

平成 22 年 5 月 21 日

東京大学医科学研究所

真菌に対する感染防御のしくみを解明 (新規治療法の開発や機能性食品の開発に有用)

JST 課題解決型基礎研究の一環として、東京大学医科学研究所の岩倉洋一郎教授らは、真菌に対する感染防御機構を明らかにしました。カンジダなどの真菌は常在菌として健康な人の皮膚や粘膜などに存在し、健康に害を及ぼすことはありません。一方で、免疫力が低下した人に対しては命を脅かす重篤な病態を引き起こすことがあります。ところが、これまで真菌類に対する感染防御機構は良く判っておりませんでした。

このしくみをマウスモデルで調べ、デクチン-2 とよばれる樹状細胞^{注1)}の表面にあるタンパク質が、カンジダの感染防御に重要な役割を果たしていることを突き止めました。デクチン-2 は、真菌の細胞壁を構成する糖鎖の一つである α -マンナンを認識し、細胞内にシグナルを伝え、サイトカイン^{注2)}とよばれるタンパク質を生産します。そのサイトカインが T 細胞の中の Th17 細胞^{注3)}とよばれる特殊な亜集団の分化を誘導する事によって、カンジダ感染防御に重要な役割を果たしている事がわかりました。

本研究の成果は真菌感染の治療や、酵母やキノコなどの α -マンナン含有食品の有効利用に役立つことが期待されます。

本研究は、東京大学医科学研究所の西城忍助教らの他、東京薬科大学、理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター、東北大学、東邦大学、大阪大学のグループとの共同で行われ、戦略的創造研究推進事業 (CREST) の他、生物系特定産業技術研究支援センター (生研センター)、文部科学省の支援を受けて行われました。

本研究成果は、2010年5月20日に米国科学誌「Immunity」のオンライン速報版で公開されました。

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

戦略的創造研究推進事業 チーム型研究（CREST）

研究領域：「アレルギー疾患・自己免疫疾患などの発症機構と治療技術」

（研究総括：菅村和夫 宮城県立がんセンター 総長）

研究課題名：IL-17 ファミリー分子、C型レクチンを標的とした自己免疫・アレルギー疾患の発症機構の解明と治療薬の開発

研究代表者：岩倉洋一郎

研究期間：平成20年10月～平成26年3月

JSTはこの領域で、アレルギー疾患や自己免疫疾患を中心とするヒトの免疫疾患を予防・診断・治療することを目的に、免疫システムを適正に機能させる基盤技術の構築を目指しています。上記研究課題では、IL-17 ファミリー分子、及びC型レクチンを標的とした自己免疫疾患・アレルギー疾患の発症機構を解明し、最終的に治療薬の開発に結びつけることを目指しています。

<研究の背景と経緯>

真菌類には食用キノコや酵母、カビなどが含まれ、細胞壁はマンナン、 β -グルカン、キチンなどの多糖類で構成されていることが知られています。キノコや酵母などは食用に供され、その構成成分中には免疫系を活性化するとされているものも存在しています。一方で、カビは常在菌として環境中に存在し、人に病原性を示すものもあります。しかしながら、これまでこのような真菌類の免疫系に対する作用や、感染防御機構はよくわかっておらず、明確な実験的証拠が示されておりませんでした。本研究は真菌のうち、人に対して重篤な症状を引き起こす事のある、*Candida albicans* (カンジダ菌) に対する感染防御機構を解析したものです。

カンジダ菌は人に感染性を示す代表的なカビの一種で、皮膚や粘膜に常在しています。健常人には通常病原性を示しませんが、エイズや末期がん患者など免疫能が低下した人に対しては、時には死に至る重篤な病態を引き起こすことがあります。そこで私たちはこの菌が宿主の免疫系に対して与える影響と感染防御機構を解析する事にしました。私達は以前、C型レクチンと呼ばれる糖鎖認識受容体の一種で、デクチン-1とよばれる分子が β -グルカンの受容体であり(図1)、カリニ肺炎の病因となるカビの一種 *Pneumocystis carinii* の感染防御に重要な役割を果たしていることを明らかにしております(参考文献1)。しかし、デクチン-1はカンジダ菌の感染防御にはあまり関与しておりませんでした。そこで、細胞壁を構成する別の多糖であるマンナンと結合することが知られていたデクチン(Dectin)-2に着目し、この遺伝子の欠損マウスを作製してその機能を解析しました。

<研究の内容>

デクチン-2欠損マウスを作製し、このマウスの骨髄細胞から樹状細胞を作製して、この細胞に α -マンナンを作用させた時、反応性が変化するかどうかを調べました。その結果、野生型の樹状細胞からはTNFやIL-1、IL-6、IL-23などの炎症性のサイトカインの発現誘導が見られるのに対し、デクチン-2欠損マウス由来の樹状細胞ではこれらのサイトカイン産生が全く見られなくなる事を見いだしました。この事はデクチン-2が α -マンナンの特異的な受容体である事を示しています。シグナル伝達経路を調べたところ、デクチン-2が α -マンナンを認識すると、Fc受容体 γ 鎖、CARD9を介してNF- κ Bを活性化し、強力にサイトカイン産生を誘導することがわかりました(図1)。デクチン-2欠損マウス由来の骨髄由来樹状細胞は試験管の中で α -マンナンによるサイトカイン産生能を失っているばかりではなく、デクチン-2の欠損マウスはカンジダ菌に対する感染防御能が顕著に低下し、野生型マウスと比較し、有意に生存率が低下しておりました(図2)。また、試験管内でカンジダ菌と樹状細胞を培養した時の培養液を別に準備したナイーブT細胞^{注3)}の培養液に添加すると、Th17細胞とよばれる感染防御や炎症反応で重要な役割を果たすT細胞が効率的に分化してくるのに対し、デクチン-2欠損マウスの樹状細胞由来の培養液はTh17細胞を分化させる能力が著しく低下している事がわかりました(図3)。これらの結果から、デクチン-2は真菌表面に存在する α -マンナンに結合するだけでなく、特異的なシグナルを細

胞内に伝える活性化受容体である事、デクチン-2 を介したシグナルはサイトカイン産生を誘導してこれらのサイトカインがT細胞を優先的にTh17細胞に分化させることがわかりました。私達はこれまでに Th17 細胞が黄色ブドウ球菌などの細菌に対する感染防御に重要であることを見つけておりますが（参考文献2）、今回の研究で、Th17 細胞が産生する IL-17 がカンジダ菌の感染防御にも非常に重要な役割を果たしている事がわかりました（図4）。

<今後の展開>

これらの成果により、これまでにない新しい切り口の真菌感染に対する治療薬を開発できる可能性があります。また、真菌は健常人にも共生していることから、デクチン-2 が常に弱く刺激されている可能性があり、その結果、アレルギーや自己免疫といった別の病気を引き起こしている可能性も考えられます。今後はその様な、健康な人におよぼす真菌の影響についても理解も進むことも期待されます。また、これまで食物中に含まれる α -マンナンが生体の免疫系に何らかの影響を与えている可能性が言われていますが、今回作製したデクチン-2 欠損マウスを用いる事によって、こうした問題にも答えを出すことが出来るものと考えられます。

<参考図>

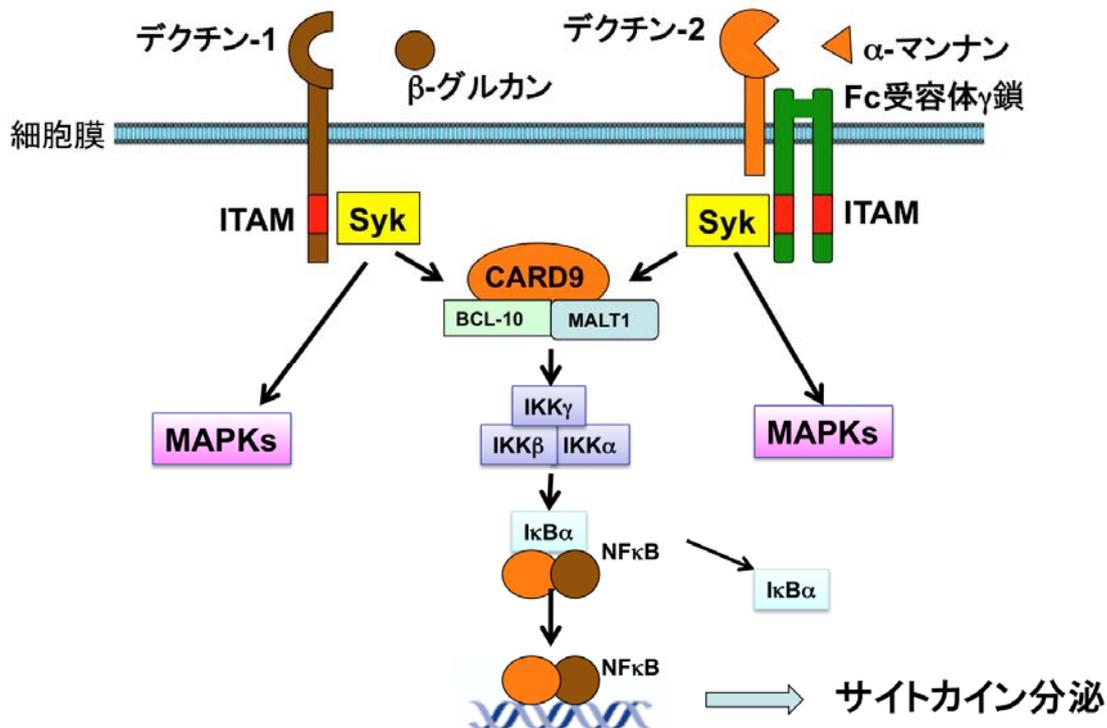


図 1. デクチン-1とデクチン-2によるサイトカイン分泌機構模式図

デクチン-1はβ-グルカンの受容体で、細胞外の糖鎖を認識する部分でβ-グルカンと結合すると、細胞内にある「ITAM」と呼ばれる部分が活性化し、CARD9と呼ばれるタンパク質を含む複合体にシグナルを伝えます。その結果、炎症性サイトカインが大量に細胞から放出されます。一方、デクチン-2は細胞外の糖鎖を認識する部分でα-マンナンと結合しますが、デクチン-1と異なり、細胞内にシグナルを伝える「ITAM」などの特定の配列がありません。そこで、「ITAM」を細胞内に持つが、細胞外には特定の配列を持たないFc受容体γ鎖が会合し、シグナルを細胞内に伝達します。その後は同様にCARD9を含む複合体とNF-κBを介して大量のサイトカインを分泌することが判りました。

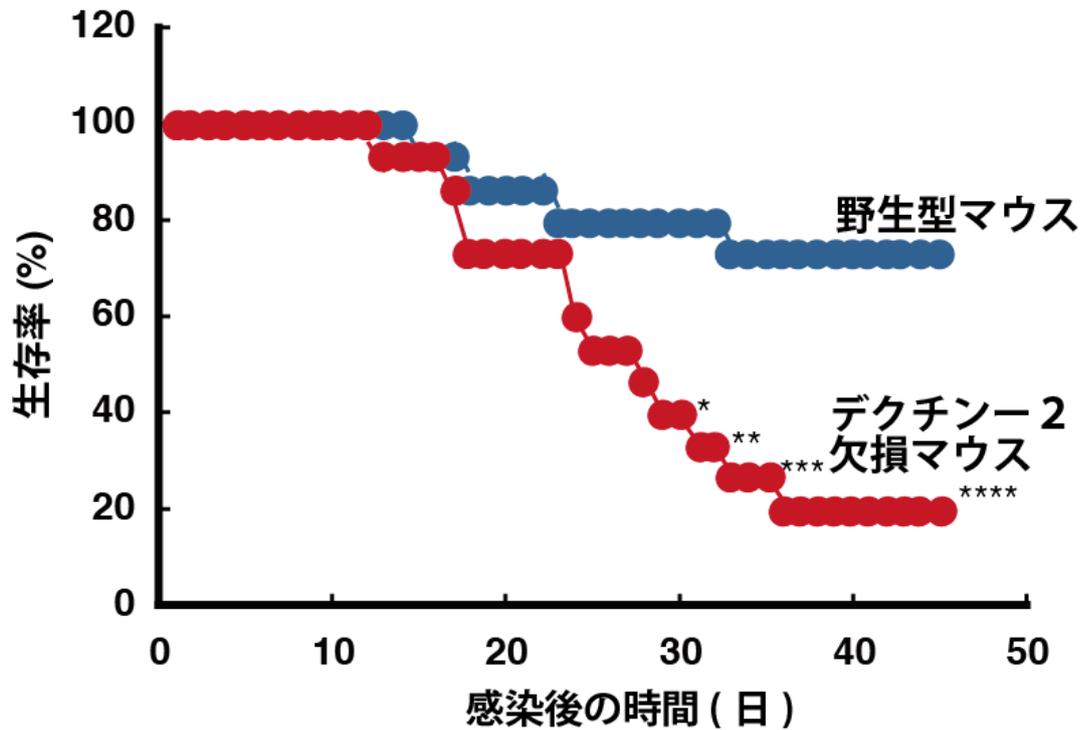


図2. デクチン-2を欠損するとカンジダ菌に対する抵抗力が低下する

デクチン-2が真菌細胞膜を構成する α -マンナンと結合し、細胞から大量にサイトカインを分泌させることがわかったので、デクチン-2欠損マウスと野生型マウスにカンジダ菌を感染させました。その結果、デクチン-2欠損マウスはカンジダ菌に対する抵抗力が顕著に低下しており、野生型マウスと比較し感染後の生存率が有意に減少していることがわかりました。

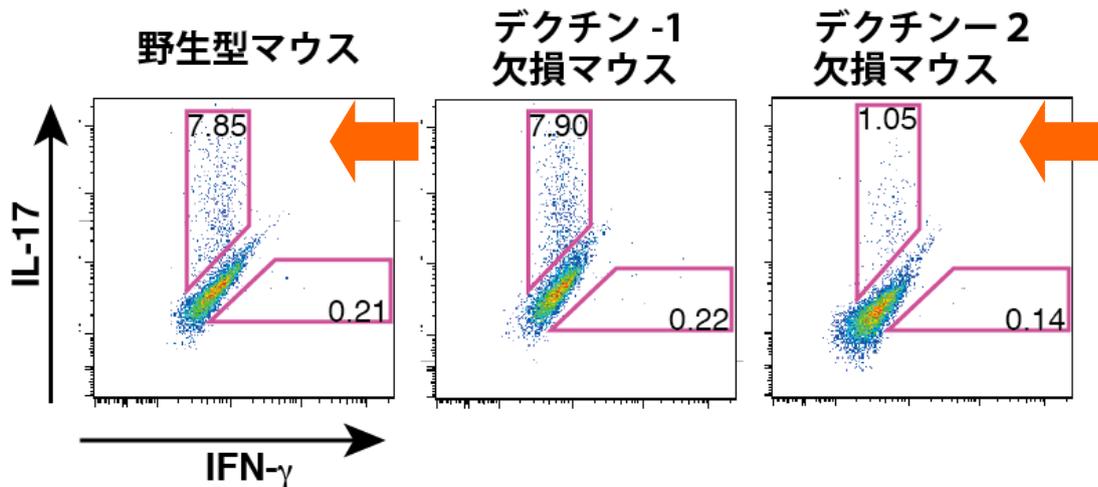
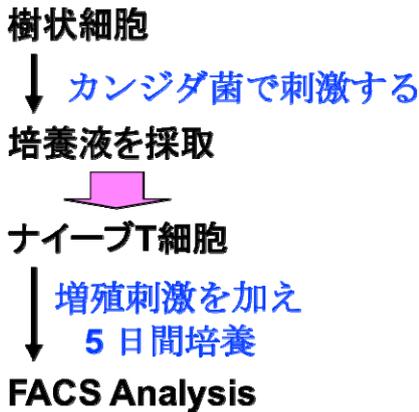


図3. デクチン-2によって分泌されたサイトカインはT細胞を優先的にTh17細胞に分化させる

上：実験方法の模式図です。野生型マウスとデクチン-2欠損マウスの樹状細胞にカンジダ菌を加え、その培養液を採取しました。その培養液を別に準備したナイーブT細胞に加え、同時にT細胞に対する増殖刺激を行い、5日後にT細胞の分化状態をフローサイトメーターで調べました。

下：フローサイトメーターでT細胞の産生するサイトカインを調べた結果です。野生型マウスやデクチン-1欠損マウスの樹状細胞から採取した培養液と培養したT細胞はIL-17を産生するTh17細胞になっていますが、デクチン-2欠損マウスの樹状細胞から採取した培養液はTh17細胞に分化させる能力がないことがわかりました。この結果から、デクチン-2を介して培養液中に分泌されるサイトカインがTh17細胞の分化に重要であることが示されました。

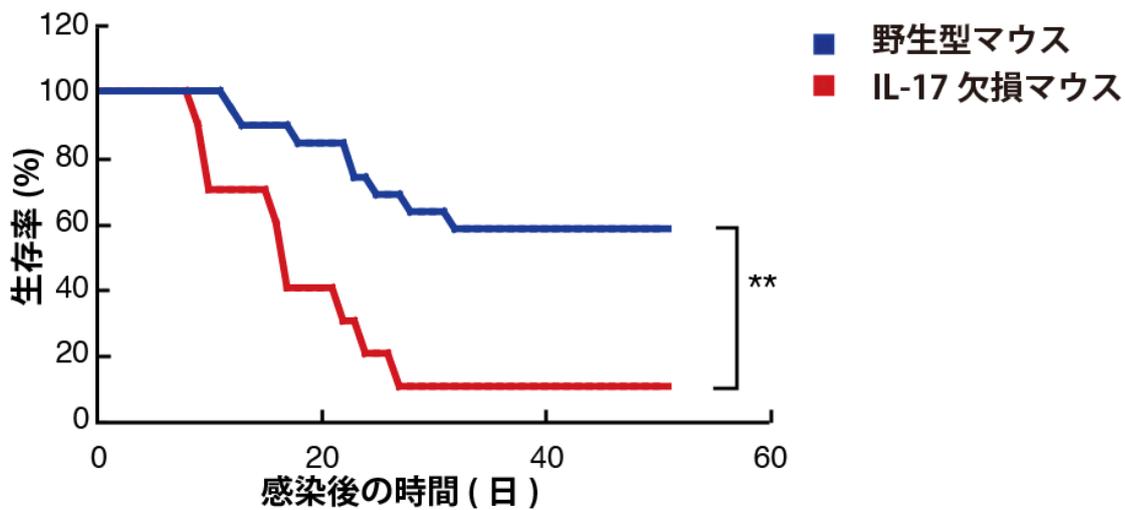


図4. IL-17 欠損マウスはカンジダ感染に対する抵抗力が低下している

デクチン-2によるシグナルがT細胞を優先的にTh17細胞に分化させる能力があることがわかったので、実際にTh17細胞から分泌されるIL-17が実際にカンジダ感染に関与しているかどうかをIL-17欠損マウスを使って調べました。その結果予想通り、IL-17欠損マウスはカンジダ菌に対する抵抗力が低下しており、野生型マウスと比較し、生存率が顕著に低下しました。

<用語解説>

- 注1) 樹状細胞:免疫を担当する細胞の一つで、平たく枝を伸ばした様な形をしています。樹状細胞は外敵を見分け、取り込み、他の免疫担当細胞に抗原として提示します。
- 注2) 炎症性サイトカイン:免疫担当細胞が細胞外に放出するタンパク質のうち、炎症反応を引き起こすもの。サイトカインを放出することにより、他の免疫担当細胞を集めたり、他の細胞を分化させ外敵と戦う準備をさせたりする機能があります。
- 注3) T細胞、Th17細胞、ナイーブT細胞:免疫担当細胞の一つ。樹状細胞によって抗原提示を受けると、その抗原を見分けることの出来るT細胞が増殖します。まだ抗原に出会ったことのないT細胞をナイーブT細胞と呼びます。また、増殖する時に特定の条件が整うと、IL-17を分泌するTh17細胞に分化します。

<論文名>

“Dectin-2 recognition of α -mannans and induction of Th17 differentiation is essential for host defense against *Candida albicans*.”

(デクチン-2は α -マンナンの特異的受容体であり、IL-17産生T細胞の分化を誘導することによりカンジダ感染防御に重要な役割を果たす)

<参考文献>

1. Saijo et al., Dectin-1 is required for host defense against *Pneumocystis carinii* but not against *Candida albicans*. *Nat. Immunol.*, 8; 39-46 (2007).
2. Ishigame et al., Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucoepithelial bacterial infection and allergic responses. *Immunity*, 30: 108-119 (2009).

<お問い合わせ先>

<研究に関すること>

岩倉洋一郎 (イワクラ ヨウイチロウ)

東京大学医科学研究所 システム疾患モデル研究センター 教授

〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1

東京大学医科学研究所システム疾患モデル研究センター・分子病態研究分野 HP:

http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cem_dcb/index.html