



Title	Critical Roles of a Dendritic Cell Subset Expressing a Chemokine Receptor, XCR1
Author(s)	杉山, 正仲
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34315
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	杉山 正伸
論文題名 Title	Critical Roles of a Dendritic Cell Subset Expressing a Chemokine Receptor, XCR1 (ケモカイン受容体XCR1陽性樹状細胞サブセットの重要性)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 樹状細胞 (dendritic cell; DC) は、抗原提示細胞として自然免疫と獲得免疫の橋渡しに重要な役割を担っており、病原体に対する生体防御応答ばかりでなく、自己免疫疾患、炎症性疾患の病態にも関与することが明らかになってきている。DCは機能的に異なるいくつかのサブセットから構成されている。マウスの脾臓において、CD8α陽性樹状細胞 (CD8α⁺ DC)は、死細胞を食食しIL-12などの炎症性サイトカインを分泌して抗原をCD8⁺ T細胞へ提示するクロスプレゼンテーション能に特化したサブセットであり、抗ウィルス免疫や抗腫瘍免疫で重要な役割を果たしていると考えられている。ヒト樹状細胞においては、BDCA3陽性樹状細胞(BDCA3⁺ DC)が、クロスプレゼンテーション能が高いこと、遺伝子発現プロファイルが類似していることから、マウスCD8α⁺ DCのホモログであると考えられており、マウスCD8α⁺ DCの生体内機能の解明がヒトの生体防御反応や様々な病態の理解に繋がることが期待される。しかしながら、これまでCD8α⁺ DCの生体内での機能的意義の解析に適した実験系は樹立されていなかった。本研究では、マウスCD8α⁺ DCおよびヒトBDCA3⁺ DCに特異的に発現し、2種間で発現パターンが保存されているケモカインレセプターXC chemokine receptor 1(XCR1)に着目し、2種類の遺伝子改変マウスを作製することにより、CD8α⁺ DCの生体内分布、および、生体内での機能的意義を明らかにした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 XCR1遺伝子を蛍光タンパク質Venusに置換したノックインマウス (XCR1-venusマウス)、およびdiphtheria toxin receptor (DTR)とVenusの融合遺伝子に置換したノックインマウス (XCR1-DTRvenusマウス)を作製した。XCR1-venusマウスにおいては脾臓ではvenus陽性細胞はCD8α⁺ DCに特異的であり、他の細胞でのVenusの発現は認められなかった。また、Venus⁺ CD8α⁺ DCはVenus⁻ CD8α⁺ DCと比べてToll like receptor (TLR)の刺激に対するサイトカイン産生能に優れていた。末梢リンパ節では常在性CD8α⁺ DCとともに遊走性CD103⁺ DCがvenus陽性であり、真皮および腸管粘膜固有層のCD103⁺ DCもvenus陽性であった。一方、胸腺では一部のCD8α⁻ CD11b⁻ DCおよびCD103⁻ CD11b⁻ DCがvenus陽性であった。さらに、感染など炎症が惹起される状態でのvenusの発現を検討したところ、<i>Listeria monocytogenes</i>の感染後には感染により誘導される脾臓NO synthase-producing DC (Tip-DC)でvenusの発現はほぼ認められず、LPS刺激後に誘導される単球由来DC(Mo-DC)でもvenusの発現は認められなかった。 XCR1-DTRvenusマウスにdiphtheria toxin (DT)を投与したところ、投与後4日目まではXCR1⁺ DC (Venus⁺ DC)が完全に除去され、その後徐々にXCR1⁺ DCの数が増加し、12日目にはDT投与前の細胞数にまで回復した。また、DTの複数回の投与によりXCR1⁺ DC の欠失の状態が継続できることが確認された。このマウスを用いて二本鎖RNA poly I:C投与後のサイトカイン産生能を比較したところ、XCR1⁺ DCを欠失させたXCR1-DTRvenusマウスと野生型マウスではIFN-α、IFN-β、TNFα、IL-12p40、IL-12 p70、IL-6の産生能には明らかな差は認められなかった。しかしながら、poly I:Cをアジュバントとして、可溶型もしくは細胞随伴型のovalbumin (OVA)を抗原として免疫した場合、XCR1⁺ DCを欠失させたXCR1-DTRvenusマウスでは、DTを投与していないXCR1-DTRvenusマウスや野生型マウスに比べてCD8⁺ T細胞の応答が顕著に減弱していた。一方、CD4⁺ T細胞の応答は若干の増加が認められた。また、脾臓CD8α⁺ DCに細胞内感染することが知られている<i>L. monocytogenes</i>を感染させると、XCR1⁺ DCを欠失させたXCR1-DTRvenusマウスでは野生型マウスに比べて脾臓への<i>L. monocytogenes</i>の感染が顕著に減少していた。また、<i>L. monocytogenes</i>感染時のCD8⁺ T細胞の応答もXCR1⁺ DCを欠失させたXCR1-DTRvenusマウスでは減弱を認めた。	
〔総 括(Conclusion)〕 XCR1-venus, XCR1-DTRvenusマウスにおいて、脾臓CD8α⁺ DC とその類縁細胞に選択的にvenusの発現を得ることができた。また、XCR1-DTRvenusマウスを用いた解析により、XCR1⁺ DCはpoly I:Cにより誘導されるCD8 T細胞へのクロスプレゼンテーション、および<i>L. monocytogenes</i>感染と感染時に生ずるクロスプレゼンテーションに重要な役割を果たしていることが明らかとなった。これらのマウスは、XCR1⁺ DCのin vivoにおける生理的、病理的機能を解明するために有用であると考えられた。本研究で得られたマウスを用いた知見は、ヒトBDCA3⁺ DCの生理的、病理的機能を解明する上でも有用であることが期待される。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 杉山 正伸		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 竹 田 潔
	副 査	大阪大学教授 上 田 裕 次
	副 査	大阪大学教授 石 井 優
論文審査の結果の要旨		
申請者はクロスプレゼンテーション能力の高い特性を持つマウス脾臓CD8α陽性樹状細胞(DC)に着目し、CD8α陽性DCに特異的に発現するケモカイン受容体XCR1の遺伝子座に蛍光タンパク質venus、あるいはジフテリア毒素受容体(DTR)とvenusの融合タンパク質をコードする遺伝子をノックインさせたマウス(XCR1-venusマウス、XCR1-DTRvenusマウス)を作成した。これらのノックインマウスでは、期待通りCD8α陽性DCに選択的に蛍光タンパクが検出され、また、XCR1-DTRvenusマウスにおいては、DTの投与後XCR1陽性DCを欠失させることができた。この実験系を用いて、XCR1陽性DCがin vivoでのクロスプレゼンテーション及びリステリア菌感染の成立に必須であることを明らかにした。今回樹立した実験系はユニークなものであり、今後解析を進めることにより、XCR1陽性DCの生体内での機能、動態についての未解明の問題にアプローチできると考えられる。またヒトでも、XCR1を選択的に発現しクロスプレゼンテーション能が高い樹状細胞サブセット、BDCA3陽性DCが同定されており、マウスで得られた知見がヒトへ応用できる可能性も期待される。このように本論文は発展性の高いものであり、学位論文に値するものと認められる。		