



Title	Mycobacterial mycolic acids trigger inhibitory receptor Clec12A to suppress host immune responses
Author(s)	西村, 直矢
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92872
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">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	西村 直矢
論文題名 Title	Mycobacterial mycolic acids trigger inhibitory receptor Clec12A to suppress host immune responses (抗酸菌のミコール酸は抑制性受容体Clec12Aを介して宿主の免疫応答を抑制する)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕	
<p>抗酸菌は宿主の免疫応答を回避することが知られているが、そのメカニズムは不明である。活性型C型レクチン受容体（以下、CLR）が結核菌細胞壁脂質を認識し、宿主の免疫応答を惹起することがこれまで報告されている。CLRには構造の類似した抑制型もあり、今回我々は抑制型CLRに着目し、これらが抗酸菌の脂質を認識し、免疫応答の回避に関与しているかどうかを検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>まず、結核菌の脂質を高性能薄層クロマトグラフィーで分離し、様々な抑制型CLRを発現させたレポーター細胞を刺激した。低極性の分画でマウス、ヒト由来のClec12Aを発現させたレポーター細胞が活性化された。この低極性の分画をさらに分離したところ、Clec12Aに強く活性を示す脂質を分離できた。次に、結核菌以外の様々な非結核抗酸菌において同様に脂質を分離したところ、同様にClec12Aへ強く活性を示す分画を認め、この脂質は抗酸菌に広く保存されていると考えられた。糖あるいはリン脂質ではなかったことから、ミコール酸（以下、MA）が候補として考えられた。次に、液体クロマトグラフィー・高分解能質量分析で解析を行ったところ、全ての抗酸菌において低極性の分画で大量のMAを含有していることが判明した。さらに、<i>M. marinum</i>、<i>M. szulgai</i>の低極性の分画において、Clec12A発現レポーター細胞が強く活性を示し、またこの分画に様々なMAが含まれていた。</p>	
<p>次に、精製したMAにおいて確認してところ、同様にClec12Aにレポーター細胞活性を示し、Clec12Aを発現させた融合タンパクでも容量依存性に結合を確認できた。以上の結果から、MAがClec12Aのリガンドであることがわかった。また、他のCLRにおいても検討したが、MAを認識するものはなかった。結核菌はTMMやTDMなどの糖結合MAを有しており、活性化CLRであるMincleはこれらを認識する一方、MAは認識しなかった。一方で、Clec12AはMAを認識するものの、これらの糖結合MAは認識しなかった。また、結核菌にはalpha, methoxy, keto-MAが含まれているが、そのうちmethoxy-MAがClec12Aに強く活性を示すことがわかった。</p>	
<p>次に、結核菌感染におけるClec12Aの役割を確認することとした。Clec12A欠損マウスを樹立し、骨髄由来樹状細胞を誘導し、熱処理結核菌で刺激を行なったところ、Clec12A欠損骨髄由来樹状細胞でMCP-1の産生が有意に上昇した。次に、野生型とClec12A欠損マウスを結核菌に感染させたところ、菌量や肺組織に差を認めなかったが、結核菌特異抗原刺激によるIFNγの産生がClec12Aマウスで亢進した。また、BCG接種後においても、Clec12A欠損マウスでIFNγの産生が上昇しており、さらにBCG接種後に結核菌に感染させたところ、統計学的な有意差は見られなかったがClec12A欠損マウスで菌量が低下する傾向にあった。</p>	
<p>次に、ヒト由来の受容体での機能を確認するためにヒトClec12Aトランスジェニックマウスを樹立した。骨髄由来樹状細胞を誘導し、結核菌で刺激を行なったところトランスジェニックマウス由来骨髄由来樹状細胞でMCP-1の産生が低下した。次に、結核菌を感染させたところ、トランスジェニックマウスで菌量が増加し、肺においても炎症の増悪を認めた。また、肺においてTnfやNos2、Ccl2のmRNA発現が亢進する一方で、Ifngの発現は低下していた。また、BCG接種後の結核菌特異抗原刺激においても、トランスジェニックマウスでIFNγの産生が低下する傾向にあった。</p>	
〔総 括(Conclusion)〕	
<p>様々な抗酸菌に含まれるミコール酸がClec12Aの新規リガンドであることを発見した。結核菌感染やBCG感染においてClec12Aが宿主の獲得免疫応答を抑制することが示され、ヒト由来のClec12Aでも同様の結果が見られた。CD300ファミリーの受容体であるTREM2もMAを認識し、宿主の免疫応答を抑制することが報告されており、Clec12Aも協働して抗酸菌の免疫回避に関わっている可能性が考えられる。また、MAは通常は糖脂質やアラビノガラクトサン層と結合して存在しているが、潜在性感染時に産生が増加することが報告されており、潜在性感染における宿主の免疫回避に関わっていると思われる。MAとClec12Aの相互作用を阻害することで新たな治療やワクチンの開発につながることを期待される。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 西村 直矢

	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授	山崎 晶
	副 査	大阪大学教授	荒瀬 尚
	副 査	大阪大学教授	山本雅裕

論文審査の結果の要旨

結核菌はこれまで、宿主の免疫応答を回避し潜在性感染を起こすことが知られていたが、その詳細なメカニズムは不明であった。今回、抗酸菌の細胞壁の主要な成分であるミコール酸が、抑制型C型レクチン受容体であるClec12Aにより認識されることを明らかにした。また、Clec12A欠損マウス由来の骨髄由来樹状細胞では結核菌刺激によるMCP-1の産生が増加し、また、Clec12A欠損マウスでは、結核菌感染やBCG接種においてIFN- γ の産生が増加した。このことから、Clec12Aはミコール酸の認識を介して宿主の免疫応答を抑制していると考えられた。また、ヒト由来のClec12Aにおいても同様の結果を確認した。本研究は、これまで不明であった結核菌が宿主の免疫応答を回避するメカニズムを明らかにしたものであり、学位論文に値するものとする。