

イミキモド誘導性乾癬モデルにおける抑制性免疫受容体アラジン-1 の役割

オマル アナス (筑波大学 生物学類) 指導教員: 澁谷 彰 (筑波大学 生存ダイナミクス研究センター)

【背景】

乾癬は炎症性角化症に分類される難治性の慢性皮膚疾患で、病変部位には Th17 型ヘルパーT 細胞が集積する。Th17 が産生する IL-17 サイトカインは角化細胞に作用して表皮の肥厚や好中球浸潤による炎症反応を引き起こす。そのため抗 IL-17 抗体製剤は抗 TNF- α 抗体製剤に次ぐ第2選択薬である。自然免疫応答は Th17 の分化や活性化に働くが、乾癬における自然免疫応答の活性化制御機構の詳細は不明である。乾癬マウスモデルに、Toll-like receptor 7 (TLR7) アゴニストであるイミキモドを塗布して乾癬を誘導するモデルがある。TLR7 は自然免疫応答を担う樹状細胞やマクロファージに発現し、小胞体とエンドリソソームに局在する。そのリガンドはウイルス由来の一本鎖 RNA または合成低分子リガンドであり、生体防御機構においては病原体を感知することで、インターフェロンなどのサイトカインを産生する。

アラジン-1 (Allergin-1) は、自然免疫応答を担う単球、樹状細胞、好中球および肥満細胞に発現する膜型受容体で、細胞内領域の抑制性モチーフ (ITIM) のチロシンリン酸化により脱リン酸化酵素 (SHP-1) と会合して肥満細胞の IgE 受容体を介した活性化を抑制し、IgE 抗体依存性 I 型アレルギー反応を抑える。またアラジン-1 は細胞膜上に局在する TLR2 および TLR4 シグナルも抑制し皮膚炎や喘息を抑える。しかし、アラジン-1 がエンドソーム・リソソームに局在する TLR シグナルを抑制するのかわについては不明である。

【目的】

本研究では、アラジン-1 が TLR7 シグナルを抑制するのかわを明らかにし、さらにイミキモド誘導性乾癬モデルにおけるアラジン-1 の役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】

1. TLR7 シグナルにおけるアラジン-1 の抑制機能の検証

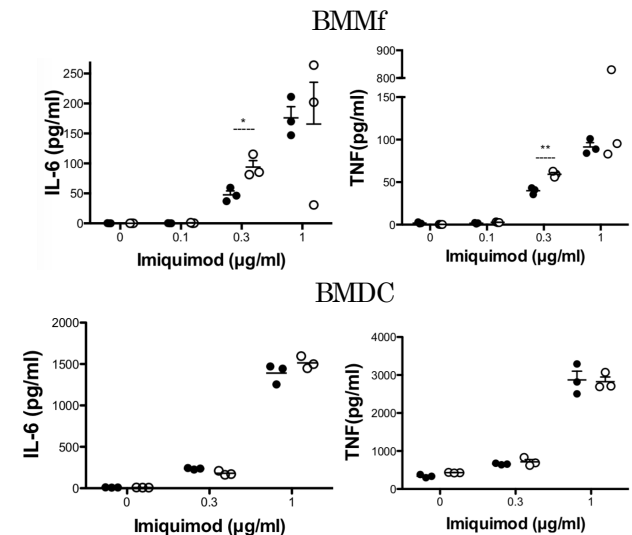
野生型 (WT) およびアラジン-1 遺伝子欠損型 (KO) マウスの骨髓細胞を IL-4 および GM-CSF で 7 日間刺激し、骨髓由来培養樹状細胞 (BMDC) を樹立した。骨髓由来培養マクロファージ (BMMf) は、骨髓細胞を M-CSF で 6 日間培養して樹立した。それぞれの細胞 1×10^5 個に、イミキモドを 0, 0.1, 0.3, 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 添加して 24 時間培養した。培養上清中の IL-6 および TNF の産生量は Cytometric Bead Array (CBA) 法により測定した。

2. イミキモド誘導性乾癬モデルにおけるアラジン-1 の役割の検証

皮膚において樹状細胞およびマクロファージ細胞上のアラジン-1 の発現が欠失している LysM-Cre; Milr1^{fl/fl} コンディショナル KO (cKO) およびコントロールマウス Milr1^{fl/fl} の除毛した背部および右耳介にイミキモドを 5 日連続塗布し、その 2 群間での体重および乾癬様症状である発赤および鱗屑の経時比較観察を行った。

【結果】

1. TLR7 シグナルにおけるアラジン-1 の抑制機能の検証



BMMf をイミキモドで刺激すると、WT 由来と比較して KO 由来で IL-6 および TNF が共に有意に産生量が多いことが観察された。一方、BMDC では IL-6 および TNF 共に産生量に有意な差が観察されなかった。

2. イミキモド誘導性乾癬モデルにおけるアラジン-1 の役割

コントロールマウスと比較して cKO マウスでは発赤および鱗屑のスコアがそれぞれイミキモドを塗布して 3 および 4 日目に有意に増悪することが観察された。今後は共生細菌叢の関与を排除するため、これら 2 群のマウスを同一ケージで 4 週間飼育した後、イミキモドを塗布して症状を比較検討する。

【考察】

アラジン-1 は BMMf では TLR7 シグナルを抑制するが、BMDC では TLR7 シグナルを抑制しない可能性が示唆された。エンドソーム・リソソームに局在する TLR7 は、マクロファージにおいては細胞膜上にも局在することが報告されている。このことから、アラジン-1 は細胞膜上に局在する TLR7 を抑制する可能性があることが考えられた。

イミキモド誘導性乾癬モデルにおいて、cKO マウスで症状の増悪が観察されたことから、アラジン-1 は乾癬の症状を抑制する生理的役割を持つ可能性が示唆された。乾癬は TLR7 シグナル経路の活性化によって引き起こされ、その誘発に樹状細胞が大きな役割を果たすが、その後の病態の悪化の段階になると、IL-23 の増加によりマクロファージが活性化し、これにより TNF- α の産生量が増加することによって病態の悪化が亢進することが報告されている。これらのことより、アラジン-1 はイミキモド刺激によるマクロファージからの炎症性サイトカイン産生を抑制することで乾癬の病態を抑える可能性があることが示唆された。しかし、アラジン-1 は細胞膜上の TLR2 および TLR4 シグナルを抑えることから、これらの受容体のリガンドを有する共生細菌叢の影響を排除して乾癬モデルを検証する必要がある。