



CLEC10A expression defines functionally distinct subsets of conventional type 2 dendritic cells (cDC2) in the mouse lung

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2024-03-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 二橋, 文哉 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/0002000121

博士（医学）二橋 文哉

論文題目

CLEC10A expression defines functionally distinct subsets of conventional type 2 dendritic cells (cDC2) in the mouse lung

（CLEC10A の発現が、マウス肺における従来型 2 型樹状細胞（cDC2）の機能的に異なるサブセットを規定する）

論文の内容の要旨

肺樹状細胞（lung dendritic cell; LDC）は、喘息やアレルギー性気道炎症等の疾患における免疫反応に極めて重要である。樹状細胞は抗原提示能力を持つ従来型 DC (conventional DC; cDC) と 1 型インターフェロンを産生する形質細胞様 DC に分類される。cDC は従来型 1 型 (cDC1) と 2 型 (cDC2) に更に分類され、cDC2 は CD4⁺ T 細胞を活性化する重要な役割を果たす一方、cDC1 は優先的に CD8⁺ T 細胞を刺激する。近年、cDC2 内の不均一性が強調され、C 型レクチンドメインファミリー 10 メンバー A (CLEC10A) と CLEC12A に基づく脾臓の 2 つの異なる cDC2 サブセットが同定された。この 2 つの cDC2 サブセットは、様々な臓器で機能的に異なることが示されているが、マウスの肺における役割は完全に解明されていない。CLEC10A は、糖鎖を認識するパターン認識受容体のサブファミリーに属する C 型レクチン受容体 (CLR) である。多臓器のマクロファージや DC に発現する CLR はサイトカイン産生を引き起こし、恒常性の維持や免疫調節を行う。更に CLR は免疫細胞遊走、T 細胞分化、抗体産生において重要な役割を担う。興味深い事に、最近の研究により、CLEC10A の発現に基づく 2 つの脾臓 cDC2 サブセットの共刺激分子の発現と T 細胞増殖能が異なることが分かった。いくつかの CLR はアレルギー性気道炎症を悪化させ、CD4⁺ T 細胞応答を誘導するために DC を活性化するが、肺において CLEC10A を発現する新たに同定された cDC2 サブセットに関して情報はほとんどない。本研究では、卵白アルブミン (OVA) 感作喘息モデルマウスを用いて、CLEC10A 発現によって分類した 2 つの cDC2 サブセットの機能的差異を検討した。

[材料ならびに方法]

OVA で感作した C57BL/6 マウスから肺を摘出し酵素処理後、磁気分離装置とフローサイトメトリー (FACS) を用いて、cDC1 と CLEC10A⁺cDC2 と CLEC10A⁻cDC2 の 3 つの LDC サブセットを単細胞分離し、同モデルマウスのサブセットの比率、RNA シーケンスを用いた遺伝子発現解析を行った。次に FACS を用いて共刺激分子等の表面分子の発現や OVA 抗原貪食能を CLEC10A⁺cDC2 と CLEC10A⁻cDC2 のサブセット間で比較した。更に OVA に特異的な T 細胞受容体を選択的に発現する CD4⁺ T 細胞を有する OT-II 遺伝子改変マウスの脾臓から採取したナイーブ CD4⁺ T 細胞との共培養アッセイによる CD4⁺ T 細胞増殖能と Toll

様受容体 (TLR) の刺激によるサイトカイン産生能を解析した。本研究は本学組換え DNA 実験安全委員会 (承認番号 2-13) 及び動物実験委員会 (承認番号 R02-040) の承認を得て実施した。

[結果]

マウス肺の LDC は、cDC1 と cDC2 に分類され、cDC2 は CLEC10A の発現に基づき CLEC10A⁺cDC2 と CLEC10A⁻cDC2 に細分化できた。OVA 感作により肺と縦隔リンパ節で CLEC10A⁺cDC2 と CLEC10A⁻cDC2 の比率は増加した。この 2 つの cDC2 サブセットの RNA シーケンス解析の結果、6330 個の遺伝子発現に差を認め、遺伝子セット濃縮解析から CLEC10A⁺cDC2 でエンドペプチダーゼ活性、主要組織適合性複合体、外因性タンパク質結合に関連する遺伝子群の発現が変動し、CLEC10A⁻cDC2 でオリゴペプチド、ペプチドグリカン、プロテオグリカンへの結合とタンパク質活性化カスケードに関わる遺伝子群の発現が変動していたことがわかった。更に CLEC10A⁺cDC2 では、cDC2 の分化に関連する転写因子と共刺激分子の RNA 発現が高く、CLEC10A⁻cDC2 ではある特定のサイトカインとサイトカイン受容体に関連する RNA 発現が高かった。パターン認識受容体の RNA 発現では、*Clec7a* と *Clec9a* を除く CLR は CLEC10A⁻cDC2 よりも CLEC10A⁺cDC2 で高く、各 TLR も 2 つの cDC2 サブセット間で異なっていた。また、OVA 感作後の表面分子は、どちらの cDC2 サブセットも MHC クラス II、CLEC12A、CD40、CD80 の高い発現を示し、CLEC10A⁻cDC2 よりも CLEC10A⁺cDC2 の方が有意に高かった。CLEC10A⁺cDC2 は CLEC10A⁻cDC2 と比較して、OVA 抗原の取り込み率が高く、共培養アッセイでは有意に高い CD4⁺T 細胞の増殖率と GATA3 の発現誘導を示した。CLEC10A⁺cDC2 共培養上清で IL-2 と IL-6 は CLEC10A-cDC2 共培養上清よりも有意に上昇したが、IL-4 に統計学的有意差はなかった。一方で、サイトカイン産生能は、CLEC10A⁻cDC2 は CLEC10A⁺cDC2 よりも様々な TLR リガンドに対し有意に多くの IL-6 と TNF を分泌した。

[考察]

本研究により OVA 感作喘息モデルマウスの肺には CLEC10A の発現に基づく CLEC10A⁺cDC2 と CLEC10A⁻cDC2 の 2 つの cDC2 サブセットが存在し、CLEC10A⁺cDC2 は CLEC10A⁻cDC2 よりも効果的に抗原を貪食し、OVA 感作マウスにおいて抗原特異的 CD4⁺T 細胞増殖を誘導することを示した一方で、CLEC10A⁻cDC2 は炎症性サイトカインの産生に優れていることを明らかにした。既報ではマウス脾臓のシングルセル解析を用いて T-bet の発現による cDC2 サブセットを規定し、その中で CLEC10A⁺cDC2 は炎症性サブセットとして IL-6 と TNF の産生が高い一方、CLEC10A⁻cDC2 は抗炎症性であることを示し、本研究の結果と矛盾していた。相反する結果を説明するため、2 つの cDC2 サブセット間の T-bet 発現量を調べたところ、差は認めなかった。彼らが分類した cDC2 サ

ブセットは、我々が CLEC10A に基づいて分類した cDC2 サブセットとは対象が異なるため、この違いの原因の一つになっていると考えられる。更に cDC2 の由来臓器や抗原刺激が異なることも既報との結果の相違になった可能性が考えられた。

[結論]

CLEC10A の発現が、マウス肺における機能的に異なる 2 つの cDC2 サブセットを規定し、CLEC10A⁺ cDC2 は効率的に T 細胞免疫を誘導できることを示唆している。