

5) 急性肺胞障害の治療ターゲット分子としての MDL-1 の検討

研究代表者 青木 直子

Myeloid DNAX activation protein 12 (DAP12) -associating lectin 1 (MDL-1, CLEC5A) は好中球やマクロファージに発現するレクチン型の II 型膜タンパクである。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、リガンドからのシグナルは会合分子である DAP12 の ITAM モチーフまたは DAP10 の YXXM モチーフを介して細胞質内へ伝達される。平成 22 年度旭川医科大学「独創性のある生命科学研究」のサポートを受け我々は MDL-1 に対するモノクローナル抗体を樹立し、骨髄系細胞における MDL-1/DAP12 シグナルに関する基礎的な検討を行った^{1, 2)}。その結果 MDL-1 は好中球やマクロファージに強く発現しており、DAP12 のみならず DAP10 にも会合することが明らかとなった。さらにケモカインの産生において Toll like receptor (TLR) が MDL-1 シグナルにたいして相乗的に作用していることを見いだした。MDL-1 からのシグナルはこの二つの会合分子、そして TLR により複雑に調整されていると考えられる。我々はこれまでの研究で、MDL-1 がマウス結核感染モデルの肺で著明に上昇することを観察し、肺における炎症や細菌感染防御に MDL-1 が重要な役割を担っている可能性について示唆してきた。今回我々は特に肺胞マクロファージにおける MDL-1 分子の機能に注目し、TLR のリガンドの一つである LPS によるマウス肺胞障害モデルにおける MDL-1 の発現や機能について検討を行った。

1) マウス肺胞障害モデルの作製

LPS150 μ g を経鼻的に投与し、経時的に肺を採取し組織学的に検討を行った。図 1 上段は Day3 におけるマウス肺組織であるが好中球やマクロファージなど、多彩な炎症細胞浸潤が認められた。Day1 から Day2 の急性期には好中球主体の、Day3 以降ではマクロファージ主体の炎症細胞浸潤が認められた。図 1 下段に示すのは肺胞洗浄液をディフクイック染色を行ったものである。Day2 では好中球主体、Day4 ではマクロファージ主体の炎症細胞浸潤が認められる。

2) マウス肺胞障害モデルの肺組織における MDL-1、DAP10、DAP12 の発現の検討

LPS150 μ g を経鼻的に投与したマウスより肺を採取し、肺組織中における MDL-1、DAP10、DAP12 のタンパクの発現をウエスタンブロッティングにより Day0 から Day4 まで経時的に検討した。その結果投与前にはほとんど認められていない MDL-1、DAP10 の発現が Day1 より著明に上昇し Day3 まで持続した。Day4 には発現は減弱しほとんど消失した。また、DAP12 は投与前から少量の発現を認めるが、Day2 をピークに発現量の増加が認められ Day4 には投与前と同レベルまで減弱した。Day3 における肺胞洗浄液をフローサイトメトリーで検討したが、F4/80 陽性のマクロファージ画分で MDL-1 の発現が認められた。

3) MDL-1 刺激による肺胞マクロファージからの TNF α 産生

LPS150 μ g を経鼻的に投与し肺胞マクロファージを採取し抗 MDL-1 抗体で 48 時間刺激を行った。培

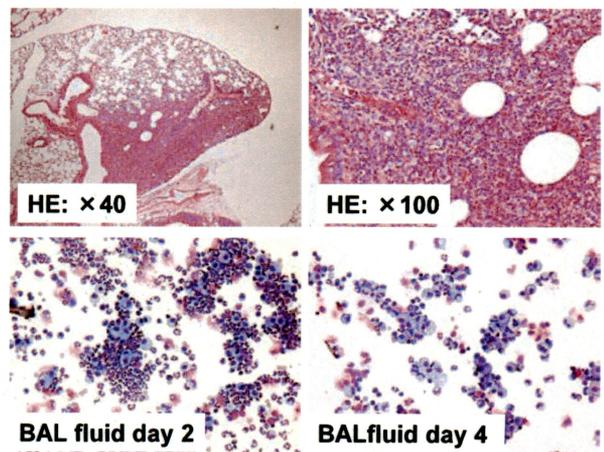


図 1 LPS による肺胞障害モデルの作成

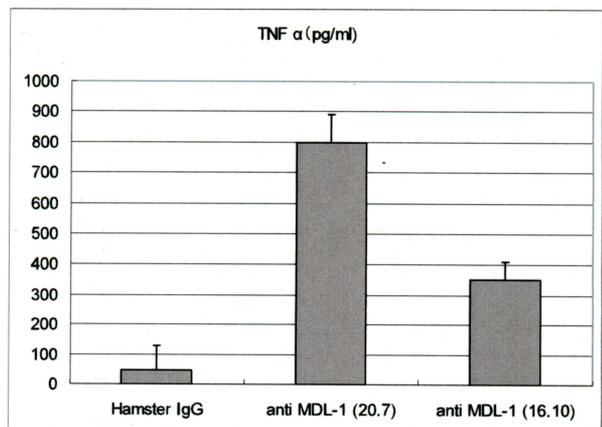


図 2 MDL-1 に刺激による肺胞マクロファージの TNF α 産生

養上清を ELISA にて解析したがアイソタイプコントロール抗体に比し著明な TNF α の産生が認められた。

(図 2)

以上より、急性肺胞障害モデルにおける肺胞マクロファージでは MDL-1 が発現し、TNF α などの炎症性サイトカイン産生に重要な役割を担っていることが明らかとなった。現在さらに他の炎症性サイトカインやケモカイン産生などにおける MDL-1 の役割について検討を進めているところである。実験の結果によっては MDL-1 分子が肺感染症や急性肺胞障害などに対して新たな治療戦略となる可能性が出てくると考えられる。

- 1) 旭川医科大学研究フォーラム 2009 Mar vol.9 No.1 p54-56
- 2) Aoki N, Kimura Y, Kimura S, Nagato T, Azumi M, Kobayashi H, Sato K, Tateno M. Expression and functional role of MDL-1 (CLEC5A) in mouse myeloid lineage cells J Leukoc Biol. 2009 Mar;85(3):508-17.