

PRESS RELEASE (2018/8/1)

**炎症細胞の浸潤から眼を守る涙の秘密を発見
—免疫特権環境の人為的制御法の開発に期待—**

九州大学生体防御医学研究所の福井宣規主幹教授、宇留野武人准教授、大学院博士課程3年生の櫻井哲哉らの研究グループは、慶應義塾大学医学部の杉浦悠毅講師、末松誠客員教授らの研究グループと共同で、涙の中に含まれるコレステロール硫酸(Cholesterol sulfate)という脂質が、免疫細胞の動きに重要な DOCK2 というタンパク質の機能を阻害し、眼を炎症細胞の浸潤から守る働きをしていることを世界に先駆けて発見しました。

免疫系は、病原微生物などの異物を速やかに排除し、生体を守るために進化した必須の防御システムですが、過剰な免疫応答は、正常組織も攻撃するリスクをはらんでいます。このため、生体には免疫監視機構が発動しにくい組織や空間が存在しており、これらを「免疫特権部位」と呼びます。眼もその一つであり、これまでにいくつかのタンパク質が免疫回避に働くことが報告されていますが、生理活性脂質の役割については不明でした。研究グループは、免疫細胞が動くために必須の分子 DOCK2 に着目し、その阻害物質の探索を進める過程で、コレステロール硫酸が DOCK2 の働きを強力に抑制し、免疫細胞の動きを止めることを発見しました。マウスを用いた詳細な解析の結果、コレステロール硫酸は、涙に脂質成分を供給する組織であるハーダー腺(ヒトのマイボーム腺に相当)で大量に産生されており、実際に、涙の中には多量のコレステロール硫酸が含まれていました。コレステロール硫酸が産生できないように遺伝子操作したマウスでは、紫外線照射や抗原投与により、免疫細胞の浸潤を伴う眼の炎症が悪化しました。一方、この炎症は、コレステロール硫酸を点眼することで抑制されました。このことから、コレステロール硫酸は、免疫特権を人為的に付与したり、剥奪するための標的分子となることが期待されます。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の革新的先端研究開発支援事業インキュベータータイプ(LEAP)の成果で、2018年7月31日(火)午後2時(米国東部夏時間)に米国科学雑誌「Science Signaling」に掲載されました。

研究者からひとこと：

免疫細胞の動きに重要な DOCK2 の阻害物質が、涙の中にあることは予想外の発見でした。免疫特権環境の理解と応用につながることを期待して、今後もさらに研究を進めて参ります。

【お問い合わせ】 生体防御医学研究所 主幹教授 福井 宣規 (ふくい よしのり)
電話：092-642-6827 FAX：092-642-6829
Mail：fukui@bioreg.kyushu-u.ac.jp
准教授 宇留野 武人 (うらの たけひと)
電話：092-642-6830 FAX：092-642-6829
Mail：uruno@bioreg.kyushu-u.ac.jp

■背景

免疫系は、生体を守るために進化した必須の防御システムであり、免疫細胞（※1）は生体内を常にパトロールして、病原微生物などの異物の侵入を監視しています。しかしながら一方、過剰な免疫応答は、正常組織も攻撃するリスクをはらんでいます。このため、生体には免疫監視機構が発動しにくい組織や空間が存在し、これを免疫特権部位と呼びます。例えば、胎児が母体の免疫系からの攻撃を回避するメカニズムを有していることは良く知られた事実であり、眼球、精巣、脳に加えて、がん組織においても同様の抑制機構が存在すると考えられています。この免疫特権という概念は、1948年にPeter Medawar博士（1960年ノーベル生理学・医学賞受賞）により提唱されたものですが、70年経った今も、これらの組織がどのようにして免疫のセンサーをかいくぐっているのか、その全貌は依然として明らかではありません。

■内容

研究グループは、2001年に世界に先駆けてDOCK2という分子が免疫細胞の動きに必須の働きをしていることを発見し（Nature 412:826-831）、以降DOCK2の生体機能やシグナル伝達機構の解析を進めて参りました。DOCK2は、DHR-2という領域を介してRac（※2）という分子を活性化させることで、細胞運動を惹起します。今回、その阻害物質の探索を進める過程で、コレステロール硫酸（CS、図1A）が特異的にDOCK2のDHR-2領域に結合し（図1B）、DOCK2によるRac活性化を強く阻害することを見いだしました（図1C）。そこで、CCL21やfMLPなどの走化因子（※3）に対する免疫細胞の遊走を調べてみたところ、CSの存在下ではCCL21によるT細胞の遊走が大きく障害され、その程度はDOCK2遺伝子を欠損したT細胞の遊走と同じレベルにまで低下していました（図1D）。また、fMLPによる好中球の遊走もCSによって同様に障害されますが、fMLPと同じ場所にCSを添加すると、好中球はfMLPに向かって動くものの、一定距離になるとそれ以上近寄れないことがわかりました（図1E）。このことから、CSがDOCK2の機能を阻害し、免疫細胞の運動をブロックすることが明らかになりました。

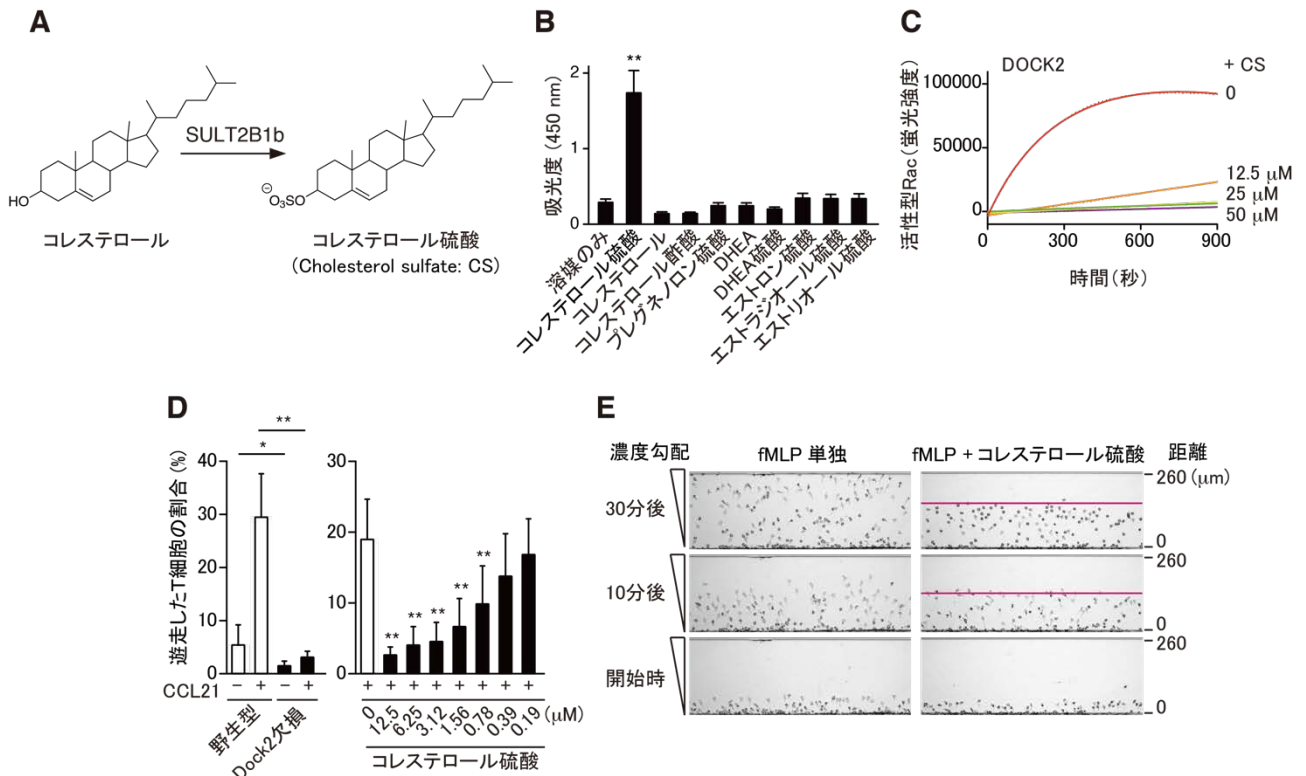


図1 コレステロール硫酸はDOCK2の機能を阻害し、免疫細胞の遊走を抑える

- A: コレステロール硫酸は、硫酸基転移酵素 Sult2B1b の働きによってコレステロールから生成される。
 B: 様々なステロイド分子の中で、コレステロール硫酸のみが特異的にDOCK2のDHR-2領域に結合する。
 C: コレステロール硫酸は、DOCK2によるRac活性化を阻害する。
 D: コレステロール硫酸は、DOCK2に依存したT細胞の遊走を抑制する。
 E: コレステロール硫酸は、好中球の遊走を抑制し、一定距離内への侵入（赤ライン）をブロックする。

次に、体の中のどこにCSが存在しているかを調べるために、まず、コレステロールからCSを産生するのに重要なタンパク質である Sult2B1b のマウス組織における発現を調べました (図 2A)。その結果、既に報告されている皮膚や小腸以外に、ハーダー腺と呼ばれる眼に附随した組織で最も高い発現が認められました。ハーダー腺は涙に脂質を供給する組織で、ヒトにおけるマイボーム腺に相当します。次に、各組織におけるCSの含量を質量分析法によって調べたところ、CSはハーダー腺で最も大量に産生されており、涙の中にも多量に含まれることがわかりました (図 2B, C)。一方、Sult2B1b が発現できないように遺伝子操作したマウスの体内では、CSがほぼ完全に消失していました (図 2B, C)。さらに、質量分析イメージング (※4) という新しい手法を用いて眼球内のCSの分布を可視化したところ、前眼房に局在することが明らかになりました (図 2D)。

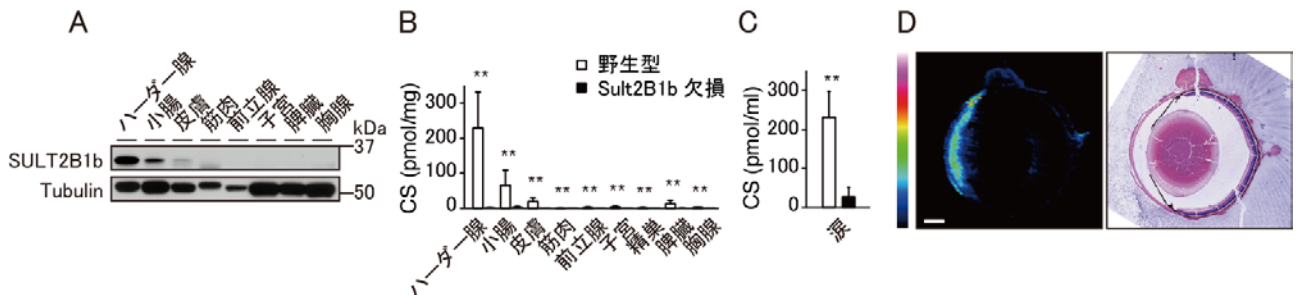


図 2 CS は眼や涙中に大量に存在する

- A: CS の産生酵素 Sult2B1b はハーダー腺に最も強く発現している。
- B: CS はハーダー腺で最も大量に産生され、Sult2B1b 欠損マウスの各組織ではほぼ完全に消失する。
- C: CS は涙の中にも多量に含まれる。
- D: CS は前眼房に局在する。左の写真は、眼球内のCSを質量分析イメージング法で可視化した像。色調はCSの量を表す (赤: 高い; 緑・青: 中程度; 黒: 無し)。右の写真は、ヘマトキシリン-エオジン染色による眼球の全体像。

最後に、眼の炎症におけるCSの重要性について検討を行いました。眼に強い紫外線 (UV) を照射すると、角膜上皮細胞の障害に続き、前眼房に炎症細胞 (好中球) の浸潤が認められますが、野生型マウスに比べて、Sult2B1b 欠損マウスではその数が倍増していました (図 3A 左)。また、ブタクサ花粉を用いて結膜炎を誘導すると、野生型マウスに比べて、Sult2B1b 欠損マウスでは炎症細胞 (T 細胞) の浸潤が顕著に亢進していました (図 3B 左)。いずれのモデルにおいても、炎症細胞の浸潤はCSを点眼することによって、野生型マウスと同じレベルまで抑制することができました (図 3A, B、各パネル右)。このことから、CSが眼の炎症制御に重要な役割を果たしていることが明らかになりました。

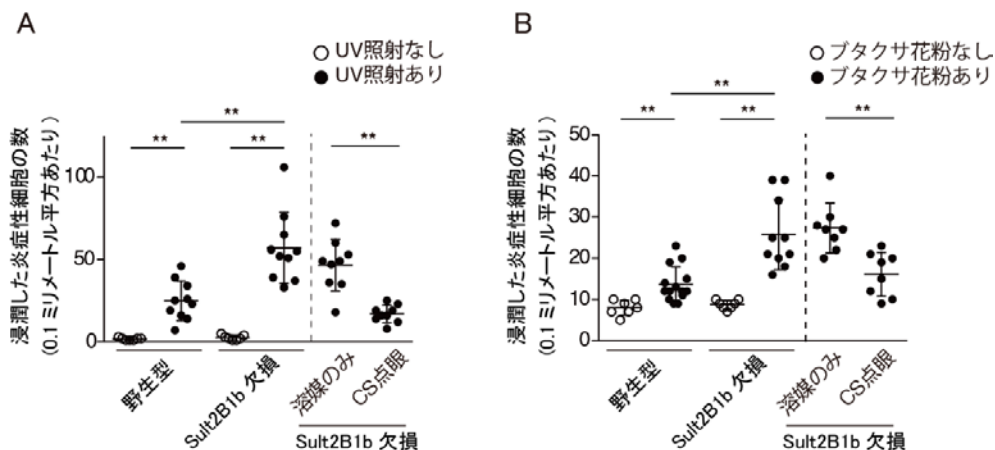


図 3 CS は、眼の炎症制御に重要である

- A: 紫外線照射後の前眼房への炎症細胞 (好中球) の浸潤は、Sult2B1b 欠損マウスでは亢進し、CSの点眼によって抑えられる。
- B: 花粉感作による結膜への炎症細胞 (T 細胞) の浸潤は、Sult2B1b 欠損マウスにおいて亢進し、CSの点眼によって抑えられる。

■今後の展開

本研究により、CSがDOCK2の機能を阻害し、免疫細胞の浸潤をブロックすることで、眼における免疫特権環境の形成に貢献していることが明らかになりました（図4）。他の特権組織におけるCSの機能解析は今後の課題ですが、CS-Sul12B1b経路は、免疫特権を人為的に付与したり、剥奪するため方法を開発する上で、格好の標的分子となることが期待されます。

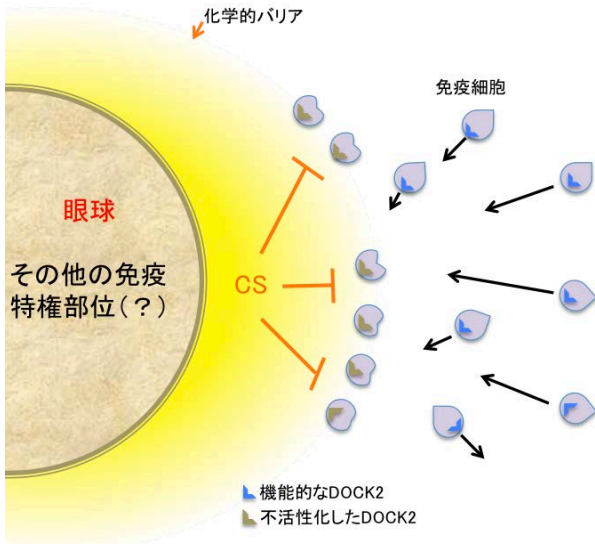


図4 CSによる眼の免疫特権環境の形成（模式図）

CSは前眼房や涙に多量に存在し、免疫細胞内のDOCK2の機能を阻害することで、それらの眼への侵入を抑制し、眼を炎症から守っている。他の免疫特権部位におけるCSの関与は今後の重要な課題である。

■本研究について

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の革新的先端研究開発支援事業インキュベータタイプ（LEAP）における研究課題「DOCKファミリー分子の生体機能と動作原理の解明に基づく革新的医薬品の創出」の支援を受けて行われました。慶應義塾大学の末松誠客員教授は、AMEDからの研究費を受給しておりません。

■用語解説

（※1）免疫細胞：T細胞や好中球など、免疫応答を担う細胞群の総称。病原菌などの異物の侵入を感知し排除すべく、生体内を常にパトロールしている。

（※2）Rac：低分子量GTP結合タンパク質の一種で、細胞内でシグナル伝達の分子スイッチとして働く。Racが活性化すると、細胞は形を変え、前進する。

（※3）走化因子：細胞の動きを誘導する液性因子の総称。本研究では、T細胞の走化因子としてCCL21を、好中球の走化因子としてfMLPを使用した。

（※4）質量分析イメージング：質量分析による分子構造の解析および定量と、顕微鏡による分子の位置情報の解析を一体化させた手法で、脂質を含む種々の分子の組織内での局在情報を得ることが可能になる。

■論文名

“Cholesterol sulfate is a DOCK2 inhibitor that mediates tissue-specific immune evasion in the eye”
（コレステロール硫酸は、眼の組織特異的な免疫回避機構を成立させるDOCK2の阻害因子である。）

雑誌名：Science Signaling

doi:10.1126/scisignal.aao4874

【事業に関するお問い合わせ】

（革新的先端研究開発支援事業）

国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）

基盤研究事業部 研究企画課

電話：03-6870-2224

Mail：kenkyuk-ask@amed.go.jp