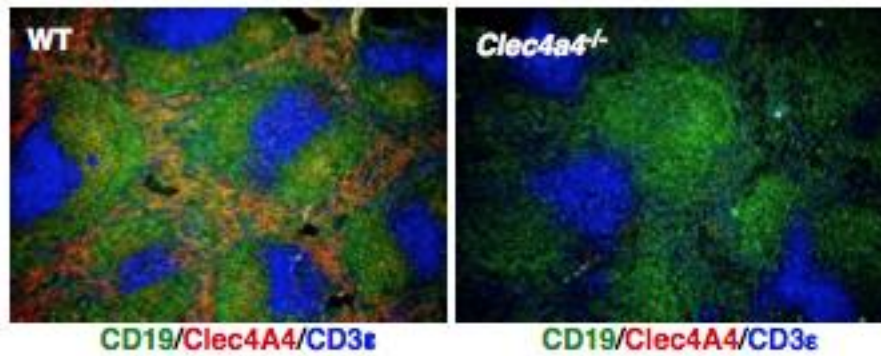


図1 Clec4A4 欠損マウスの脾臓(ひぞう)の免疫組織染色

野生型マウス (WT) と Clec4A4 欠損マウス (*Clec4a4^{-/-}*) の脾臓を免疫組織染色した結果。青はT細胞 (CD3ε)、緑はB細胞 (CD19)、赤はClec4A4を示す。野生型マウスでは認められるClec4A4の発現はClec4A4欠損マウスの脾臓では認められない。

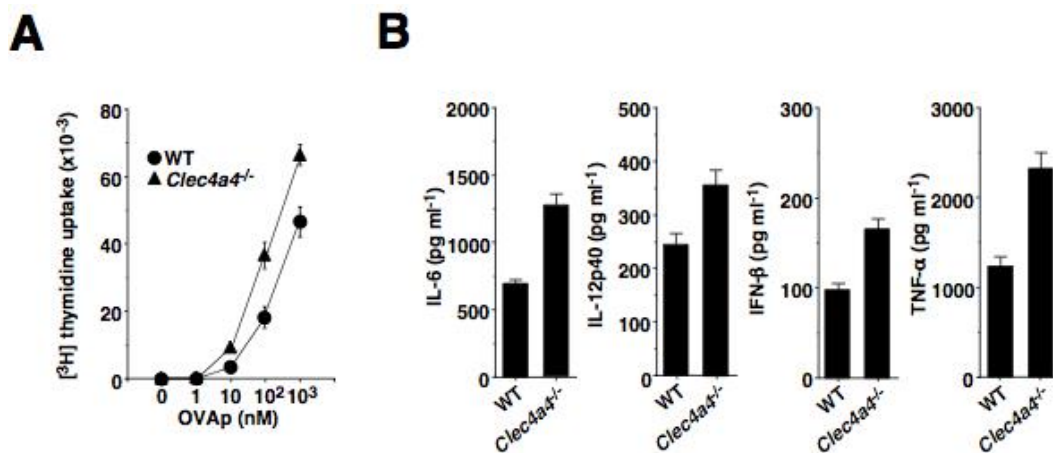


図2 Clec4A4 欠損マウス樹状細胞の機能

病原体成分で刺激して活性化した野生型マウス (WT) と Clec4A4 欠損マウス (*Clec4a4^{-/-}*) の樹状細胞の機能を解析した結果。

パネルA: 抗原 (卵白アルブミンペプチド: OVAp) を提示した樹状細胞による抗原特異的 CD4陽性T細胞の増殖能 ([³H]thymidine uptake) を測定した。野生型マウスの樹状細胞と比較して、Clec4A4欠損マウスの樹状細胞では抗原特異的T細胞増殖誘導能 (活性化能) が亢進している。

パネルB: 樹状細胞のサイトカイン (IL-6、IL-12p40、IFN-β、TNF-α) の産生を測定した。野生型マウスの樹状細胞と比較して、Clec4A4欠損マウスの樹状細胞ではサイトカイン産生能が亢進している。

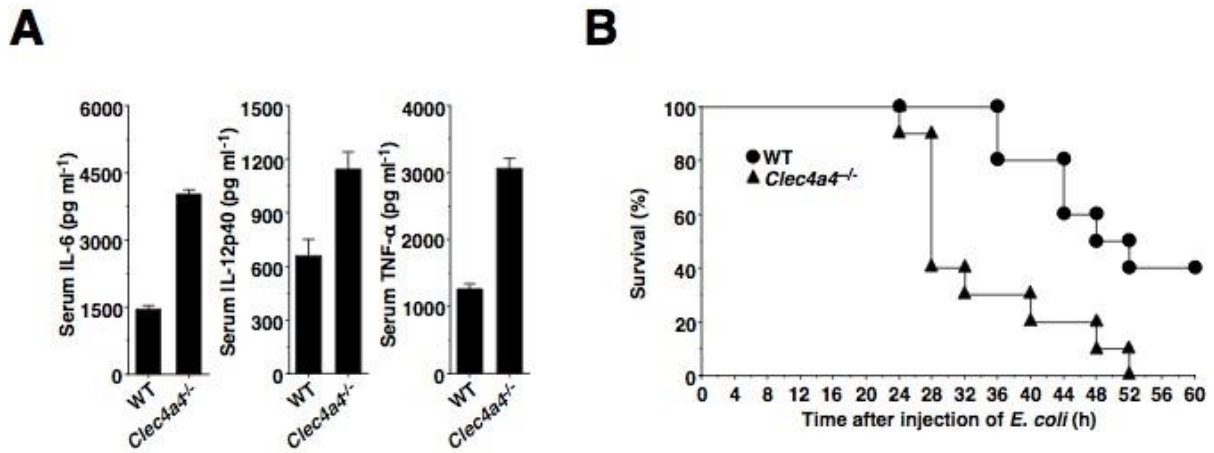


図3 Clec4A4欠損マウスの敗血症の劇症化

野生型マウス (WT) と Clec4A4 欠損マウス (*Clec4a4*^{-/-}) の敗血症に対する感受性の結果。
 パネルA: 大腸菌の腹腔内感染24時間後の血液中のサイトカイン (IL-6、IL-12p40、TNF-α) の産生量を測定した。野生型マウスと比較して、Clec4A4欠損マウスでは血液中のサイトカイン産生が亢進している。
 パネルB: 大腸菌の腹腔内感染後の生存率を測定した。野生型マウスと比較して、Clec4A4欠損マウスでは生存率が低下している。

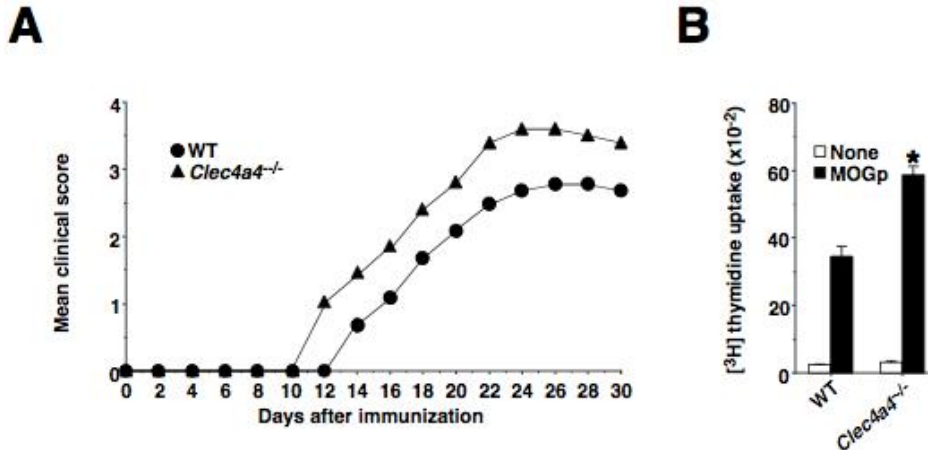


図4 Clec4A4欠損マウスのEAEの増悪化

野生型マウス (WT) と Clec4A4 欠損マウス (*Clec4a4*^{-/-}) の EAE 病態発症の結果。
 パネルA: ミエリンオリゴ糖タンパク質ペプチド (MOGp) の免疫後のEAE臨床スコア (手・足・尾の麻痺を指標) を測定した。野生型マウスと比較して、Clec4A4欠損マウスではEAE病態が増悪化している。
 パネルB: 免疫14日後のマウスからCD4陽性T細胞を精製し、その自己抗原 (MOGp) 特異的増殖能 ([³H]thymidine uptake) を測定した。野生型マウスのCD4陽性T細胞と比較して、Clec4A4欠損マウスのCD4陽性T細胞では自己抗原特異的増殖能が亢進している。



図 5 Clec4A4 による樹状細胞の活性化と免疫応答の制御

Clec4A4 の制御下では、樹状細胞は細菌やウイルスなどの病原体（抗原）を認識後、適切なサイトカイン産生と T 細胞活性化により防御免疫応答を惹起する。一方、Clec4A4 の欠損下では、樹状細胞は病原体成分や自己死細胞からの自己成分を認識後、制御不能なサイトカイン産生と T 細胞活性化により過剰な炎症反応や自己免疫疾患を導く。