

## 胎児期における樹状細胞の分化制御機構解明と炎症性疾患における役割の解明

小内伸幸

金沢医科大学医学部 免疫学講座

### 【研究の背景】

胎児は父親由来の組織適合性抗原を発現しているため、母親にとっては異物となり拒絶反応を誘導する可能性がある。しかし、免疫寛容が働き、胎児が母親由来の免疫細胞から攻撃されずに妊娠が維持される。この妊娠期の免疫寛容には免疫抑制分子や制御性 T 細胞、抑制性 NK 細胞により制御されている<sup>1)</sup>。実際、妊娠中の母体の感染や炎症が胎児の脳の発達や自閉症発症に影響を及ぼすことが報告されている<sup>2)</sup>。しかし、胎生期における病原性微生物を感知する免疫反応、特に免疫担当細胞に関しては不明である。現在まで、胎生期における樹状細胞の存在の有無、その機能や分化制御機構、さらに免疫・炎症反応の制御機構は全く不明である。

### 【目 的】

我々は胎齢 14 日から 18 日の胎仔肝臓中にマクロファージとは異なる新規樹状細胞様細胞を見出し、成人期樹状細胞と同様に CD11c と MHC class II 分子を発現していることを確認している。本研究では、この樹状細胞様細胞の機能を検討し、その免疫学的な役割を明らかにすることを目的とする。

### 【方 法】

C57BL/6J 妊娠マウスの胎齢 14-15 日の胎仔肝臓を取り出し、コラゲナーゼと DNaseI 処理を行い、CD11c マイクロビーズと AutoMACSpro を用いて CD11c<sup>+</sup>樹状細胞様細胞を純化する。純化した同細胞を蛍光標識された抗体にて染色し、各種細胞表面抗原の発現をフローサイトメーターにて解析する。CD11c<sup>+</sup>樹状細胞様細胞を TLR リガンドである LPS、CpG 及び polyI:C にて刺激する。その後、様々なサイトカインの産生量を LEGNDprex ビーズとフローサイトメーターを用いて測定する。また、アロ抗原である BALB/c マウスやオボアルブミンのみに反応する T 細胞受容体を発現する OT-I マウスの脾臓から T 細胞を純化し、蛍光色素 CFSE にて標識し、CD11c<sup>+</sup>樹状細胞様細胞と共培養することで食能力、抗原提示能力及び T 細胞増殖誘導能力を評価する。

### 【結 果】

胎仔肝臓から調整した CD11c<sup>+</sup>樹状細胞様細胞は CD11c<sup>+</sup>PDCA-1<sup>-</sup>の従来型樹状細胞 (conventional dendritic cell: cDC) と CD11c<sup>+</sup>PDCA-1<sup>+</sup>形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cell: pDC) から形成されていた。成体期のリンパ組織の cDC は CD8 $\alpha$  を発現する cDC1 と CD11b を発現する cDC2 に大別される。そこで、胎仔肝臓由来の cDC における CD8 $\alpha$  と CD11b の発現を検討したところ、ほとんどの cDC が CD11b を発現し、CD8 $\alpha$  を発現する cDC1 は存在しなかった。次に胎仔肝臓由来の cDC を BALB/c マウス由来の T 細胞と共培養し、混合リンパ球反応実験を行ったところ、CD8<sup>+</sup>T 細胞よりも CD4<sup>+</sup>T 細胞への強い増殖誘導能を有していた。また胎仔肝臓由来 cDC を CpG や polyI:C で刺激を行うと CD8<sup>+</sup>T 細胞の増殖誘導能が増強し、CD4<sup>+</sup>T 細胞への増殖誘導能が低下した。次に胎仔肝臓由来 cDC を LPS、CpG と polyI:C で刺激後、様々な炎症性サイトカイン mRNA 発現を検討した。この結果、胎仔肝臓由来 cDC は LPS、CpG、polyI:C 刺激後、抑

制性サイトカインである TGF- $\beta$  と IL-10 の mRNA 発現レベルが成体期 cDC よりも有意に高かった。

### 【考 察】

本研究において我々は胎仔肝臓中に CD11c を発現する樹状細胞様細胞を見出した。この細胞は成体期と同様に cDC と pDC から形成されていた。興味深いのは胎仔肝臓では、cDC1 がほとんど存在せずに、その多くが cDC2 であった。この胎生期 cDC2 は成体期 cDC2 と同様に CD4<sup>+</sup>T 細胞への強力な抗原提示能力と増殖誘導能を示した。また、胎生期 cDC2 は成体期 cDC と比較して抑制性サイトカインである TGF- $\beta$  と IL-10 の発現レベルが高かった。cDC1 はクロスプレゼンテーション能力を有し、CD8<sup>+</sup>T 細胞を活性化し、細菌やウイルス感染に対する獲得免疫を誘導する。この cDC1 が胎仔肝臓中にはほとんど存在しない点と胎仔肝臓由来 cDC2 は CD4<sup>+</sup>T 細胞への抗原定時能力を有し、抑制性サイトカイン TGF- $\beta$  と IL-10 の産生能力が高い点から、同細胞は制御性 T 細胞を誘導し、妊娠期の免疫寛容に寄与している可能性が示唆された。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究成果によって胎生期の胎仔肝臓中に樹状細胞が存在することが明らかになり、同細胞が制御性 T 細胞誘導し、免疫寛容に寄与する可能性が示唆された。妊娠期では免疫寛容が働き、胎児が母親由来の免疫細胞から攻撃されずに妊娠が維持されている。この免疫寛容の仕組みを理解することは、自己免疫疾患や移植医療に貢献する可能性があり、基礎医学・臨床研究において重要な研究成果である。

### 【参考・引用文献】

- 1) Adkins B, Leclerc C, Marshall-Clarke S. Neonatal adaptive immunity comes of age. *Nat Rev Immunol.* **4**, 553-64 (2004)
- 2) Yim, Y. et al. Reversing behavioural abnormalities in mice exposed to maternal inflammation. *Nature* **549**, 482-487 (2017).