

Meeting Report

12th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2003

Utsunomiya, Japan; June 19 and 20, 2003

本シンポジウムはマクロファージ分子細胞生物学研究会の年次総会として開催されたものである。今回は特に「脾臓の生体防御機構」「マクロファージ・樹状細胞の遊走と免疫応答」ならびに「マクロファージ・樹状細胞とアレルギー疾患」という3つの絞り込んだセッションを設定し、海外招待演者8名ならびに国内招待演者9名による講演および討論をおこなった。また、ポスター演題は25題の発表があり、今回から新たな活性化の試みとして、マクロファージ分子細胞生物学研究会奨励賞を設け、優秀ポスターを選考した。1位には、P15のDr. Manabu Ato, et al.: Localization of marginal zone macrophages is regulated by CCR7 signalling. が、2位には、P17のDr. Kazuya Kinoshita, et al.: Possible involvement of muscularis resident macrophages in the impairments of interstitial cells of Cajal and myenteric nerve systems in Crohn's colitis model. が入賞し、表彰と発表が行われた。まる2日間にわたって、招待演者を中心に活発な質問や討議、共同研究の打ち合わせなどがなされ、国内外の研究者間の研究交流の場を提供できたという意味でも、非常に有意義であったと思われる。

Session 1: Role of Macrophages/DCs in Allergy and Autoimmune Diseases

1. Susumu Ikehara (Kansai Medical University): Autoimmune diseases as stem cell disorders: Abnormalities of hemopoietic cells including dendritic cells

造血幹細胞異常症（樹状細胞の異常を含む）としての自己免疫疾患

池原らのグループ(関西医大)は、これまでに、自己免疫疾患は造血幹細胞の異常に起因し、同種骨髄移植によって、自己免疫疾患が治療できることを見出している。彼らは、自己免疫マウスを用いてDCにも異常があり、発症したDCを発症前の自己免疫マウスに移入すると自己免疫疾患が早期に発症してくることを見出している。彼らは、最近、アロの新しい骨髄移植の方法を開発した。すなわち、骨髄内骨髄移植法でこの方法をヒトへ応用するために現在、サルを用いて安全性と有効性を確認している。この方法は、これまでの骨髄移植方法を代える画期的な方法で、遺伝子治療、臓器移植、再生治療にも効果が期待される。

2. Richard K Burt (Northwestern University Medical Center): Embryonic stem cells as an alternative donor marrow source and adoptive cellular (e.g. macrophage) source.

Embryonic stem cells (ESCs)を骨髄移植や細胞治療に利用

Burtらのグループ(Northwestern大)は、マウスのESCsを選択的にin vivoで造血系への分化を誘導することによって、移植に利用することを試みた。マウスのESC line(R1:H-2^b)をembryonic fibroblastと培養し、メチルセルロースを用いた造血系への分化誘導用のmediumを用いて選択的に造血系への分化を誘導し、放射線照射(5.5Gy)BALB/cマウス(H-2^d)の骨髄内に投与した。4~8週後にドナー由来のリンパ球(15%)と単球(30%)が検出できた。以上の結果は、ESCsを用いて造血系への分化(特に単球, リンパ球への分化)をin vivoでも選択的に誘導できることを示している。

3. Nobuhiro Yuki (Dokkyo University School of Medicine): Pathogenesis of Guillain-Barre Syndrome subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis

*Campylobacter jejuni*の感染後に発症するGuillain-Barre Syndrome (GBS)の病因の解析

1989年、Yukiらのグループ(獨協医大)は、*C. jejuni* 感染がGBSを起こすことを最初に報告した。彼らは、anti-GM1抗体の病因を明らかにするために、GM1をウサギに注射した所、四肢の麻痺が起った。ウサギのIgGはGM1に結合し、IgGが末梢神経のaxonに沈着し、電子顕微鏡でマクロファージがそのaxonを攻撃していることを見出した。彼らは、また、GM1-like LPSでウサギを感作し、*C. jejuni* enteritisに引き続いて起るacute motor axonal neuropathy (AMAN)の病因を解析し、次ぎのような仮説をたてている。i)GM1-like LPSを有する*C. jejuni*の感染によってanti-GM1 IgG Absが産生される。ii)このAbsがnodal axolemmaに結合し、補体も結合する。iii)Anti-GM1 IgGと活性化された補体がinternodeのperiaxonal spaceに入り、macrophageを呼び寄せる。iv)Anti-GM1 IgG Ab-dependent, complement- and macrophage-mediated cytotoxicityによりaxonal degenerationが起る。

4. Gunther Hartmann (Ludwig-Maximilian-University of Munich): The plasmacytoid dendritic cell and CpG oligonucleotides in immunotherapy

免疫療法における plasmacytoid DC (PDC) と CpG oligonucleotides の役割

PDCはウイルス感染の際、大量のtype I IFNを産生する。一方、他のDCは広範囲にTLRs、特にTLR7とTLR9を発現している。今のところ、CpG DNAはPDCによって認識される唯一のmicrobial moleculeであるが、他のmicrobial molecules (LPSやpoly I:C等)は、TLRsがないためにPDCを刺激できない。Hartmannらのグループ(Ludwig-Maximilian大)はPDCがTh1とTh2/Th0 responseのswitchboardとして働いているのではないかという仮説で仕事をしている。すなわち、適当なmicrobialの刺激がないとPDCはTh0 or Th2 responseを誘導するが、CpG DNAのようなmicrobialの刺激があると、PDCはTh1 responseを誘導する。そこで癌の免疫療法としてCpG ODNとPDCを用いて、腫瘍を治療することに彼らは成功した。以上の結果から、このCpG ODNはPDCに対してユニークなmicrobial stimulusであることが明らかになった。

Session 2: Role of Spleen in the Host Defense

1. Kenjiro MATSUNO Dokkyo University, School of Medicine, Tochigi 321-0293, Japan :Still unresolved mysteries of the spleen

未だに解明されない脾臓の謎

松野(獨協医大)らは、脾臓に関して5つの謎を提示した。(1)白脾髄にリンパ球が入るためのホーミング分子は何か？、(2)辺縁帯型のB細胞の役割とB1 B細胞との関連は何か？(3)辺縁帯型のマクロファージとmarginal metallophilic macrophageの役割は何か？(4)脾臓からの静脈血が門脈から肝臓へ入る意味は何か？(5)脾臓は無くても良いと言われるが、生体防御に本当に不必要か？ 現在のところ考えられる答えは、(1)辺縁帯血管洞の内皮細胞上のMadCAM1ではないか、(2)莢膜多糖体を持った肺炎双球菌などの細菌に対して抗体を作ることができる細胞であり、抗原提示にも関わっているとされる、(3)不明である、(4)赤脾髄に貯蔵されている血小板由来増殖因子、PDGFが肝障害の時などに肝臓に流れ込んで肝細胞の再生を促す、(5)ライシュマニア感染症の肝抵抗性を脾臓が促進する。脾摘をした人は、莢膜を持つ細菌やマラリアに対して、重篤な敗血症を特に起こしやすくなる、となった。

2. Hiromichi Tsurui Department of Pathology, Juntendo Univ. Sch. Med.: Structure of mouse spleen investigated by hyper-spectral imaging

多変量スペクトル解析によるマウス脾臓の構築

鶴井ら(順天堂大)は、Fourier spectroscopy and singular value decomposition に基づいた7色以上の蛍光描画法を開発した。マウスにCFSE標識のアポトーシスを起こした細胞を静脈投与すると赤脾髄マクロファージ(F4/80陽性, BM8陽性, Mac3陰性, MOMA2陰性)や白脾髄のリンパ濾胞とPALSのマクロファージ(F4/80陰性, BM8陰性, Mac3陽性, MOMA2陽性)に取り込まれた。CFSE標識細胞を貪食した細胞全部がCD8陽性, CD11b陽性であった。一方、ザイモザンを投与した場合は、CD11b陽性DCにかなりの割合で取り込まれた。大腸菌に関しては、脾臓のDCはほとんど貪食せず、貪食が見られたDCは全てCD11b陽性であった。

3. Peter J.L. Lane University of Birmingham: Signals and cells for memory CD4 T cells

メモリーCD4 T細胞に必要なシグナルと細胞について

Lane (Birmingham大)らのグループは、脾臓のPALS辺縁部とリンパ濾胞に存在し、感作およびメモリーT細胞と相互作用する、ユニークなCD4陽性CD3陰性の間質細胞の存在を示した。この細胞は、Flt3リガンドに反応せず、抗原をプロセスもできない、従来のDCとは異なる細胞である。この間質細胞は、CD80/86陰性だが、TNFリガンド、OX40リガンドとCD30リガンドを高濃度に発現している。Th2細胞はこれらのTNFリガンドに対する受容体を発現し、この細胞と共培養することにより生存率が向上する。さらに、OX40陽性T細胞の生存率とメモリーT細胞のB細胞に対するヘルパー機能はin vivoでのこの間質細胞との近接・接着により有意に高まることが示された。

4. John Kearney The University of Alabama at Birmingham: Marginal Zone B cells: Development and Function

辺縁帯型B細胞の分化と機能

Kearney (Alabama大)らのグループは、特殊なB細胞の亜集団である脾臓辺縁帯B細胞とB1細胞について発表した。これらの細胞は、貪食した細菌を血液から脾臓に輸送するCD11c弱陽性の未熟DCとの相互作用により、胸腺非依存性の細菌莢膜抗原に対する早期抗体産生応答を担う。CD11c弱陽性の未熟DCは、必須の生存シグナルであるTAC1を抗原特異的辺縁帯B細胞に出し、IgM分泌性プラズマ芽球への分化を促す。

5. Paul M. Kaye London School of Hygiene and Tropical Medicine: The spleen response to Leishmania donovani infection: a model for macrophage and dendritic cell function in chronic infectious disease

Leishmania donovani 感染に対する脾臓の反応：慢性感染症におけるマクロファージとDCの機能解析モデル

Kaye らのグループ(London School of Hygiene and Tropical Medicine)は、マウス内臓性 leishmaniasis の脾臓における遷延性慢性感染モデルを発表した。このモデルでは、辺縁帯マクロファージの消失とT細胞の遊走低下; T細胞領域の間質細胞の消失とそれに伴うCCL21とCCL19ケモカインの産生障害; TNF α 依存性でIL-10を介したCCR7の発現障害によるDCのT細胞領域への遊走阻害何度がおこった。遊走型の脾臓DCは、感染マウスの間質細胞によってのみ数が増加した。感染マウスの間質細胞はDCとの結合を介した相互作用により、外来性サイトカインなしに、DCの増加を促進した。この条件下で増加したDCはCD11c弱陽性でCD11b陽性だった。

Session 3: Trafficking of macrophages and DCs in immune responses I

1. Yosuke Takahama (University of Tokushima): Visualizing the movement of developing T cells in the thymus

胸腺における T 細胞動態の可視化

T 細胞は胸腺で教育を受ける課程において皮質から髄質へと遊走するが、その機序は未だに解明されていない。高濱グループ（徳島大・理研）は Two-photon レーザー顕微鏡を駆使し、蛍光標識した T 細胞の胸腺内動態をリアルタイムで可視化することに成功し、かつ多数の遺伝子欠損マウスを用いてその動態を制御する因子の同定を試みた。彼等はまず成熟 T 細胞が胸腺から全身循環に入る際にはケモカイン CCL19 および CCL21 と CCR7 のシステムが必須であること新生仔マウスで示した。次に未成熟な T 細胞の皮質内動態を見るとそのほとんどは活発には動いておらず、わずかな細胞が緩やかに移動するのみであった。しかもこの動態は T 細胞受容体欠損マウスではほとんど認めなかった。しかしながらこのような緩やかな動態は T 細胞受容体からシグナルを受けるのにむしろ好都合であり、T 細胞がポジティブセクションを受け皮質から髄質へ移行するための重要な動態様式であると推測している。

2. Klaus Ley (University of Virginia): Leukocyte and monocyte trafficking in inflammation and atherosclerosis

動脈硬化における単球の動態

Ley (Virginia 大)らは動脈硬化の病態形成において、単球が内皮細胞上に接着停止 (arrest) する機序を研究した。彼等はまず血管内皮細胞上に固相化されたケモカインが単球の停止に重要であることを示し、CCL5、CXCL1 などを「停止ケモカイン (arrested chemokines)」と言及した。更にストロボ蛍光顕微鏡ビデオを駆使し、単球と血管内皮との接着には血小板が重要な役割を演じていることを示した。血小板は自身の産生する CCL5 を内皮上に“固相化”することで、単球と内皮細胞との VCAM-1 を介した接着を強固にするのみならず、血小板自身も単球と凝集塊を作り、内皮細胞との物理的な“橋渡し”をしていることが判明した。これらの反応は P-セレクトリン依存的であることも、P-セレクトリン欠損血小板の Apoe 欠損動脈硬化マウスへの移入実験によって示された。

3. Gordon MacPherson (University of Oxford): Dendritic cell migration in lymph from peripheral tissues

末梢からリンパ節への DC の遊走

MacPherson G. (Oxford)のグループはラットにおける腸管リンパ DC の遊走を研究してきている。(腸間膜リンパ節を除去後、胸管にカニューレーションすることで腸管リンパ DC を獲得。) 定常状態における腸管から腸間膜リンパ節へと移動する DC には 2 つのフェノタイプがあるという。OX41⁻ DC は、恒常的な腸管上皮新生に派生するアポトーシスに陥った上皮細胞を所属リンパ節の T 細胞領域に輸送することから、自己細胞に対する免疫寛容の誘導に関与していることが示唆された。一方、OX41⁺ DC は炎症性の刺激により所属リンパ節の T 細胞領域まで遊走し得ることから、免疫活性に対する役割が示唆される。マウスの伝達性海綿状脳症 (TSE) モデルにおいては、腸管粘膜の感染型プリオン蛋白 (PrP^{Sc}) を DC がサンプルし、所属リンパ節に輸送することが示され、瀘胞での複製に関与すると示唆された。質疑応答であったように、これらの結果は、恒常的な DC の遊走パターンを規定している因子を現在の視点で、かつ末梢性免疫寛容との関連からも再検討する必要性を示唆している。

4. Hiroyuki Yoneyama (The University of Tokyo): The in vivo trafficking, relationship, and function of myeloid and plasmacytoid DC precursors

骨髄系 DC 前駆体と形質細胞様 DC 前駆体の生体内動態機能と相互作用

米山ら(東京大学)は、炎症時に血中に動員されるマウス骨髄系 DC (mDC) 前駆体を同定し、その生体内動態を肉芽形成性肝障害モデルで解析してきた。今回、マウス血中形質細胞様 DC (pDC) 前駆体の生体内動態をヘルペス感染モデルで解析した。pDC 前駆体は血中から高内皮細静脈を介してリンパ節へ移入し、抗原提示 mDC と非常によく接触していることが初めて明かされた。また彼等はこのような pDC のリンパ節流入による mDC との相互作用は、mDC が抗ウイルス CTL を誘導するために不可欠であることを示した。抗原提示機能と遊走経路の全く異なるこの 2 つの前駆体の絶妙なコンビネーションが、生体防御に極めて重要であるという新しいコンセプトの提唱である。

Session 3: Trafficking of macrophages and DCs in immune responses II

1. Teunis B.H. Geijtenbeek (Free University Medical Center Amsterdam): A fatal attraction: Mycobacterium tuberculosis and HIV-1 target DC-SIGN to escape immune surveillance

致命的な誘引：結核菌と HIV-1 は DC-SIGN を標的として免疫監視機構から逃れる

Geijtenbeek (Amsterdam 大) と共同研究者は DC の機能における糖鎖認識の重要性を明らかにしてきた。DC 特異的な C 型レクチンのひとつとして同定された DC-SIGN は HIV-1、Ebola ウイルス、サイトメガロウイルス、結核菌など多種多様な病原体を捕捉する受容体である。DC はこのような病原体に対して防御を行うが、DC の機能を破壊して免疫監視機構から逃れるような病原体の存在が近年明らかになってきた。Geijtenbeek は DC-SIGN について、特に DC の成熟化に対する抑制シグナルの伝達における DC-SIGN の役割についての最近の成果を報告した。DC-SIGN は、結核菌の細胞壁成分であるマンノース結合リポアラビノマンナン (ManLAM) を介して結核菌を捕捉し、これを取り込むが、この ManLAM と DC-SIGN の結合は結核菌や LPS によって誘導される DC の成熟化を阻害した。この結果から、結核菌は DC-SIGN を標的として結合することにより DC に感染し、さらに Toll-like 受容体を介した DC の成熟化を阻害することにより、DC を介する免疫反応を抑制することが示唆された。

2. Nobuaki Higashi (The University of Tokyo): Heparanase at the invasive edge of migrating macrophages

ヘパラーナーゼは遊走マクロファージの浸潤先端に局在する

基底膜の主要な構成要素であるヘパラン硫酸プロテオグリカン(HPG)は基底膜の構造を保持し、また成長因子やサイトカインの貯蔵庫となっている。それゆえ、ヘパラン硫酸プロテオグリカンの分解は経内皮細胞遊走を含む多くの生物現象の調節を決定する段階のひとつであろう。東(東京)とその共同研究者はヘパラン硫酸特異的なエンドβグルクロニダーゼであるヘパラーナーゼのマクロファージにおける活性調節機構を検討し、その活性制御が酵素の細胞内分布の変化によって行われる可能性を示した。ホルボールエステル処理した U937 細胞はヘパラーナーゼを細胞表面に発現していた。接着によってこの酵素は脂質ミクロドメインと思われる細胞表面上の限られた領域に集積し、遊走時には遊走因子の濃度の高い側に向かって再分布した。この結果と抗ヘパラーナーゼモノクローナル抗体を用いた阻害実験から、遊走先端に濃縮されたヘパラーナーゼが単球の経内皮細胞遊走に関与することが示唆された。

3. Tatsuhiko Kodama (The University of Tokyo): Transcriptome analysis of monocyte/macrophage differentiation and monocyte/endothelial cell interaction

単球／マクロファージの分化と単球／血管内皮細胞の相互作用におけるトランスクリプトーム解析

生物学的現象の各過程における RNA 発現プロファイルの全体をモニターすることにより、この現象を包括的に理解することが可能になる。児玉グループ（東京）はヒト組織の包括的 RNA 発現データベースを確立した。これを用いることにより、マクロファージの分化を多数の遺伝子の RNA 発現変化として記述することに成功した。講演では時間変化の重要性が強調されていた。包括的データから、マクロファージ分化の初期と後期を定義するような一連の異なる遺伝子グループが見出された。接着分子の例では、ICAM-1 が分化初期に発現するのに対し、VCAM-1 は後期に発現した。この違いは GATA-3 転写因子の関与の有無と相関していた。彼らのデータベースは細胞の分化や活性化といった多数の細胞の現象を *in silico* で記述するための有力な道具となるものである。