単球遊走に関する最近の知見

亀井 政孝*

New observations on the monocyte trafficking

Masataka KAMEI*

Key words: monocyte, endothelium, diapedesis, transmigratory cup, invadosome-like protrusion

1. はじめに

1980~90年代に、血小板と白血球の生体環境に即した流動状況下での機能が分子レベルで飛躍的に解明され、両者の動態の類似性から、血小板、白血球ならびに血管内皮細胞が相互に協調作用しているであろうと強く予想されていた。そのような中、血小板が止血機構だけでなく炎症反応にも直接大きな影響を及ぼすことが発見され^{1)~3)}、現在、これら3者は密接に相互作用し、血拴止血と炎症反応は互いにリンクしていることが明らかとなってきた^{4)~6)}。白血球のうち単球(monocyte)は、動脈硬化症をはじめとする慢性炎症性疾患において中心的役割を担うことが知られており、血小板/白血球/血管内皮相互作用は、この単球を中心に解明が進められた。

単球は、循環血液中白血球の4%から10%を占め、炎症性単球(inflammatory monocyte)と常在性単球(resident monocyte)に大別され(表1)、マクロファージと樹状細胞の前駆細胞として知られていたが、現在では以前に考えられていたよりはるかに多才な機能を有することが明らかとなり、白血球の中で最も注目される存在となっている⁷⁾。

本項では、単球遊走(monocyte trafficking)に関する最近の基礎研究の知見のうち、特に、血

管外遊出(diapedesis)ルートならびに遊出に必要な構造である白血球インバドソーム様突起(invadosome-like protrusion)と血管内皮細胞横断遊走カップ(transmigratory cup)の形成、常在性単球の血管内パトロール行動、および脾臓の単球貯蔵機能について紹介する。

2. 血管外遊出

単球を含む白血球が血管内から血管外組織へ遊出し炎症誘発部位へ集積するためには、血管内皮細胞と基底膜により形成されるバリアーを通過する必要がある。一般に、白血球は血管内皮細胞と血管内皮細胞の間(gap)から遊出すると考えられてきた(para-cellular diapedesis)^{8)~9)}。しかし、近年、血管内皮細胞自体の実質内を通過するルート(trans-cellular diapedesis)の存在が報告され、現在では、単球を含む白血球は、これら二つのルートを介して血管内皮バリアーを突破することが明らかとなった^{10)~11)}(図1)。血管内皮細胞中を通過する白血球遊出では、白血球と血管内皮細胞が共同で血管内皮内に通路(pore)を作成すると考えられている^{10)~11)}。Carmanらは、単球やリンパ球(おそらく全白血球)は、ポドソーム(podosome)や浸潤突起(invadopodia)と類似性の高いインバドソーム様突起を白血球/血管内

*国立循環器病研究センター麻酔科〔〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1〕
Department of Anesthesiology, National Cerebral and Cardiovascular Center
[5-7-1 Fujishirodai Suita, Osaka 565-8565, Japan]
Tel: 06-6833-5012 Fax: 06-6872-7486 e-mail: mkamei@hsp.ncvc.go.jp

表1 単球サブセットの特徴

Type ^{23) 24) 29)}	Species	Antigen ^{23) 24) 29)}	General features ^{22) 23) 24)}
Inflammatory	Human	CD14 ^{hi} , CD16 ⁻ CCR2 ⁺ , CX3CR1 ^{low} CD62L ⁺ CD115 ⁺	*Constitute 80%-90% (human) or 50% (mice) blood monocytes. *Produce high levels of IL-10 (human) TNF- α & IL-1 (mouse).
	Mouse	Ly6C ^{hi} CCR2 ⁺ , CX3CR1 ^{low} CD62L ⁺ CD115 ⁺ , F4/80 ⁺ MHC class II ⁻ CD11c ⁻	*Contribute to antimicrobial defense. *Replenish tissue M ϕ & DCs. *Increase # in response to hypercholesterolemia.
Resident	Human	CD14 ⁺ , CD16 ⁺ CCR2 ⁻ , CX3CR1 ^{hi} CD62L ⁻ CD115 ⁺	*Constitute 10%-20% (human) or 50% of (mouse) of blood monocytes. *Produce TNF- α at high (human) or modest (mouse) levels. *Replenish tissue M ϕ & DCs.
	Mouse	Ly6C ^{low} CCR2 ⁻ , CX3CR1 ^{hi} CD62L ⁻ CD115 ⁺ , F4/80 ⁺ MHC-II	*Recruit other leukocytes early in inflammation via TNF- α ²⁶⁾ . *Reduce inflammation and promote wound healing ⁹⁾ . *Involved in angiogenesis ⁹⁾ .

CCL, C-C chemokine ligand; CCR, chemokine (C-C motif) receptor;
CX3CR, CX3C chemokine receptor; MHC, major histocompatibility complex;
IL, interleukin; TNF, tumor necrosis factor; M ϕ , macrophage; DC, dendritic cell.

図1 血管外遊出 (diapedesis)

単球を含む白血球は、血管内皮細胞と血管内皮細胞の間 (gap) から遊出するルート (para-cellular diapedesis) および、血管内皮細胞自体の実質内に通路 (pore) を形成し通過するルート (trans-cellular diapedesis) を介して血管外へ遊出する。横断遊走カップ (transmigratory cup) は、両ルートで形成される。

皮作用面で形成し、この突起をプローブとして使用しながら、血管内皮細胞中の遊出部位を決定し、通路を形成することを報告した¹²⁾。このイ

ンバドソーム様突起は、アクチン、ウイスコット・アルドリッチ症候群タンパク質 (WASP) および src 依存性であることが明らかとなっている^{12) 13)}。血管内皮側においても白血球遊出に必須な新たな構造が発見された。血管内皮細胞は、単球を含む白血球が接着 (adhesion) すると E-セ렉チン、血管細胞接着分子-1 (VCAM-1) および細胞接着分子-1 (ICAM-1) を豊富に含有するスパイク様のクラスターを白血球辺縁において形成することが報告されていた¹⁴⁾。このクラスターは、アクチンと低分子量 GTPase RhoA シグナリング依存性であり、微絨毛 (microvilli) 形成に重要な細胞骨格アダプターたんぱくであるエズリン/ラディ

キシン/モエシンたんぱく (ERM たんぱく) に富んでいた¹⁴⁾。近年、この血管内皮クラスターは、カップ様の構造をして白血球辺縁を包み込む形態をとっていることが証明された^{15) - 17)} (図1)。この新規に発見された構造物は、横断遊走カップ¹⁷⁾または docking structure¹⁵⁾と呼ばれ、白血球の血管内皮細胞への接着を増強¹⁵⁾し、血管外遊出を誘導する^{16) 17)}と考えられている。この横断遊走カップは、白血球の細菌貪食作用にみられるように、完全に白血球を埋包することではなく、白血球が細胞内皮中を通過するのに従って消失すると考えられている^{15) - 18)}。生体内で、単球を含む白血球がどちらのルートを使用し、どのように血管外へ遊出するかを決定しているのか明らかになっていない^{10) 11)}。

血管内皮を通過した白血球は、次に血管基底膜バリアーを突破する必要がある^{10) 19)}。好中球は、基底膜部位で細胞外マトリックスたんぱく質が相対的に疎な部位から遊出することが知られていた

が^{10) 19) 20)}、単球は好中球と異なった様式で基底膜を通過することが報告された²¹⁾。好中球は、基底膜をリモデリングし、通過部位を押し広げながら遊出するのに対し、単球は、自身の形態を自在に変形させながら基底膜をリモデリングすることなく遊出していることが報告された²¹⁾。このような単球の特性は、全身のあらゆる部位を恒常的に監視するのに極めて有利であると思われる。

3. 常在性単球の血管内パトロール行動

炎症性単球は、末梢組織が炎症刺激に曝されると直ちに血管外へ遊出し、炎症誘発部位へ集積し、マクロファージや樹状細胞へ分化する^{7) 22) - 24)}。この反応は、リンパ組織以外ではケモカイン (C-C モチーフ) レセプター 2 (CCR2)/C-C ケモカインリガンド (CCL) 2 (CCL2) 依存性であり、リンパ組織では CCL2 と CXCL9 ケモカインリガンド 9 (CXCL9) に反応して接着分子である L-セレクチン、CD43 および β 2 インテグリンを介して起こることが知られていた^{7) 22) 23)}。また、炎症が治まると、炎症性単球は直ちに骨髄へ移動すると報告されていた²⁵⁾。一方、常在性単球は、CCL3、CX3C ケモカインリガンド 1 (CX3CL1) および細胞接着分子-2 (ICAM-2) 依存性に恒常的に正常組織内へ遊出し、末梢組織常在マクロファージや樹状細胞へ分化し、これら免疫抗原提示細胞の供給源となることが知られていた^{23) 25)}。Auffray らは、常在性単球は、感染や組織障害などの炎症刺激がない状態では、微小血管内皮 (皮膚および腸微小血管の血管内皮) 上を、あたかもパトロールしているかのように遊走しており、炎症刺激がはいるとインテグリンリンパ球機能関連抗原 1 (LFA-1) と CX3C ケモカインレセプター 1 (CX3CR1) 依存性に血管外へ遊出し刺激部位へ集積することを報告した²⁶⁾。注目すべきは、炎症誘発部位へ最も早く集積する白血球が、定説である好中球ではなく、単球であるという点である。本モデルにおいては、常在性単球は、好中球よりも少なくとも 1 時間、炎症性単球よりも数時間も先行して炎症誘発部位へ集積し、炎症誘発早期では、炎症促進性サイトカインである腫瘍壊死因子 α (TNF- α) とインターロイキン 1 (IL-1) の主要

供給源が好中球ではなく常在性単球であった²⁶⁾。さらに、常在性単球のパトロール行動は、脳においても確認された²⁷⁾。全白血球中、炎症誘発部位へ真っ先に駆けつけるのは、好中球ではなく、常在性単球かもしれないというこの新知見は、急性炎症分野に衝撃を与えた。

4. 脾臓の単球貯蔵機能

脾臓が、血小板の貯蔵庫であることは古くから知られていたが、単球に対してもリザーバー機能を有することが報告された²⁸⁾。しかも、炎症性単球と常在性単球共に、循環血液中を凌ぐ数が貯蔵されていることが明らかにされた。マウス急性心筋梗塞モデルにおいて、心筋梗塞早期 (1~4 日) では、炎症性単球が、CCR2/CCL2 依存性に梗塞巣に集積し、障害をうけた心筋細胞を貪食し、その後、常在性単球が、CX3CR/CX3CL1 依存性に組織修復と血管新生を促進することが知られていた²⁹⁾。Nahrendorf らは、脾臓に貯蔵されていた炎症性単球が、CCR2 ではなくアンジオテンシン II を介して梗塞巣に集積することを報告した²⁸⁾。脾臓に貯蔵されている単球が、急性心筋梗塞以外の炎症性病変部位にも集積するのかどうかは明らかとなっていない。今後の研究成果が待たれる。

5. おわりに

単球遊走に関する新知見を紹介したが、依然として多くの謎は残されたままとなっている。特に、血管外から血管内への遊走 (reverse migration) と間質内の遊走 (interstitial migration) は、マクロファージや樹状細胞への分化過程にも密接に関係しており、解明が待たれる。また、本項では、内因性遊走阻害分子については紹介できなかったが、この領域の発展もめざましいものがある⁷⁾。特に、血管内皮のマイクロ RNA は、現在非常に注目されており、数種のマイクロ RNA が白血球/血管内皮相互作用に関係していることが報告されたが^{30) 31)}、多数存在する血管内皮マイクロ RNA の機能はいまだ未知なままである。

血小板を中心とする止血機構と白血球を中心と

する炎症機構が、全身をくまなく覆っている血管内皮細胞と共に相互作用し、密接にリンクしていることは神秘的ですらある。本項で紹介した論文は、全く新しい実験手法を開発することにより成果を得ているものが多いため、さらなる血栓止血と炎症相互作用の機序解明に向けて、優れたアイデアを提供してくれるものと思う。

Disclosure of Conflict of Interests

The author indicated no potential conflict of interest.

文 献

- 1) Larsen E, Celi A, Gilbert GE, Furie BC, Erban JK, Bonfanti R, Wagner DD, Furie B : PADGEM protein : a receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes. *Cell* **59** : 305-312, 1989.
- 2) Frenette PS, Johnson RC, Hynes RO, Wagner DD : Platelets roll on stimulated endothelium *in vivo* : an interaction mediated by endothelial P-selectin. *Proc Natl Acad Sci USA* **92** : 7450-7454, 1995.
- 3) Henn V, Slupsky JR, Gräfe M, Anagnostopoulos I, Förster R, Müller-Berghaus G, Kroczeck RA : CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* **391** : 591-594, 1998.
- 4) Gawaz M, Langer H, and May AE : Platelets in inflammation and atherogenesis. *J. Clin. Invest* **115** : 3378-3384, 2005.
- 5) Wagner DD and Frenette PS : The vessel wall and its interactions. *Blood* **111** : 5271-5281, 2008.
- 6) Chauhan AK, Kisucka J, Brill A, Walsh MT, Scheiflinger F, Wagner DD : ADAMTS13 : a new link between thrombosis and inflammation. *J Exp Med* **205** : 2065-2074, 2008.
- 7) Kamei M, Carman CV : New observations on the trafficking and diapedesis of monocytes. *Curr Opin Hematol* **17** : 43-52, 2010.
- 8) Lusinskas FW, Ma S, Nusrat A, Parkos CA, Shaw SK : Leukocyte transendothelial migration : a junctional affair. *Semin Immunol* **14** : 105-113, 2002.
- 9) Muller WA : Leukocyte-endothelial-cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response. *Trends Immunol* **24** : 327-334, 2003.
- 10) Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S : Getting to the site of inflammation : the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol* **7** : 678-689, 2007.
- 11) Sage PT, Carman CV : Settings and mechanisms for transcellular diapedesis. *Front Biosci* **14** : 5066-5083, 2009.
- 12) Carman CV, Sage PT, Sciuto TE, de la Fuente MA, Geha RS, Ochs HD, Dvorak HF, Dvorak AM, Springer TA : Transcellular diapedesis is initiated by invasive podosomes. *Immunity* **26** : 784-797, 2007.
- 13) Carman CV : Mechanisms for transcellular diapedesis : probing and pathfinding by 'invadosome-like protrusions'. *J Cell Sci* **122** : 3025-35, 2009.
- 14) Wojciak-Stothard B, Williams L, Ridley AJ : Monocyte adhesion and spreading on human endothelial cells is dependent on Rho-regulated receptor clustering. *J Cell Biol* **145** : 1293-1307, 1999.
- 15) Barreiro O, Yanez-Mo M, Serrador JM, Montoya MC, Vicente-Manzanares M, Tejedor R, Furthmayr H, Sanchez-Madrid F : Dynamic interaction of VCAM-1 and ICAM-1 with moesin and ezrin in a novel endothelial docking structure for adherent leukocytes. *J Cell Biol* **157** : 1233-45, 2002.
- 16) Carman CV, Jun CD, Salas A, Springer TA : Endothelial cells proactively form microvilli-like membrane projections upon intercellular adhesion molecule 1 engagement of leukocyte LFA-1. *J Immunol* **171** : 6135-6144, 2003.
- 17) Carman CV, Springer TA : A trans migratory cup in leukocyte diapedesis both through individual vascular endothelial cells and between them. *J Cell Biol* **167** : 377-388, 2004.
- 18) van Buul JD, Allingham MJ, Samson T, Meller J, Boulter E, García-Mata R, Burridge K : RhoG regulates endothelial apical cup assembly downstream from ICAM1 engagement and is involved in leukocyte trans-endothelial migration. *J Cell Biol* **178** : 1279-1293, 2007.
- 19) Rowe RG, Weiss SJ : Breaching the basement membrane : who, when and how? *Trends Cell Biol* **18** : 560-574, 2008.
- 20) Wang S, Voisin MB, Larbi KY, Dangerfield J, Scheiermann C, Tran M, Maxwell PH, Sorokin L, Nourshargh S : Venular basement membranes contain specific matrix protein low expression regions that act as exit points for emigrating neutrophils. *J Exp Med* **203** : 1519-1532, 2006.
- 21) Voisin MB, Woodfin A, Nourshargh S : Monocytes and neutrophils exhibit both distinct and common mechanisms in penetrating the vascular basement membrane *in vivo*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **29** : 1193-1199, 2009.
- 22) Imhof BA, Aurrand-Lions M : Adhesion mechanisms regulating the migration of monocytes. *Nat Rev Immunol* **4** : 432-444, 2004.
- 23) Gordon S, Taylor PR : Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol* **5** : 953-964, 2005.
- 24) Auffray C, Sieweke MH, Geissmann F : Blood monocytes : development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annu Rev Immunol* **27** : 669-692, 2009.
- 25) Varol C, Landsman L, Fogg DK, Greenshtein L, Gildor B, Margalit R, Kalchenko V, Geissmann F, Jung S : Monocytes give rise to mucosal, but not splenic, conventional dendritic cells. *J Exp Med* **204** : 171-180, 2007.
- 26) Auffray C, Fogg D, Garfa M, Elain G, Join-Lambert O, Kayal S, Sarnacki S, Cumano A, Lauvau G, Geissmann F : Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. *Science* **317** : 666-670, 2007.
- 27) Audoy-Rémus J, Richard JF, Soulet D, Zhou H, Kubes P, Vallières L : Rod-Shaped monocytes patrol the brain vasculature and give rise to perivascular macrophages under the influence of proinflammatory cytokines and angiopoietin-2. *J Neurosci* **28** : 10187-10199, 2008.
- 28) Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, Wildgruber M, Cortez-Retamozo V, Panizzi P, Figueiredo JL, Kohler RH, Chudnovskiy A, Waterman P, Aikawa E, Mempel TR, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ : Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites. *Science* **325** : 612-616, 2009.
- 29) Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, Stangenberg L, Wurdinger T, Figueiredo JL, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ : The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. *J Exp Med* **204** : 3037-3047, 2007.
- 30) Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, Mendell JT, Lowenstein CJ : MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105** : 1516-1521, 2008.
- 31) Yoshizaki K, Wakita H, Takeda K, Takahashi K : Conditional expression of microRNA against E-selectin inhibits leukocyte-endothelial adhesive interaction under inflammatory condition. *Biochem Biophys Res Commun* **371** : 747-751, 2008.