

平成24年2月

村田暁彦 学位論文審査要旨

主査 佐藤 建三
副査 竹内 隆
同 林 眞一

主論文

A Notch ligand, Delta-like 1 functions as an adhesion molecule for mast cells
(Notchリガンド、Delta-like 1はマスト細胞の接着分子として機能する)

(著者：村田暁彦、奥山一生、坂野誠治、加治木正洋、平田朝久、八木田秀雄、

Juan Carlos Zúñiga-Pflücker、三宅健介、高村祥子(旧姓：赤司)、森脇佐和子、
新飯田俊平、吉野三也、林眞一)

平成22年 The Journal of Immunology 185巻 3905頁～3912頁

学位論文要旨

A Notch ligand, Delta-like 1 functions as an adhesion molecule for mast cells

(Notchリガンド、Delta-like 1はマスト細胞の接着分子として機能する)

マスト細胞は関節リウマチ等の慢性炎症組織へ集積する。細胞集積には接着分子が必要だが、マスト細胞の集積に関与する接着分子はまだ良く分かっていない。そこで、慢性炎症組織で発現が亢進するシグナル分子、Notchリガンドに着目した。Notchシグナルは接着分子である $\beta 1$ インテグリンを活性化する事が報告されており、細胞接着への関与が考えられる。しかし、Notchのマスト細胞の接着への関与は不明である。本研究では、Notchリガンドの一つ、Delta-like 1(Dl11)を強制発現させたOP9間質細胞(OP9-DL1)を炎症組織のモデルとして用い、マスト細胞の間質細胞への接着におけるNotchの関与を明らかにする事を目的とした。

方 法

48穴プレートでコンフルエントにしたOP9-control又はOP9-DL1上に、C57BL/6マウスの骨髓細胞からIL-3で分化誘導したマスト細胞を播種し、37°C又は氷上で1時間培養した。また接着の阻害実験では、マスト細胞と同時に抗体や薬剤も添加した。その後、プレートを振とうし、培養液を回収し、非接着マスト細胞数を血球計算版で計測した。

結 果

マスト細胞はOP9-controlよりもOP9-DL1へ有意に多く接着した。特に多くのマスト細胞を播種した時、接着の差は非常に顕著になった。OP9-DL1へのマスト細胞の接着促進は、Notchシグナルの阻害剤やATPaseの阻害剤の添加で阻害できなかったことから、マスト細胞へのNotchシグナルは接着促進の原因ではないことが示唆された。また固相化したリコンビナントDl11によりOP9-controlへNotchシグナルを入れてもマスト細胞の接着に変化が見られなかったことから、OP9-DL1への接着促進は間質細胞へのNotchシグナルも関与しない事が示唆された。更に、氷上で細胞の代謝を阻害しながら接着の実験を行ったところ、マスト細胞はOP9-controlへは全く接着できなかったが、OP9-DL1へは依然として約60%のマスト細胞が引っかかるように接着していた。

マスト細胞のOP9-DL1への37°Cと氷上での接着促進は、リコンビナントDl11の添加による

Notch/Dll1の結合の競合阻害によって完全に阻害された。更に氷上でのOP9-DL1への接着は、抗Notch2抗体及び抗Dll1抗体の添加によっても有意に阻害されたことから、Notch2とDll1自身が接着分子としてマスト細胞の間質細胞への接着を促進する事が判明した。

考 察

Notchは現在までシグナルの機能のみが知られていたが、本研究で接着分子としての機能も有する事が分かった。よって慢性炎症組織で発現亢進するNotchリガンドは接着分子として、マスト細胞の集積に関与している可能性が考えられる。マスト細胞においてNotchシグナルは、骨髓前駆細胞からマスト細胞の分化を促進する事、更にマスト細胞にMHC class IIと共刺激分子(OX40L)を発現させ抗原提示細胞としての機能を与える事が示されている。しかし、Notch2のコンディショナルノックアウトマウスではマスト細胞の平常時の分布に異常はないと言われている事から、炎症時に組織で発現亢進するNotchリガンドがマスト細胞において重要であると考えられる。これらの事から、Notchはマスト細胞の細胞接着、分化、エフェクター機能に影響する事で、炎症のプロセスに関与しているものと考えられる。

Notchは現在までに調べられた全ての多細胞生物で存在が確認されている。ショウジョウバエ由来の細胞株にハエのNotchを過剰発現させたものと、ハエのDeltaを過剰発現させたものを混合培養すると細胞が凝集する。ゼブラフィッシュのDeltaをヒトのケラチノサイトに発現させた場合も、ケラチノサイト同士の接着性が亢進する。これらの報告は、Notchが接着分子としての機能を有するという本研究での発見を支持するだけでなく、Notchの接着の機能が進化的に保存されたものであることも示唆している。

結 論

Dll1とNotch2は、接着分子としてマスト細胞の間質細胞への接着を促進する。炎症組織で発現亢進するNotchリガンドは接着分子として、マスト細胞の集積に関与する事が示唆された。