

平成 27 年度 共同研究報告書

研究区分		特別共同研究
研究課題		AIDS, ATL 発症に関わる宿主因子
新規・継続の別		継続
申込者	所属	旭川医科大学・医学部・微生物学講座
	職名・氏名	教授・若宮 伸隆
研究分担者	所属	遺伝子病制御研究所・附属動物実験施設・疾患モデル創成分野
	職名・氏名	准教授・大橋 貴
	所属	旭川医科大学・医学部・微生物学講座
	職名・氏名	准教授・大谷克城
	所属	旭川医科大学・医学部・微生物学講座
	職名・氏名	助教・森 健一郎
	所属	旭川医科大学・医学部・微生物学講座
	職名・氏名	助教・松田 泰幸
	所属	旭川医科大学・医学部・微生物学講座
	職名・氏名	大学院生・黄 仁秀
	所属	旭川医科大学・医学部・微生物学講座
	職名・氏名	大学院生・Roy Nitai Chandra
研究代表者	職名・氏名	教授・清野研一郎
研究目的 (300 字程度)	<p>コレクチンは、コラーゲン様領域と糖認識領域を持ち、これらの領域を介して異物を認識することで、様々な免疫反応を惹起する生体防御分子であると考えている。申請者らはコレクチン CL-K1 を同定し、現在遺伝子改変マウスを用いて <i>in vivo</i> での機能解析を行っている。本研究では、遺伝子改変マウスを利用し、微生物感染に対する CL-K1 の生体防御における機能とコレクチン CL-K1 の新規の機能を明らかにすることを目的とした。</p>	
研究内容・成果 (1000 字程度)	<p>これまでの <i>in vitro</i> での検討の結果、CL-K1 は肺炎球菌と強い結合を示すことが明らかとなった。また、その結合様式は従来考えられていた糖認識領域を介したカルシウムイオン要求性の結合様式ではなく、糖鎖非特異的な電荷を介した結合であることを明らかにした。</p> <p>そこで CL-K1 の細菌感染に対する機能を明らかにするため、2 型肺炎球菌 D39 株を用いて感染実験を行い、感染後の表現型解析を行った。当施設では使用する CL-K1 ノックアウトマウスの繁殖を行い、感染実験は旭川医科大学の動物実験施設のバイオハザード安全対策室にて行った。実際の感染実験では、i) 感染後の生存率、ii) 感染後肺中の菌数、iii) 感染後肺の炎症スコアを比較することで評価を行った。全ての感染実験の前に、ワイルドタイプ(WT)マウスを用</p>	

	<p>いた感染予備検討を行ない、菌数の確認と実験動物苦痛軽減のための実験エンドポイントを決定した。肺炎球菌感染実験の結果、CL-K1 KO マウスは同腹 WT マウスと比較し、有意に低い生存率を示した。また、感染後の肺中肺炎球菌数が WT マウスと比較し有意に多いことから、感染後肺からの肺炎球菌除去能力が低下していることが明らかとなった。さらに、高い炎症反応を示すことが明らかとなった。このことから、CL-K1 遺伝子欠損により肺における高い炎症が惹起され生存率の低下につながることを明らかにした。</p> <p>コレクチン CL-K1 の新規の機能を明らかにするため、実験小動物用イメージング装置 Latheta LCT-200 を用いて 6 週齢成獣マウスおよび新生マウスの骨格撮影を行った。その後 3D 画像構築ソフト avizo を用いて WT と CL-K1 KO マウスの骨格形成の比較を行った。その結果、CL-K1 KO マウスにおいて骨の異常形成の表現型が明らかとなった。本来、自然免疫分子として様々な免疫反応に関与する CL-K1 が、胎生期、出産直後の形態形成の過程では、骨形成に関わっていることを明らかにした。</p>
<p>成果</p>	<p>【学会報告】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 大谷 克城、コレクチン CL-K1 の糖鎖認識と 3MC 症候群における変異の分子機構への影響、BMB2015（日本分子生物学会、日本生化学会合同大会）、神戸、2015. 12. 1-4 ・ 若宮 伸隆、Molecular basis of sugar recognition by CL-K1 and the effects of mutations associated with 3MC syndrome、GLYCO23 - 23rd International Symposium on Glycoconjugate, Split (Croatia)、2015. 9. 15-20 ・ ロイ ニタイ、スカベンジャー受容体 CL-P1 は、CRP を介して古典的経路を活性化する、日本補体学会、名古屋、2015. 8. 21-22 ・ 若宮 伸隆、新規コレクチン CL-K1 の糖鎖認識と生物学的活性についての解析、日本糖質学会、東京、2015. 7. 31- 8. 2 ・ 松田泰幸、新規コレクチン CL-K1 と相互作用する血漿由来タンパク質の同定、日本糖質学会、東京、2015. 7. 31- 8. 2 ・ 黄 仁秀、CL-K1 は、肺炎球菌感染に対し、補体レクチン経路を介して生体防御に機能する、日本糖質学会、東京、2015. 7. 31- 8. 2 <p>【論文発表】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ Venkatraman Girija U, Furze CM, Gingras AR, Yoshizaki T, Ohtani K, Marshall JE, Wallis AK, Schwaeble WJ, El-Mezgueldi M, Mitchell DA, Moody PC, Wakamiya N, Wallis R. Molecular basis of sugar recognition by collectin-K1 and the effects of mutations associated with 3MC syndrome.

	<p><i>BMC Biol.</i> 2015, 13, 27 (IF 7.210)</p> <ul style="list-style-type: none">• Troegeler A, Lugo-Villarino G, Hansen S, Rasolofo V, Henriksen ML, Mori K, Ohtani K, Duval C, Mercier I, Bénard A, Nigou J, Hudrisier D, Wakamiya N, Neyrolles O. Collectin CL-LK Is a Novel Soluble Pattern Recognition Receptor for <i>Mycobacterium tuberculosis</i>. <i>PLoS One.</i> 2015, 10(7), e0132692 (IF 3.702)
	<p>【新聞報道】</p> <p>なし</p>