

[3. マクロファージ活性化メカニズムの解析]

メチニコフ以来、マクロファージ(MΦ)研究には長年の歴史があり、樹状細胞を含む自然免疫系、さらにはその獲得免疫系との関わりも含めて、免疫学には膨大な知識が蓄積しており、確固とした体系を作り上げています。ところが近年、MΦの由来に関しては、これまでの常識を塗り替える新しい概念が作られました⁽¹⁾。炎症の場などのMΦ (recruited MΦ)は末梢血の単球由来であり、それらは勿論、骨髄の造血幹細胞からもたらされます。一方で、脳のマクログリア、皮膚のランゲルハンス細胞、肺胞MΦなどの組織在住マクロファージ(tissue resident MΦ)は、胚の卵黄嚢あるいは胎児肝臓の二次造血由来であることが示されました^(2,3)。このことはまた、tissue resident MΦが増殖可能な細胞であり、MΦが最終分化形質ではなく、多様に変化できる可能性を示しています。さらに各組織では、recruited MΦとtissue resident MΦとが共存して機能していることも示されました⁽⁴⁾。つまり、一般的に”マクロファージ“と呼ばれるものが、多様な細胞であり変幻自在な細胞であることが分かってきたこととなります。

そんな中でこれまで、MΦの活性化についてもM1とM2の2つのサブタイプに大別され、それぞれTh1 (classical pathway)およびTh2 (alternative pathway)の2つ経路によって活性化されると、おおまかに理解されてきました⁽⁵⁾。しかし、それらサブタイプのマーカー遺伝子が多数同定され、それらの発現の記載とサブタイプの分類は次第に細分化され⁽⁶⁾、2014年にはMΦのサブタイプを活性化因子ごとに少なくとも8つに分類することが提唱されました⁽⁷⁾。さらに、ガン転移などに関わる腫瘍随伴MΦ (CAM; cancer associated MΦ)の存在が注目されているものの、そのサブタイプは明確になっていません⁽⁸⁾。こういった混乱の中、マクロファージとはどのような細胞であるか、それを活性化する因子はどのようなものかを見直すことが、今後、ガン免疫療法など、免疫系を利用した治療法・健康法を適正に発展させて行く上で重要になると考えています。

そこでまず、ヒト由来の標準的なマクロファージの *in vitro* 実験系を確立するために、単球系培養細胞株 THP-1 および磁性ビーズを用いて、マクロファージの貪食活性を定量的に評価できるアッセイ系を確立しました。また、蛍光標識ビーズを用いた、測定の自動化も行っています。

1) Sieweke MH and Allen JE, *Science* **342**, 946-954 (2013), 2) Ginhoux F *et al*, *Science* **330**, 841-845 (2010), 3) Yona S *et al*, *Immunity* **38**, 79-91 (2013), 4) Schulz C *et al*, *Science* **336**, 86-90 (2012), 5) Sica A and Mantovani A, *The Journal of Clinical Investigation* **122**, 787-795 (2012), 6) Mellins ED *et al*, *Nat Rev Rheumatol* **7**, 416-426 (2011), 7) Murray PJ *et al*, *Immunity*, **41**, 14-20 (2014), 8) Szulzewsky F *et al*, *PLoS One*, **10**: e0116644 (2015)

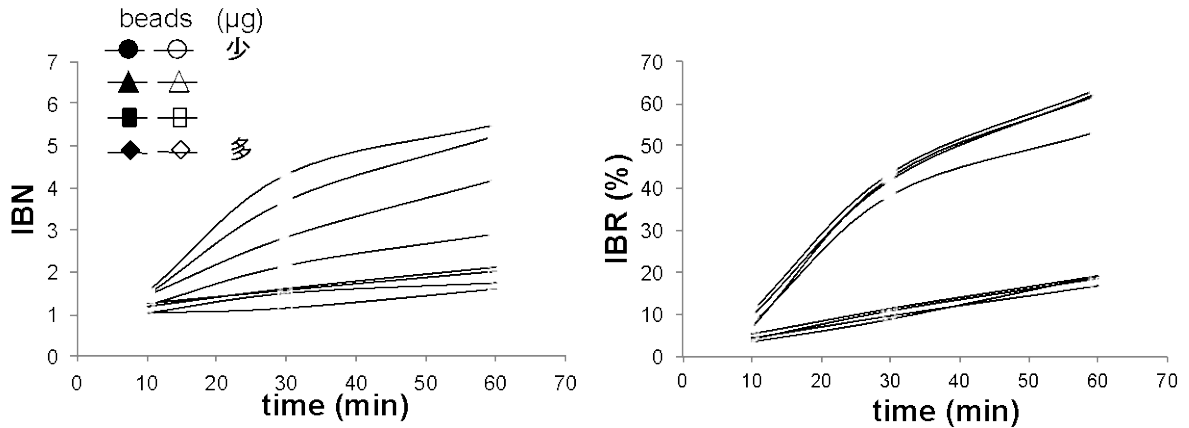
マクロファージ貪食能の評価法。マクロファージに蛍光標識ビーズを添加すると、貪食されたビーズはエンドソーム内のpHの低下により赤い蛍光を発する。それを画像解析により、全ビーズのうち貪食されたビーズの割合をその面積の比で算出する。

旧来の貪食活性評価指標 (IBN)

$$\text{IBN (internalized beads number)} = \frac{\text{視野内で貪食されているビーズの数}}{\text{視野内で貪食活性を示した細胞数}}$$

新規の貪食活性評価指標 (IBR)

$$\text{IBR (internalized beads ratio; \%)} = \frac{\text{視野内で貪食されているビーズの数}}{\text{視野内の全ビーズ数}} \times 100$$



マクロファージ貪食能の評価法。一般的に使用される貪食能を示す数値と今回荒田に提案する評価指標の計算式。その違いを一定量の細胞に対して、様々な量のビーズを加え貪食能を評価した。中黒のプロットは、活性化因子で活性化した場合。白のプロットは対照として活性化因子を加えていない場合。