

# AMCoR

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

旭川医科大学研究フォーラム (2016.3) 16:24-25.

平成25・26年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 12) 好中球、肺胞マクロファージ、腹腔マクロファージにおけるMDL-1の機能と役割について

青木 直子

12) 好中球、肺胞マクロファージ、腹腔マクロファージ活性化における MDL-1 の機能と役割について

研究代表者 青木 直子

【研究の背景と目的】

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、平成 23 年度、平成 24 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<sup>1,2)</sup>。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。ケモカインの産生においては 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。さらに、我々はマウス急性肺胞障害モデルを確立し、急性肺胞障害の治療ターゲット分子としての MDL-1 が TNF- $\alpha$  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を明らかにした<sup>3)</sup>。肺胞マクロファージにおいては、IFN- $\gamma$  と MDL-1 刺激により相乗的に TNF $\alpha$  の産生が増強される。また腹腔マクロファージでは、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  により MDL-1 の発現量が増強し、IL-4 では減弱する。これらのことより、MDL-1 は M1 マクロファージに強く発現している可能性があることが示唆された<sup>4)</sup>。今回我々はヒト肉芽腫性疾患を形成するマクロファージ系細胞について MDL-1 の発現を免疫組織化学にて検討した。

【方 法】

ホルマリン固定パラフィン包埋切片に脱パラフィン処理を行い、Target Retrieval Solution, pH 9.0 (DAKO) で免疫賦活化処理をおこなった。Cell tissue staining kit/HRP-DAB system (R & D) を使用し免疫組織化学を施行した。一次抗体として anti human MDL-1/CLEC5A ポリクローナル抗体 1 $\mu$ g/ml を用い、4 $^{\circ}$ C で一晩反応させた。二次抗体として、ビオチン標識抗ヤギ抗体

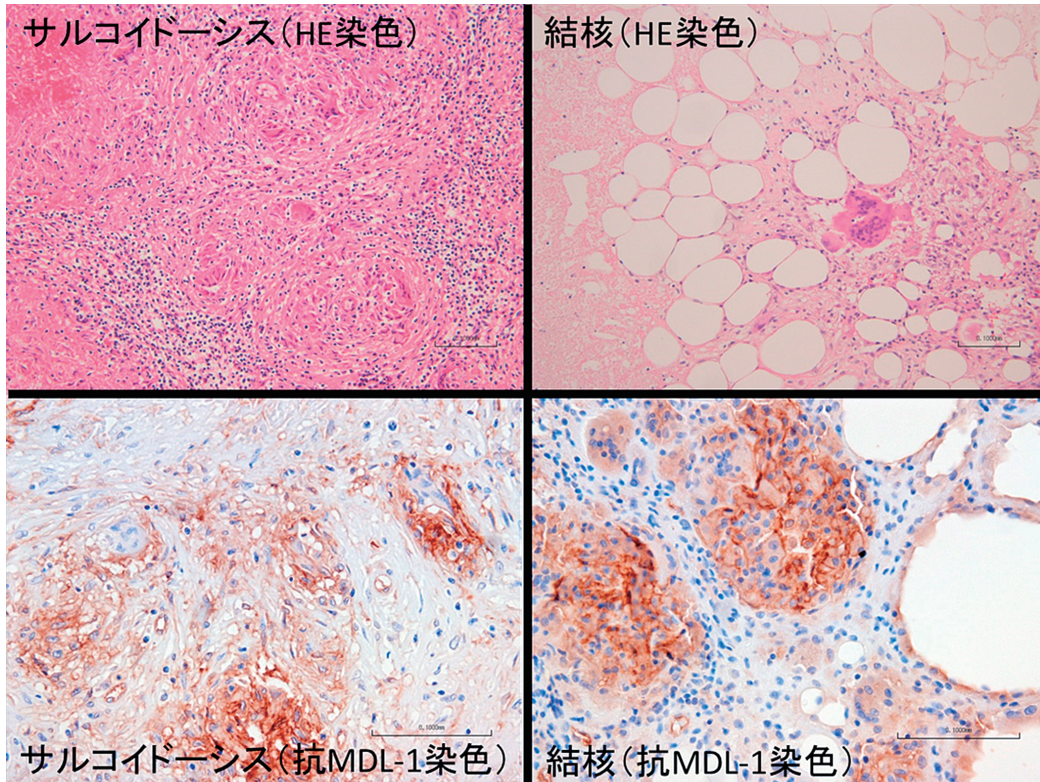
と 30 分反応させ、DAB 発色を三分間行いその後ヘマトキシリンで核染色を行った。

【結果と考察】

肉芽腫疾患の代表であるサルコイドーシス、結核、真菌症、また組織球性の腫瘍である巨細胞腫について検討をおこなった (図)。その結果、サルコイドーシスと結核において肉芽腫を形成する類上皮細胞に強い MDL-1 の発現が認められた (図)。興味深いことにはサルコイドーシスにおいては多核巨細胞では MDL-1 の発現が認められないのに反して結核においては多核巨細胞においても強い MDL-1 の発現が認められた。マクロファージは LPS や IFN- $\gamma$  により活性化される M1 型マクロファージと IL-4 や IL-13 により活性化される M2 型マクロファージの二種類に大別される。M1 型マクロファージは IL-12 や TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインを産生し、病原体の排除などに寄与すると考えられる。一方 M2 マクロファージは IL-10 を産生し、寄生虫感染や創傷治癒、癌の転移などに関わっていると考えられる。近年サルコイドーシスに関しては、M2 マクロファージが主体の反応ではないかという報告がなされている<sup>5)</sup>。それに対して結核は M1 マクロファージが主体の反応と考えられている。今回多核巨細胞の MDL-1 の発現がサルコイドーシスと結核で違ったことにより、これらの疾患における病態形成において MDL-1 の果たす役割が異なっている可能性が考えられる。今後さらなる検討を重ねていく予定である。

【文 献】

- 1) 旭川医科大学研究フォーラム 2009 Mar vol.9 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.
- 3) 旭川医科大学研究フォーラム 2011 Feb vol.12 p71-72
- 4) 旭川医科大学研究フォーラム 2013 Feb vol.14 p54-55
- 5) Kempf W, Zollinger T, Sachs M, Ullmer E, Cathomas G, Dirnhöfer S, Mertz KD. Granulomas are a source of



interleukin-33 expression in pulmonary and extrapulmonary sarcoidosis. Hum Pathol. 2014 Nov;45 (11) : 2202-10.