

体内時計は夜間に自然免疫を発動

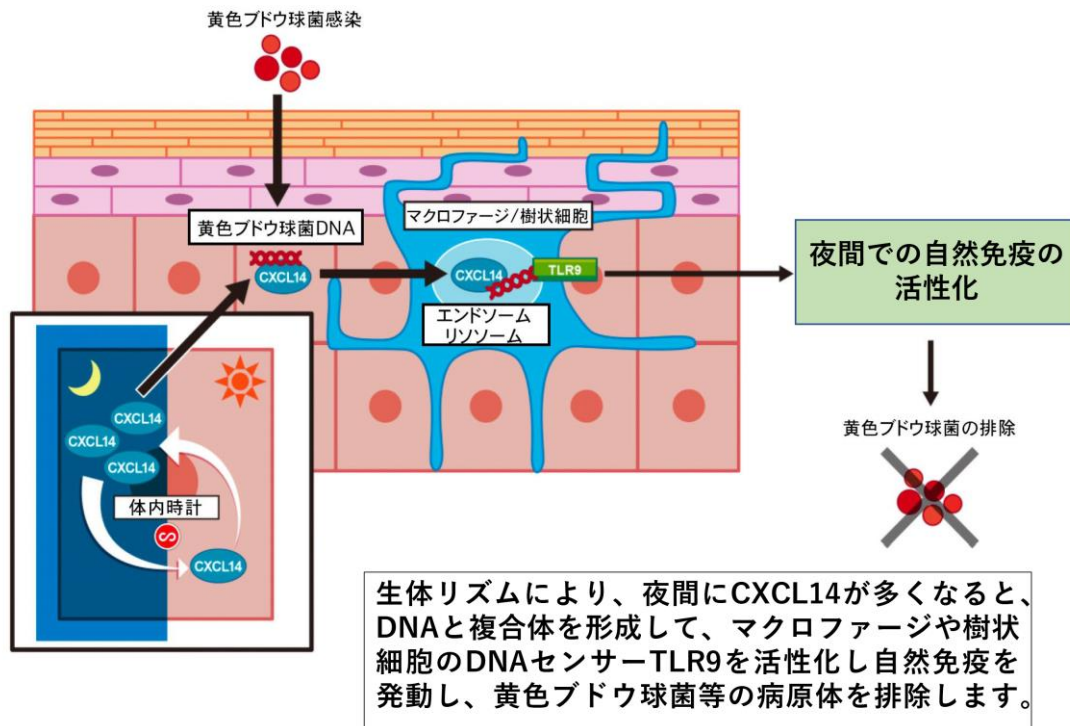
—皮膚ケモカインによる自然免疫機構—

概要

京都大学大学院医学研究科 辻花光次郎 博士課程学生、岡村均 同研究員（京都大学名誉教授）と東京都医学総合研究所 種子島幸祐 主席研究員、原孝彦 同プロジェクトリーダー（幹細胞プロジェクト）らの共同研究グループは、皮膚の生体リズムが抗菌免疫を制御する仕組みについて解明しました。

本研究グループは、生体リズムの皮膚での役割を探るため、マウス表皮のさまざまな時間での遺伝子発現を網羅的に解析しました。すると、ケモカイン^{※1}と呼ばれる免疫を制御する遺伝子の一つ CXCL14^{※2}が生体リズムに沿った発現変動を示すことを見出しました。夜行性マウスでは、CXCL14 の発現は、昼は高く、夜は低かったのに対し、ヒトと同じ昼行性の霊長類であるコモンマーモセットでは、昼は低く、夜は高かったのです。リズムカルに発現した CXCL14 は黄色ブドウ球菌^{※3}の DNA に強く結合し、Toll-like receptor 9 (TLR9)^{※4}と呼ばれる細菌 DNA のセンサー分子を活性化することで、自然免疫を発動し、病原体の過剰増殖から皮膚を保護しました。このように、生体リズムは、細菌など病原体から身体を守る免疫の最初の段階で、自然免疫の発動を駆動させることが解明されました。

本成果は、2022年6月15日（現地時刻）に米国の国際学術誌「PNAS（米国科学アカデミー紀要）」にオンライン掲載されました。



1. 背景

皮膚は環境から個体を守る最外層の構造ですが、最大の免疫器官とも言われており、体外からの異物から身を守る最前線として働いています。地球上の生物には、自転に伴って生み出される昼夜リズムに同調する生体リズムがあり、皮膚でもその中核をなす時計遺伝子の発現リズムが観察されます。この10年来、生体リズムは睡眠覚醒のみでなく、ホルモン、代謝等や免疫など多くの生理機構に関与していることは明らかになってきました。しかし、残念ながら、皮膚の免疫機能がどのような機能を司っているのかは、まだあまり解明されていませんでした。

2. 研究手法・成果

概日リズムの分子機構を研究する京都大学の研究グループは、大部分が均一な細胞で構成される足底のマウス表皮組織に着目し、レーザーマイクロダイセクション法^{※5}によりさまざまな時間で切り出し、遺伝子発現を網羅的に解析しました。すると、ケモカインと呼ばれる免疫を制御する遺伝子の一つ CXCL14 が生体リズムに沿った著明な発現変動を示すことを見出しました。一方、幹細胞におけるケモカインの作用を研究する東京大学医学総合研究所の研究グループは、培養した樹状細胞^{※6}を用いて CXCL14 の機能を研究し、CXCL14 が細菌由来の非メチル化 DNA と結合し、樹状細胞の TLR9 を活性化するという現象を明らかにしました。さらに CXCL14 を欠損したマウスを作成し、生理機能を追求していました。

そこで、この両グループは皮膚の CXCL14 の役割を解明する共同研究を開始しました。皮膚表面には多数の細菌が常在していますが、その中で悪玉菌として知られる黄色ブドウ球菌を感染させその増殖を検索したところ、夜行性のマウスでは CXCL14 の発現が高い昼の間は菌の増殖が強く抑えられていましたが、発現の低い夜では菌の増殖が盛んになることがわかりました。CXCL14 を欠損したマウスの皮膚では菌の増殖は、一日中盛んなままでした。そこで、黄色ブドウ球菌由来の DNA を解析したところ、CXCL14 に強く結合し、皮膚での TLR9 を介する自然免疫反応を増強することが分りました。

マウスの皮膚での昼夜異なる作用は判ったのですが、この作用はヒトでも同じでしょうか？CXCL14 の発現を検索したところ、夜行性マウスでは昼は高く夜は低かったのに対し、ヒトと同じ昼行性の霊長類であるコモンマーモセットでは、昼は低く夜は高かったのです。このことから、CXCL14 は夜間に強く表皮細胞から分泌され、表皮に侵入した細菌の DNA に結合し、これが近傍の免疫細胞である樹状細胞に取り込まれ、DNA センサーである TLR9 を介して自然免疫を活性化し、病原体の過剰増殖から皮膚を保護していることが推察されました。

3. 波及効果、今後の予定

CXCL14 などの CXC 型のケモカインは従来、CXCR4 等の受容体を介してさまざまな細胞機能に関与すると言われてきました。今回、皮膚においては、CXCL14 はこの経路ではなく、非メチル化 CpG DNA と結合し、それを樹状細胞内へ運び込み、そのエンドゾーム内にある TLR9 受容体を活性化し、自然免疫を駆動させるという細胞経路を動かしていることが明らかとなりました。CXCL14 は、皮膚表皮のみでなく、口腔粘膜、腸管上皮、呼吸器上皮にも、広く大量に分布していますので、これらの器官でも、菌が上皮を通過して粘膜など身体の表層に入ることをブロックしているのかもしれませんが。また、CXCL14 は脳内でも多くの細胞に発現しており、今後は、各組織での物質のクリアランス機構における CXCL14 の役割と分子メカニズムの解明が期待されます。

また注目されるのは、皮膚表皮細胞での、非常に強い CXCL14 のリズムです。このリズムは、今回時計遺伝

子産物が、CXCL14 遺伝子プロモーターの RORE 部位を直接制御することによって生み出されることが分かりました。今後、この分子機構を利用して、CXCL14 発現を高めることで、感染防御の初期段階での抗菌作用を高めることができる可能性があります。

4. 研究プロジェクトについて

本研究には、京都大学医学研究科の学生として辻花光次郎が、同薬学研究科の学生として、三戸晴子、赤澤壮太、河野優華、須川真帆が参加しました。また本研究は、東京都医学総合研究所 斎藤理佐 研修生、西藤泰昌 主席基盤技術研究職員、種子島幸祐 主席研究員、原孝彦 プロジェクトリーダー、京都大学薬学研究科 村井伊織 博士、山田裕之 博士、土居雅夫 教授、京都大学医学研究科皮膚科学分野 谷岡未樹 博士、江川形平 講師、椛島健治 教授、京都大学医学研究科神経生物学分野 岡村均 研究員、伊佐正 教授、京都大学白眉センター 中村友紀 特定准教授、京都府立医科大学 中尾龍太 助教、大阪大学 富永恵子 准教授、神奈川県歯科大学 畑隆一郎 特任教授の研究協力の下で行われました。

本研究は、主として、文部科学省 科研費（研究課題番号15H01843; 18H04015; 18K07313; 20K08702; 20K20864; 21K07208）、文部科学省 特別推進研究（18002016）、文部科学省 科学技術振興機構（JST）CREST（研究課題番号 JPMJCR14W3）の支援を受けて実施されました。

<用語解説>

※1 **ケモカイン** 白血球の遊走を誘導する分子量の小さい（8-10 kDa）塩基性のタンパク質。50 種類以上のケモカイン分子が報告されている。N 末端側のアミノ酸配列から大きく CC タイプと CXC タイプに分かれている。

※2 **CXCL14** CXC タイプのケモカインであるが、白血球を遊走させる能力が低い。東京都医学総合研究所の研究チームは、CXCL14 には高親和性の DNA 結合活性があり、DNA を免疫細胞の中へと運び込むという非典型的な役割があることを解明していた。

※3 **黄色ブドウ球菌** 皮膚の常在菌であるが、肌荒れやニキビなどを引き起こす悪玉菌として知られている。そのほかにも放出する毒素が食中毒の原因になったり、菌の感染により皮膚感染症、肺炎、心内膜炎、骨髄炎などを引き起こす。

※4 **Toll-like receptor 9 (TLR9)** 細菌由来の非メチル化 DNA を認識する受容体であり、細胞内のエンドソーム/リソソームに存在する。活性化すると免疫関連遺伝子の発現が活性化する。

※5 **レーザーマイクロディセクション法** 目的の組織のみを、顕微鏡下にて、レーザー光で切り出して回収する手法。

※6 **樹状細胞** 生体に侵入した病原体を取り込み、そのタンパク質の破片を免疫細胞に提示して免疫反応を引き起こす抗原提示細胞。活性化するとさまざまな自然免疫応答を増強するシグナル分子を放出する。

<研究者のコメント>

黄色ブドウ球菌は、膿痂疹、蜂巣炎、膿瘍などの皮膚感染症としては最も良く知られた細菌で、外傷、熱傷、手術創などに続いて感染悪化させる原因菌としても良く知られています。こういう菌が常時身体の外にあって、それほど増えすぎず、私たちは元気なのです。今回の研究によって、このような異物を直ぐに認知し、消退させる機能の一端を明らかにすることができました。

生体リズムは、皮膚の血流の循環、皮膚の細胞の代謝などさまざまな皮膚機能に関与していることが、既に

知られています。今回は、表皮細胞から免疫を駆動するのに役立つ物質が、夜、寝ている間に作られることがわかりました。皆さんも生体リズムを乱すような生活をすると、肌荒れなどが起こりやすいことはわかっておられるでしょうが、夜間睡眠をしっかりとして、CXCL14 のような免疫応答を上げる物質をしっかり作って、ウイルスや細菌に負けない身体を作ってください。

今回取り上げた、生体リズムも自然免疫系も、非常に古くからある生体機能システムです。いずれも、数億年以上前の脊椎動物の出現、いやそれ以前の真核生物が始まったころにまでさかのぼる可能性があります。この非常に古くからある両システムは、いろんな段階で、共に進化してきたのではないのでしょうか。今後の進化生物学的なアプローチによる両者の相互作用の研究も注目されます。(岡村、種子島、原)

<論文タイトルと著者>

タイトル：

Circadian protection against bacterial skin infection by epidermal CXCL14-mediated innate immunity
(サーカディアンリズムによる表皮 CXCL14 の自然免疫による皮膚細菌感染に対する防御)

著者：Kojiro Tsujihana, Kosuke Tanegashima, Yasuko Santo, Hiroyuki Yamada, Sota Akazawa, Ryuta Nakao, Keiko Tominaga, Risa Saito, Yasumasa Nishito, Ryu-ichiro Hata, Tomonori Nakamura, Iori Murai, Yuka Kono, Maho Sugawa, Miki Tanioka, Gyohei Egawa, Masao Doi, Tadashi Isa, Kenji Kabashima, Takahiko Hara, Hitoshi Okamura

掲載誌：Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America

DOI：https://doi.org/10.1073/pnas.2116027119