

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2009.03) 9巻1号:54～56.

平成19年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題
自然免疫における骨髄系細胞のMDL-1/DAP12の検討

青木直子

7) 自然免疫における骨髄系細胞の MDL-1/DAP12 の検討

研究代表者 青木 直子

MDL-1 は C タイプレクチンファミリーに属する II 型膜蛋白で、ロングフォーム (MDL-1L) とショートフォーム (MDL-1S) の二種類のバリエーションを有し、主として単球やマクロファージに発現する (図 1)。MDL-1 のリガンドは未だ不明であるがそのシグナルは会合分子である DAP12 の ITAM モチーフから伝達されることが報告されている。我々は CTLL-2 変異株から DAP12 のクローニングを行って以来、現在まで一貫して DAP12 とその会合分子について研究を重ねてきた。我々が過去に報告した DAP12 による単球のマクロファージ系細胞への分化誘導は、MDL-

1/DAPI2を介したシグナルがマクロファージの分化や活性化に関わっていることを示唆するものである(1,2)。また、マクロファージが免疫応答の中心となるザイモザンによるマウス肝臓の肉芽腫形成モデルやマウス結核感染モデルについてもDAPI2を介したシグナルが重要な役割を果たすことを報告した。マウス結核感染モデルでは著明なMDL-1の上昇が認められ、自然免疫においてマクロファージ上のMDL-1/DAPI2が何らかの関与をしている可能性が考えられる(3,4)。Chenらのごく最近デング熱ウイルスの感染防御にMDL-1が非常に重要な役割を担っていることを報告した(5)。以上より、MDL-1の機能について検討することは各種感染防御への新たな治療戦略を考える上で重要である。

図2に示すようにMDL-1の機能を検討するために我々はアルメニアンハムスターを用いて、N354.1, N20.7, N16.10の三種類の抗マウスMDL-1モノクローナル抗体を樹立した。N354.1はMDL-1LのみをN20.7, N16.10はMDL-1L/Sの両方を認識する。MDL-1はいずれのアイソフォームも脾臓、骨髄、マクロファージなど免疫系臓器を中心に発現が認められ、特に骨髄ではその発現は非常に強いものとなっている。これらの臓器とは違って胸腺、リンパ節ではMDL-1の発現はほとんど認められなかった。また特記すべきことはマクロファージにおけるMDL-1は骨髄におけるものよりも低い分子量であり、これは糖鎖などの修飾の違いが関与しているのではないかと考えられた。次に我々は骨髄中のどの細胞サブセットがMDL-1を発現しているかを検討した(図3)。MDL-1は骨髄中のGr-1+CD11b+の好中球に非常に強く発現していることが明らかとなった。このとき骨髄幹細胞においてはMDL-1の発現は認められなかった。チオグリコレートをマウスに腹腔注射することにより誘導された好中球においてもMDL-1の強い発現が認められた(図3)。

MDL-1はDAPI2との会合が知られているが今回我々はさらにDAPI2のほかにやはりNKレセプターに会合するシグナル分子として知られているDAPI0との会合に関しても検討を行った(図4)興味深いことにMDL-1L, MDL-1Sの二つのアイソフォームはともにDAPI2のみならずDAPI0にも会合することが明らかとなった。DAPI2とDAPI0はそれぞれ下流のシ

グナル伝達経路が違うことよりこの二つの会合分子の使い分けによってMDL-1の機能が調節されている可能性が考えられる。

次にMDL-1の機能を検討するために32Dcl3を用いてMDL-1刺激によるサイトカインの産生能を検討した。32Dcl3はモノサイト系の細胞株であり、G-CSF刺激により好中球へ分化することが知られている。32Dcl3は無刺激の状態ではMDL-1の発現は認められないがG-CSF刺激により好中球への分化につれてMDL-1の発現が増強する。この細胞表面上のMDL-1を架橋することによりmRNAレベルでIP-10, RANTES, MDCの発現の上昇が認められた。さらにTLR4のリガンドであるLPSを同時に刺激に加えることにより、synergisticにRANTESとMDCの著明な発現が認められた(図5)。TLRは自然免疫に非常に重要な役割を果たしているため、MDL-1はTLRと協同して感染防御など自然免疫に何らかの役割を果たしていることが示唆される。また、IP-10, RANTESはタイプ1免疫応答にMDCはタイプ2免疫応答に密接な関わりがあると言われているためMDL-1は自然免疫のみならず獲得免疫にも関与している可能性がある。今後はDAPI2, DAPI0による会合分子の使い分けによるMDL-1の機能の差、また未だ不明であるMDL-1のリガンドの検索などを行っていく予定である。

1. Aoki N, Kimura S, Takiyama Y, Atsuta Y, Abe A, Sato K, Katagiri M. The role of the DAP 12 signal in mouse myeloid differentiation. *J Immunol.* 2000 Oct 1;165(7):3790-6.
2. Aoki N, Kimura S, Oikawa K, Nochi H, Atsuta Y, Kobayashi H, Sato K, Katagiri M. DAP12 ITAM motif regulates differentiation and apoptosis in M1 leukemia cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002 Feb 22;291(2):296-304.
3. Nochi H, Aoki N, Oikawa K, Yanai M, Takiyama Y, Atsuta Y, Kobayashi H, Sato K, Tateno M, Matsuno T, Katagiri M, Xing Z, Kimura S. Modulation of hepatic granulomatous responses by transgene expression of DAP12 or TREM-1-Ig molecules. *Am J Pathol.* 2003 Apr;162(4):1191-201.
4. Aoki N, Zganiacz A, Margetts P, Xing Z. Differential regulation of DAP12 and molecules associated with DAP12 during host responses to mycobacterial infec-

tion. *Infect Immun.* 2004 May;72

5. Chen ST, Lin YL, Huang MT, Wu MF, Cheng SC, Lei HY, Lee CK, Chiou TW, Wong CH, Hsieh SL. CLEC5A is critical for dengue-virus-induced lethal disease. *Nature.* 2008 May 29;453(7195):672-6. Epub 2008 May 21