

免疫調節の解明と免疫病の修復をめざして



感染・免疫大部門 免疫調節分野

分野長 高津 聖志

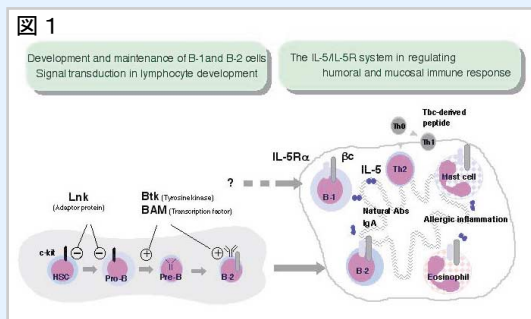
生命体の恒常性維持には外界からの異物や病原体の侵入をいかに排除するかが極めて重要であり、この目的のため哺乳動物は高度に進化複雑化を遂げた免疫システムを獲得している。この複雑な免疫システムの理解と制御を目指して多くの研究が推進されているが、難治性の感染症（例えばエイズ、マラリア、結核等）、アレルギー性疾患、移植片や細胞の拒絶反応の克服には未だ多くの困難が残されており、新たな視点からの研究が求められている。免疫細胞の発生、エフェクター細胞への増殖・分化の進行はそこに関わる遺伝子群の発現の時間的制御により達成される。したがって、個体免疫システムの維持機構、その破綻により生じる免疫異常の分子機構を明らかにすることは、免疫疾患の新しい治療法を開発する上で、もっとも重要な研究課題の1つである。

免疫調節分野では、ウイルス、病原性微生物やアレルゲンなどの外来抗原に対する免疫応答の機構とその異常を分子レベルで明らかにすること、免疫応答の破綻から派生する免疫異常症の解明と治療モデルを開発することを目指している。これまでの免疫学的知識を再構築し、免疫システム作動の分子機構の理解とその再生・制御のための技術的・知的基盤を確立することも視野に入れて、我々は現在3つの主要プロジェクトを中心に研究を推進している。（図1）詳細はAnnual Reportに譲るが、私が赴任後の主な研究成果を中心に紹介したい。



1細胞の機能解析、その増殖や生存、IgHクラススイッチ変換におけるIL-5の役割とメカニズムは現在精力的に解析している。IL-5を過剰発現するトランスジェニックマウスは自己抗体の産生や多クローン性B細胞の活性化を示す(J. Exp. Med. 173:429, 1991; DNA Cell. Biol. 5:481-491, 1993)。変異 Btk を発現する Xid マウスの B 細胞は IL-5 α 鎖陽性細胞が減少し、IL-5 応答も示さない(J. Exp. Med. 177:621, 1993; PNAS 92:10879, 1995)。IL-5の生理作用に関し、我々の研究によりB細胞重集団の発生や分化の研究に新しい知見が提供された。（図2）

図 1

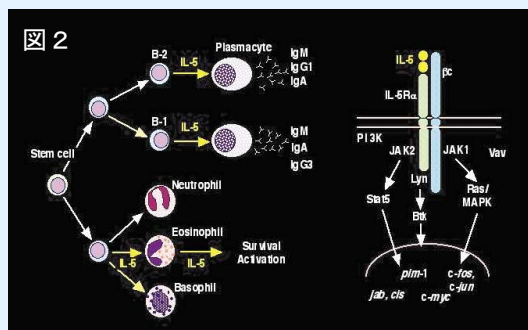


(1) IL-5とその受容体 (IL-5R) に関する研究

我々はB細胞の抗体産生細胞への最終分化を惹起するIL-5を発見し(J. Immunol. 123:2414, 1980)、そのcDNAの単離と全構造を決定するとともに(Nature 324:70, 1986)、IL-5がB細胞のみならず好酸球やT細胞などに多彩な活性を示すことを明らかにした(J. Exp. Med. 167:43, 1988; J. Exp. Med. 167:1737, 1988; PNAS 84:4581, 1987; PNAS 84:4234, 1987; PNAS 84:5399, 1987)。我々の作製した、抗IL-5抗体(PNAS 84:4581, 1987)はマウス及びヒトIL-5活性を中和するので、活性型IL-5の精製、ELISAアッセイ、生理作用の研究に大きく貢献している。

1) IL-5の機能解析: IL-5は自然抗体を産生するB-1細胞の発生や生存を維持するのみならず、粘膜リンパ固有層でのIgA, IgG3やIgMなどの自然抗体の産生を促進する(J. Immunol. 153:4218, 1990; J. Immunol. 162:821, 1999)。IL-5はB-2細胞による抗原特異的なIgG1やIgA抗体産生を促進するのみならず、C μ からC γ 1へのクラススイッチ組み替えを惹起する(J. Immunol. 162:2812, 1999; J. Immunol. 167:5018, 2001)。その誘導にLyn, Btk, STAT5, NF- κ B, Blimp-1, AIDの活性化が必須であるが(PNAS 92:10879, 1995; PNAS 94:10307, 1997; J. Immunol. 167:5018, 2001)、詳細なメカニズムは現在解析中である。IL-5はTGF- β と協調してB-2細胞による分泌型IgA産生を増強するが、TGF- β はC α 鎖へのクラス変換を誘導しIL-5はIgA前駆B細胞に作用しIgA産生を増強する(J. Exp. Med. 170:1415, 1989)。IL-5R陽性で粘膜免疫の一翼を担うB-

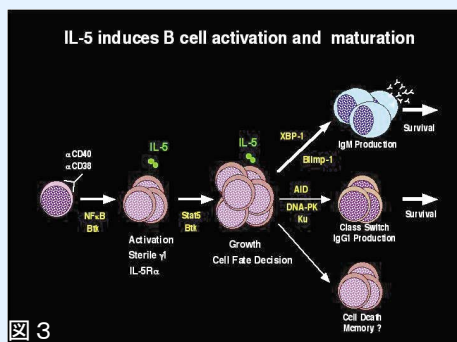
図 2



2) IL-5Rの構造解析: IL-5活性は α 鎖と β 鎖の異なるポリペプチドから構成される高親和性IL-5Rを介して伝達される(J. Exp. Med. 168:863, 1988; PNAS 86:2311, 1989)。IL-5結合分子に対する抗体(抗IL-5R α 鎖抗体)やIL-5R α 鎖欠損マウスを用いて、IL-5R α 鎖がB-1細胞や活性化B-2細胞、好酸球に発現していることを示した(J. Immunol. 53:4218, 1990; Immunology 4:374, 1996)。抗IL-5R α 鎖抗体を用いてマウスIL-5R α 鎖cDNAを単離し、ヒトIL-5R α 鎖の構造も決定した(EMBO J.9: 4367, 1990; J. Exp. Med. 175:341, 1992)。IL-3依存性細胞の増殖をも抑制する抗IL-5R抗体を用いてIL-5R β 鎖を同定し、 β 鎖がIL-5シグナルの伝達に必須の役割を果たすことを明らかにしている(Int. Immunol. 3:665, 1991; EMBO J. 10:2833, 1991; J. Exp. Med. 177:1523, 1993)。IL-5R α 鎖の細胞膜直下のプロリンに富む領域がIL-5依存性の細胞増殖や分化の誘導に必須であり、IL-5R α 鎖のC-末端領域がIL-5依存性のIgHクラススイッチ変換や抗体産生細胞への終末分化に必須であることを細胞レベル、個体レベルで明らかにしている(Mol. Cell. Biol. 12:7404, 1994; Blood 91: 2264, 1997; Immunology 102:289, 2001)。

3) IL-5のシグナル伝達: IL-5刺激により惹起される、IL-5R β 鎖のチロシンリン酸化やJAK2/STAT5の活性化、LynやX染色体連鎖免疫不全症(ヒトXLAやマウスXid)の原因遺伝子産物であるBtkの活性化が、そのシグナル伝達に必須であることをSTAT5欠損マウス、Lyn欠損マウス、Btk欠損マウスを用いて証明した(Mol. Cell. Biol. 12:7404, 1994; J. Exp. Med. 180: 2101, 1994; Im-

munity 2:451, 1995; Blood 91: 2264, 1998; Blood 95: 1370, 2000)。Btk の PH ドメインに会合する核内蛋白質 BAM11 を同定し、BAM11 が Btk の活性を抑制すること、細胞内非レセプター型チロシンキナーゼと考えられていた Btk が BAM11 とともに核内に共存することを初めて示した (Int. Immunol. 12:1397, 2000)。我々の解析により、それまで不明であった B 細胞不全マウスの病態形成のメカニズムの一部が明らかになった。(図 3)

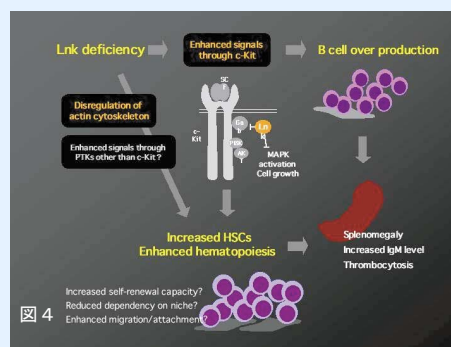


4) IL-5 とアレルギー性炎症に関する研究: ヒトおよびマウス IL-5 は選択的な好酸球の増殖・分化因子である (J. Exp. Med. 167:43, 1988; J. Exp. Med. 167:1737, 1988)。モルモットの喘息発症モデルを用いて、遅発相の I 型アレルギーの病態に IL-5 過剰産生が関与すること、抗 IL-5 抗体の投与により好酸球増多と気道過敏性の亢進を抑制できることを示した (Am. Rev. Respir. Dis. 146:374, 1992; Am. Rev. Respir. Dis. 147:540, 1993; Allergy 48:98, 1993)。IL-5 の研究により好酸球主体のアレルギー性炎症の概念が形成され、IL-5 をアレルギー疾患の標的分子と捉えてアレルギーの治療戦略を考える素地がうまれた。実際、抗 IL-5 抗体投与によるヒトアレルギー性炎症治療の前臨床試験が欧米でなされつつある。本研究プロジェクト [Molecular and cellular networks in allergic responses] は Human Frontier Science Program による支援をえて国際共同研究として推進された。好酸球増多を示す IL-5 トランスジェニックマウスや好酸球減少を示す IL-5R 欠損マウスはアレルギー性炎症、寄生虫排除、自己免疫疾患発症の研究に世界中で利用されている。

(2) リンパ球、造血細胞の恒常性維持と細胞内アダプター蛋白質
リンパ系組織に発現するアダプター蛋白質 Lnk およびそのファミリー蛋白質群に着目して解析している。このプロジェクトは高木智助教授を中心に推進されており、すでに「医科研 Now」にその詳細が報告されている (医科研 Now, vol. 17, P4-5, 1991)。Lnk は主にリンパ組織で発現される SH2 ドメインを持つアダプター蛋白質である。Lnk 欠損マウスでは T 細胞分化に異常はないものの、脾臓での幼若 B 細胞の蓄積、SCF 反応性亢進による骨髄 B 前駆細胞の過剰産生が観察され、Lnk が B 細胞の産生を制御していることがわかった。また Lnk は PH ドメインも持つ 68 kDa の蛋白質であることを明らかにしている (Immunity 13:599, 2000)。Lnk はシグナル伝達の抑制分子として働くアダプター蛋白質ファミリーの一員と考えられる。

Lnk は c-Kit シグナル伝達系を抑制し B 細胞産生の恒常性維持に重要な働きを持つこと、Lnk 欠損マウスでは c-kit を介する増殖シグナルが増強されていることが示された。Lnk 遺伝子の過剰発現は前駆 B 細胞のみならず B 細胞系列の増殖や分化の抑制、T 細胞の分化の抑制も惹起する (J. Immunol. 162:2850, 2003)。Lnk は造血前駆細胞にも発現しており、その欠損により造血前駆細胞の増殖および造血能が著しく亢進する (J Exp Med. 195:151, 2002)。Lnk は c-Kit 活性化による Gab2 のリン酸化、MAPK の活性化を抑制する。これらの知見は造血前駆細胞の増殖・分化機構の理解および制御法開発に大きく貢献すると期待している。最近、Lnk 欠損マウスで造血幹細胞の比率が著明に増加していることが分かったので、造血幹細胞の増殖を負に調節する Lnk の研究インパクトは大きく拡がると考えている。Lnk の作用を阻害する変異体の作製にも成功しており、Lnk 機能の遮断により造血幹細胞の機能制御に用いる可能性が示されている。(図 4)

Lnk ファミリーアダプター蛋白質に属する APS の遺伝子欠損マウスはリンパ球や顆粒球に Lnk とは異なる異常が観察されている (未発表)。SH2-B 欠損マウスはリンパ球の分化には異常が認められないものの、生殖細胞の分化に異常が観察されている (Mol Cell Biol. 22:3066, 2002)。このように、Lnk ファミリーアダプター蛋白質の研究は幹細胞や前駆 B 細胞の発生・増殖制御の研究に新し



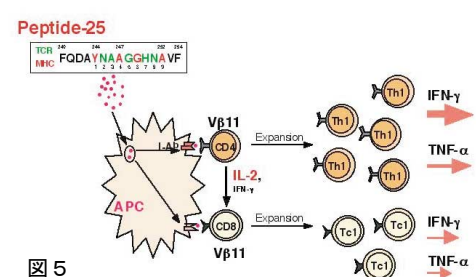
いページを付け加えるものと大いに期待している。

(3) 結核菌由来ペプチドによる Th1/Th2 細胞の分化機構の研究

結核菌は細胞内寄生菌でありマクロファージ等のファゴソームで生存するので、マクロファージを活性化して殺菌することが重要である。結核患者のリンパ球や結核菌感染マウスのリンパ球を用いた解析から、抗結核免疫の主たるエフェクター細胞として Th1 細胞が関与することがわかり、エフェクター分子はマクロファージを活性化する IFN- γ や TNF- α である。CD8 $^{+}$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞も抗結核免疫の重要なエフェクター細胞である。

結核菌体成分は強力な細胞性免疫を惹起するのみならず、共存する抗原に対する免疫応答を増強する活性 (アジュバント活性と呼ばれる) を示す。全遺伝子構造が分かっている、Ag85B (α 抗原ないし MPT59 と呼ばれる) はマイコバクテリア属に保存されている蛋白質であり、細胞壁に存在しミコール酸合成に関与する。Ag85B は PPD 反応陽性のヒトおよび結核菌感作マウスに最も強い免疫反応性を示すが、我々は Ag85B がマウスに免疫原性を示し Th1 応答を選択的に惹起することを見出した (Int. Immunol. 9:139, 1997)。さらに、Ag85B の主たる抗原エピトープが 240-254 番目のアミノ酸残基に相当するペプチド (Peptide-25) であること、Peptide-25 が I-A b 拘束性に強い免疫原性を示し大量の IFN- γ や TNF- α を産生する TCRV β 11+ T 細胞を誘導し抗結核免疫を増強することを見出した (Infect. Immun. 67:4312, 1999)。Peptide-25 で Th1 細胞株を刺激する場合も抗原処理が必須である結果から、Peptide-25 はスーパー抗原ではないと考えられる。興味あることに、Peptide-25 を他の抗原と共免疫するとその抗原に対する Th1 応答も惹起する。卵白アルブミン (OVA) を腫瘍抗原モデルとして Peptide-25 と共にマウスに免疫した場合、OVA 単独免疫よりも OVA 特異的 CTL 誘導の増強が認められた。この効果は CD4 $^{+}$ T 細胞、IFN- γ 依存性である。このように、Peptide-25 は Th1 誘導型ペプチドの性状を有しており、それを利用することにより腫瘍特異的 CTL 生成を増強できる。(図 5)

Peptide-25 induces Th1 type response



抗原に対する Th1 への分化決定に APCs、サイトカイン、免疫機能分子や副刺激分子、転写因子などが緊密に関与することは明らかにされているが、そのメカニズムは不明の点が多い。Peptide-25 反応性 V β 11 陽性 Th1 クローン、TCR α 鎖及び TCR β 鎖をクローニングし、Peptide-25 特異的 TCR $\alpha\beta$ を発現する TCR-Tg マウスを作製したので、Peptide-25 による Th1 細胞への分化機構を遺伝子レベルで解析したい。また、Peptide-25 と自然免疫を活性化するリガンドを併用して、強力な細胞性免疫を優先的に生成させアレルギー性疾患を抑制する新しい治療法の開発を目指したい。Peptide-25 をベースにしたペプチドに糖質や脂質を更に付加し、獲得免疫のみならず自然免疫の活性化も惹起できるようリガンドを開発し、抗腫瘍免疫の増強もほかりたい。