

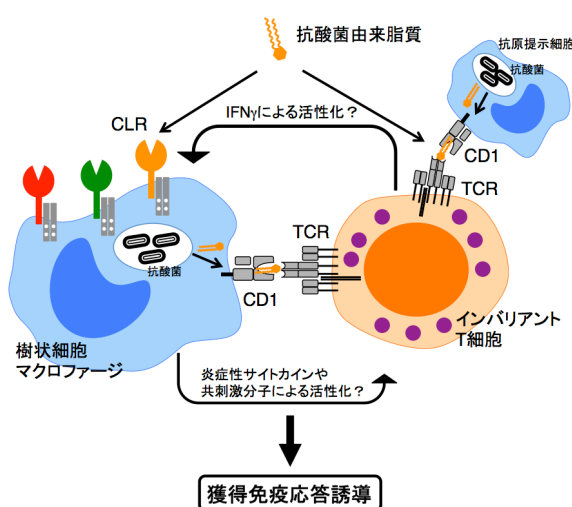
女性研究者支援 研究助成 2017—感染症領域—
研究成果報告書(公表用) <概要>

所 属	大阪大学 微生物病研究所
氏 名	石川 絵里
研究テーマ	C型レクチン受容体およびT細胞受容体に共通して認識される抗酸菌由来脂質の探索と新規免疫賦活法の確立

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

【研究目的】

結核菌を含む抗酸菌による感染症はいまだ世界的に高い罹患率の感染症であるが、直接抗酸菌を認識する宿主受容体の詳細は不明であった。我々はこれまでに、ミエロイド系細胞に発現するC型レクチン受容体(CLR)のMincle、Dectin-2、DCARがそれぞれ結核菌の脂質成分であるトレハロースジミコール酸(TDM)、リポアラビノマンナン(LAM)、フォスファチジルイノシトールマンノシド(PIM)を認識し、免疫賦活に働くことを報告してきた。一方、CD1拘束性のインバリアントT細胞受容体(iTCR)も抗酸菌由来の脂質を抗原として認識することが報告されている。本研究では、CLRおよびiTCRに共通して認識される”dual ligand”としての抗酸菌脂質を探索し、二種類の細胞を同時に活性化することができるような次世代ワクチンの開発に繋げることを目的とした(右図)。



【研究手法】

(1) 結核菌 H37Rv 株および BCG Tokyo 株より有機溶媒を用いて抽出した脂質成分をそれぞれ高性能薄層クロマトグラフィー(HPTLC)により16分画した。iTCRとCD1を発現するT細胞株を各画分で刺激し、活性化マーカーCD69の発現により活性を評価した。さらに、活性が見られた画分で、約40種類のCLRを発現するNFAT-GFPレポーター細胞ライブラリーを刺激し、GFPの発現によりリガンド活性を評価した。これにより、CLRとiTCRに共通して認識される画分の探索を行った。

(2) 活性の認められた画分でマウス骨髄由来樹状細胞を刺激してTNFやMIP-2等の炎症性サイトカイン・ケモカイン産生を見ることにより、免疫賦活作用を評価した。また、CLR下流のアダプター分子欠損細胞を用いて、CLR依存性を見た。

(3) 当初の予定にはなかったが、結核菌由来TDMと酷似した、Mincleに作用する免疫賦活脂質をサルモネラより見出し、共同研究として発表した(Reinink, *J. Exp. Med.*, 2019)。その構造的特性から他のC型レクチン受容体への作用を予測し、レポーター細胞ライブラリーを用いたスクリーニングを行った。

【研究成果】

(1) 結核菌 H37Rv 株のアセトン抽出物16画分でiTCR発現T細胞株を刺激したところ、画分8(Fr.8)でCD69の発現上昇が認められた。そこで、Fr.8でCLRレポーター細胞ライブラリーを刺激したところ、異なる二種類のCLRに活性が認められたことから、この画分はCLRとiTCRに共通して認識される脂質であると考えられ、当初の目的である、複数の細胞系譜を活性化し得る”dual ligand”を見出した。

(2) マウス骨髄由来樹状細胞を上記Fr.8で刺激したところ、TNFとMIP-2の産生が認められ、Fr.8が免疫賦活作用を有することが明らかとなった。このサイトカイン産生はCARD9欠損細胞でほぼ完全に抑えられたことから、CLR依存性であると考えられた。

(3) サルモネラ由来ジフォスファチジルトレハロース(diPT)が、Mincleのリガンドであることを見出し、発表した(Reinink, *J. Exp. Med.*, 2019)。また、Mincleとは別のCLRに対してもリガンドとして作用することを見出し、二種類のCLRを同時に活性化する”dual ligand”であることが明らかとなった。

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2018年12月	第47回日本免疫学会学術集会、 <u>ISHIKAWA Eri</u> and YAMASAKI Sho、Pivotal role of protein kinase D in innate-like T cell development.
2	2018年6月	第28回 Kyoto T cell conference、 <u>石川絵里</u> 、 <u>山崎晶</u> 、NKT細胞分化におけるPKDの役割
3		
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		