

# 樹状細胞分化を決定する骨髄微小環境におけるサイトカイン及び 転写因子ネットワーク機構の解明

## Analysis of cytokine and transcription factor signal transduction network in the bone marrow niche which regulating dendritic cell development

金沢医科大学 小内 伸幸

樹状細胞(dendritic cell: DC)は病原性微生物の抗原を T 細胞に提示して獲得免疫を誘導する重要な細胞である。申請者は DC のみに分化する前駆細胞、共通 DC 前駆細胞(common dendritic cell progenitor: CDP)をマウス骨髄から発見した。この CDP から DC への分化は骨髄内で決定されているが、その分子機序は明らかになっていない。本研究では共通 DC 前駆細胞を可視化して、骨髄内の局在を明らかにし、同前駆細胞と相互作用する微小環境(ニッチ)を同定し、さらにニッチ細胞由来の DC 分化決定因子を同定して DC 分化制御機構を解明することを目的とした。CDP は CD115<sup>+</sup>CDP と CD115<sup>-</sup>CDP の 2 つから構成されている。前者は Clec9A を発現し、抗 Clec9A 抗体染色により可視化が可能である。後者は形質細胞様 DC (plasmacytoid DC : pDC) 分化に必須な転写因子 E2-2 を高度に発現しており、CD115<sup>-</sup>CDP 可視化を目的として E2-2 遺伝子発現領域の下流に蛍光タンパク質遺伝子 Kusabiraorange を組み込んだトランスジェニックマウス(E2-2-KuOr) を作製した。Clec9A 陽性の CD115<sup>+</sup>CDP 及び E2-2- KuOr 陽性の CD115<sup>-</sup>CDP の骨髄内の分布及び各ニッチ細胞(細網細胞(PDGFR $\beta$ <sup>+</sup>)、骨芽細胞(Osteocalcin<sup>+</sup>)、血管内皮細胞(VE-cadherin<sup>+</sup>)との位置関係を解析した結果、CDP はこれらニッチ細胞と隣接しているわけではなく、骨髄内に一様に分散していた。Flt3 リガンド(FL)は DC 分化に必須なサイトカインである。このため DC 分化制御機構を解明するため FL 産生細胞を明らかにすることは重要である。このため、FL 遺伝子発現制御領域の下流に蛍光タンパク質遺伝子 mCherry を組み込んだレポーターマウス(FL-mCherry マウス) を作製した。FL-mCherry レポーターマウスの骨髄から各ニッチ骨芽細胞を調整し、FL-mCherry の発現を解析したところ、FL-mCherry の発現はほとんど検出されなかった。従来 FL はストローマ細胞が産生すると考えられていたため、この結果は予想外であった。次に骨髄内各免疫細胞における FL-mCherry の発現を解析したところ、T 細胞、NK 細胞、NK-T 細胞にて発現が検出され、特にメモリー T 細胞において発現が高かった。骨髄内ニッチ細胞は造血幹細胞と相互作用し、サイトカインやケモカイン等を発現して造血幹細胞の機能を維持している。このためこれらニッチ細胞は他の血液前駆細胞の分化制御にも関与していることと考えられていた。本研究で CDP とニッチ細胞との相互関係を検討した結果、CDP は各ニッチ細胞とは隣接していなかった。ニッチ細胞が DC の分化制御に関与するかどうかは未だに不明であるが、少なくとも直接相互作用して DC 分化を制御している可能性はない。また、DC 分化に不可欠なサイトカイン FL 産生細胞を検討した結果、驚くべきことにメモリー T 細胞が主な産生細胞であった。ナイーブ T 細胞を抗原刺激すると、FL の産生量が増加することも見出した。また骨髄内に存在する T 細胞は多くが活性化したメモリータイプである。これらの結果から、CDP から分化した DC は末梢のリンパ節内でナイーブ T 細胞に抗原を提示し、活性化させ免疫反応を始動させる。抗原刺激を受けたナイーブ T 細胞はメモリー T 細胞へと分化する。一部のメモリー T 細胞は骨髄へと移行し FL を産生して DC 分化誘導に関与するモデルが示唆された。今後は、この T 細胞による DC 分化制御の重要性及び免疫学的な意義を検討する予定である。