

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 松川 敏大

学位論文題名

抑制型ペア型免疫受容体 LMIR3/CD300f の欠損は炎症性腸疾患を増悪させる
(LMIR3/CD300f deficiency aggravates inflammatory bowel disease)

[背景と目的]

Leukocyto mono-immunoglobulin like receptor (LMIR)/CD300 は、免疫担当細胞に活性化型と抑制型が対をなして存在するペア型免疫受容体ファミリーの一つである。ヒトでは 17 番染色体、マウスでは 11 番染色体にクラスターを形成し、構造の特徴として細胞外領域に相同性の高い一つの免疫グロブリン様構造を持つ。細胞内領域の違いによって活性化型と抑制型に大別され、抑制型受容体 LMIR3/CD300f は細胞内領域に二つの immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) 構造と一つの immunoreceptor tyrosine-based switch motif (ITSM) 構造を持つ。LMIR3 はマスト細胞やマクロファージ、好中球などの myeloid 系細胞表面に発現しており、LMIR3 とそのリガンドである細胞外セラミドの結合によって、マスト細胞表面に存在する高親和性 IgE 受容体を介したアレルギー反応を抑制している。しかしながら、生体内の炎症反応に対しての LMIR3 の働きは未知である。

一方、炎症性腸疾患のマウスモデルはマスト細胞表面の ATP 受容体である P2X7 受容体に ATP の刺激が加わることにより病態が形成されることが近年報告された。ヒトの炎症性腸疾患においては 1970 年代頃より腸管内でマスト細胞が増加していることが報告されていた。

本研究では、マスト細胞表面に強く発現する LMIR3 と P2X7 受容体の関連に注目し、LMIR3 が炎症性腸疾患の病態制御の役割を担っているかについて検討した。

[方法]

LMIR3 の発現が潰瘍性大腸炎モデルである Dextran sodium sulfate (DSS) 腸炎を中心とした炎症性腸疾患に与える影響を検討するため、様々な条件下で炎症性腸疾患を検討した。DSS 腸炎は、評価目的別に体重減少や Disease Activity Index (DAI) スコア、腸管の長さ、生存率を評価した。野生型マウスと LMIR3 欠損マウス、そしてマスト細胞欠損マウスである Kit^{W-sh/W-sh}、Kit^{W-sh/W-sh} と LMIR3 欠損マウスを交配したマウスを使用した。

[結果]

マウス炎症性腸疾患モデルで、LMIR3 の欠損により腸炎が増悪した。LMIR3 欠損マウスは、1.5% DSS を 7 日間投与すると体重減少や腸管の短縮などが著明であり、さらに DSS 濃度や投与期間を変え DSS の投与条件を厳しくすると、LMIR3 欠損マウスでは生存率が低下することが分かった。

次に、キメラマウスを用いて検討したところ、LMIR3 欠損マウス由来の血球成分が腸炎の増悪に関係しており、myeloid 系細胞に発現する LMIR3 のうち、特にマスト細胞に発現する LMIR3 が重要であることが示唆された。そこで、マスト細胞を欠損する Kit^{W-sh/W-sh}

マウスに、野生型と LMIR3 欠損マウス由来の骨髄由来マスト細胞 (BMMC) を投与し、マスト細胞を再構築したマウスを作成した。これらのマウスに 1.5% DSS を 7 日間投与すると、LMIR3 欠損マウス由来の BMMC を再構築したマウスで腸炎が増悪した。病理学的には Lamina Propria 内への炎症細胞浸潤が LMIR3 欠損マウスで著明であり、好中球数や好酸球数の増加が確認された。また、マスト細胞自身の割合も増加し、さらに活性化の指標である CD63 陽性のマスト細胞の割合も増加していることが示された。ATP を直接、マウスに注腸してみると、LMIR3 欠損マウスでは CD63 陽性マスト細胞が増加していた。つまり、DSS 投与による腸管細胞の障害などにより腸管内に細胞外 ATP が上昇し、それらの ATP が Lamina Propria にあるマスト細胞を活性化し、脱顆粒や種々のサイトカインの産生をしていて、LMIR3 存在下では ATP 刺激の一部を抑制していることが分かった。

また、ATP の刺激により BMMC を活性化させると、野生型と LMIR3 欠損マウス由来の BMMC では同量の脱顆粒やサイトカイン/ケモカインが産生されるが、興味深いことに、セラミドとの結合がある状態では、野生型マウス由来の BMMC はサイトカインなどの産生量が低下した。一方、LMIR3 欠損マウス由来の BMMC ではセラミドの存在下でも産生量に変化は認めなかった。野生型と LMIR3 欠損マウス由来の BMMC は共に P2X7 受容体の発現量に違いは無なかったが、定常状態の腸管では腸管マスト細胞の LMIR3 発現量は低く、腸炎を引き起こすとその発現量が上昇することが分かった。高親和性 IgE 受容体を介した刺激では ITIM と ITSM 内に含まれるチロシン残基がリン酸化されることでアダプター蛋白と結合し刺激を抑制するが、ATP 刺激においては LMIR3 の ITIM と ITSM 内のチロシン残基をフェニルアラニンに変異させた変異体を用いた検討により、変異体ではセラミド存在下においてもサイトカインなどの産生量は低下しなかった。つまり、ATP 刺激においても LMIR3 は ITIM と ITSM 内のチロシン残基がリン酸化されることにより制御していることを強く示唆した。

重要な点は、セラミドと LMIR3 の結合により ATP を介したマスト細胞の脱顆粒やサイトカイン/ケモカイン産生を抑制する点である。

さらに、抗セラミド抗体の投与や可溶性キメラ蛋白の投与によっても DSS 腸炎は増悪し、LMIR3 欠損マウスではこれらの投与により腸炎に変化は認めなかった。

また、治療モデルとして、セラミドリポソームを投与することにより、DSS 腸炎を軽減させることに成功した。

[考察]

本研究では、マウス炎症性腸疾患モデルにおいて、マスト細胞表面に発現する LMIR3 が ATP 刺激によるマスト細胞の活性化を抑制することにより腸管の炎症を制御していることが分かった。マスト細胞は体内では非常に数は少ない存在ではあるが、少ないながらもアレルギー反応においては内部顆粒の放出やサイトカイン、ケモカインなどの放出により非常に強力な作用を有している。そして、マスト細胞はアレルギー反応のみならず、その活性化により炎症反応を呈することも知られている。マウス炎症性腸疾患モデルでは、獲得免疫のみならず、自然免疫系の関連が注目されており、様々な免疫担当細胞に発現するペア型免疫受容体ファミリーの関与についても今後進んでいくと考えられる。

[結論]

LMIR3 欠損マウスは炎症性腸疾患が増悪する。マスト細胞表面に発現する LMIR3 はリガンドであるセラミドとの結合によりマスト細胞の活性化を制御しており、炎症性腸疾患の悪化を防いでいる。さらに、マウス炎症性腸疾患モデルではセラミドリポソーム投与により腸炎が軽減した。