

論 文 要 旨

CD147 Is Essential for the Development of Psoriasis via the Induction of Th17 Cell Differentiation

CD147/basigin の Th 細胞分化と乾癬病態形成に関する

包括的研究

大久保 葵

【序論及び目的】

CD147/Basigin は 1990 年に共同研究者の金蔵らにより細胞分化に関与する分子として発見された免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜貫通タンパク質である。その後、CD147 は多機能性の分子であることが明らかとなり、多くの細胞膜蛋白を binding partner とし、それらの正常な膜発現をシャペロンとしてサポートすることで多機能を発揮する機序が解明された。

がん細胞はエネルギー産生系が酸化的リン酸化から解糖系にシフトしていることが知られている (Warburg 効果)。解糖系を制御しているモノカルボン酸トランスポーター (MCT) は CD147 の binding partner の一つであり、金蔵らは悪性黒色腫において CD147 が MCT の細胞膜発現を介して解糖系を制御し、がんの進展を促進していることを明らかにした。

近年の研究で免疫細胞、特に T 細胞の分化・活性化もエネルギーを解糖系に依存していることが示されている。また CD147 が Th17 細胞分化に関与していることも報告されている。以上の事実から Th17 が病態形成に重要な役割を果たす免疫疾患においても CD147 と MCT が関与している可能性を考えた。今回は Th17 による代表的な皮膚疾患である乾癬を対象に「CD147/basigin の Th 細胞分化と乾癬病態形成に関する包括的研究」を行うことを目的とした。

【材料及び方法】

1 患者

血清および皮膚標本は、尋常性乾癬の組織病理学的診断を受けた 5 人の健康な被験者および 25 人の乾癬患者で、事前の書面によるインフォームドコンセントを得られた。

2-1 動物

ヒトゲノム機構が提供する CD147 / Basigin 遺伝子のシンボルは BSG であり、遺伝子とタンパク質の名前は basigin である。Bsg 遺伝子 (Bsg^{-/-}) を欠損したマウスは、129/SV バックグラウンドの Bsg^{+/-} マウスを、C57BL/6J マウスと戻し交配して、F1 雑種の子孫 (逆 F1 雑種) を作製した。これらのマウスを交配することにより、混合逆 F2 マウスを作製して使用した。以下、Bsg ヌルマウスを CD147^{-/-} マウスと呼ぶ。この研究で使用されたマウスは 8-10 週齢で、体重は 20-25 グラムだった。マウスは管理された環境下で飼育され、標準的な食物と水で維持された。

2-2 骨髄キメラマウスの作製

造血細胞に CD147 を欠く骨髄キメラマウスを作製した。Ly5.1 レシピエントマウスに 10 Gy の全身照射を行った。骨髄栓の塊は、CD147^{-/-} マウスとその野生型 (WT) の大腿骨から抽出し、レシピエントマウスに移植した。

2-3 モデルマウスにおける乾癬の誘発

イミキモド (IMQ) 誘発性皮膚炎は、広く容認された乾癬のマウスモデルである。背部の毛を剃り、62.5mg の 5%IMQ クリーム (持田製薬株式会社、東京、日本) を 7 日間連続して塗布した。対照マウスは剃毛されたが、IMQ 処理はしなかった。合計 10 匹の野生型および 10 匹の CD147^{-/-}マウスを使用した。各グループで、5 つは IMQ で処理され、5 つはコントロールとして未処理とした。実験中に、IMQ で処理された 1 匹の WT マウスが死亡した。皮膚、血清、および脾臓のサンプルを 8 日目に採取した。臨床皮膚スコアを毎日記録した。皮膚の炎症の程度は、乾癬領域から修正された累積疾患重症度スコアリングシステムおよび重症度指数 (修正 PASI) スコアによって評価した。皮膚の紅斑、硬結、およびスケリングの程度は、0 = なし、1 = 軽度、2 = 中程度、3 = 重度、および 4 = 最大に分類した。これらのスコアが合計され、最大スコアは 12 とした。

3 CD147 阻害剤

Snagon Biotech (Shanghai, China) から購入した CD147 アンタゴニストペプチド-9 (AP-9) を使用した。AP-9 のアミノ酸配列は Tyr-Lys-Leu-Pro-Gly-His-His-His-His-Tyr-Arg-Pro で、CD147 の機能を阻害することが報告されている。

4 倫理的配慮

すべての人間研究プロトコルは、鹿児島大学大学院医歯学研究科人間調査委員会によって承認された。この調査を通じて、ヘルシンキ宣言を厳守した。すべての動物実験は、鹿児島大学の動物実験倫理委員会によって承認された。

【結果】

乾癬患者において、CD147 の血清レベルと真皮 CD3⁺T 細胞における発現が増加していた。さらに、CD147 の発現は CD4⁺ROR γ t⁺Th17 細胞の方が CD4⁺ROR γ t⁻T 細胞よりも有意に高かった。ROR γ t⁺T 細胞における MCT1 の発現は亢進しており CD147 の発現と正の相関があった。

CD147^{-/-}マウスのナイーブ CD4⁺T 細胞は、IL-6 および TGF- β による刺激下においても Th17 細胞への分化が抑制されることを示した。これらの結果は、CD147 が CD4⁺T 細胞の Th17 細胞への分化を調節することを示している。

次に CD147 遺伝子を欠損したノックアウトマウスを用いて検討した。IMQ 誘発性の乾癬様皮膚炎は、野生型マウスと比較して CD147^{-/-}マウスで有意に軽度であった。また CD147 の機能を抑制することが報告されているペプチド (AP-9) により IMQ 誘発性乾癬様皮膚炎症状は軽減した。これらの結果は CD147 が乾癬の発症に主要な役割を果たすということを直接的に示している。

CD147 は真皮のリンパ球と表皮ケラチノサイトに発現している。乾癬の発症における免疫細胞の重要性を確認するために、骨髄系の造血細胞で選択的に CD147 を欠損する骨髄キメラマウスを作製し検討した。キメラマウスでも IMQ による乾癬様皮膚炎は軽度であった。キメラマウスと CD147^{-/-}マウスの炎症の程度は同等であった。これらの結果は、免疫細胞の CD147 が乾癬の発症において重要な役割を果たしていることを示している。

【結論及び考察】

CD147 が MCT1 に関連する T 細胞解糖の調節を介して乾癬の発症に寄与し、造血細胞で CD147^{-/-}マウスおよび CD147 を欠く骨髄キメラマウスを使用して Th17 細胞の分化を促進することを示した。