

## サイトカインのシグナル制御と免疫制御の分子機構

Molecular Mechanism of Regulation of the Cytokine Signal and Immunity

吉村 昭彦 (Yoshimura Akihiko)  
慶應義塾大学・医学部・教授



### 研究の概要

本研究は申請者らが発見したSOCSやSpredなどのサイトカインシグナル制御遺伝子の生理的、病理的な機能を解明することで、サイトカインシグナルの制御による免疫ホメオスタシス維持の分子機構とその破綻による免疫関連疾患の発症機構を解明することを目標とする。同時にこれらの研究の発展として未知の制御分子の検索を行いサイトカインによる免疫制御の全体像を分子レベルで理解することを目標とする。

### 研究分野:

科研費の分科・細目: 医歯薬・免疫学

キーワード: シグナル伝達、負の制御、免疫制御、アレルギー自己免疫疾患、炎症

### 1. 研究開始当初の背景

サイトカインは免疫応答のみならず造血、炎症、癌など広範な疾患とも関連が深い。サイトカインはネットワークをつくり特にマクロファージや樹状細胞などの自然免疫系の細胞やT細胞などの獲得免疫系の細胞を制御する。これらの作用を細胞内のシグナル伝達の観点から理解し、新たな免疫調節の方法論を開発することが求められている。さらに **Th17** や **iTreg** などの新たな細胞集団も発見されこれらの発生、分化、機能制御を理解する上でも、サイトカインのシグナル制御についての理解が求められている。

### 2. 研究の目的

申請者らは世界にさきがけてサイトカインによって誘導されそのシグナルを負に制御する分子群 **CIS/SOCS** ファミリーを発見した(1995年)。2001年にはサイトカイン、増殖因子による **ERK** 活性化を選択的に抑制する分子 **Spred** を発見した。本研究ではこれらの分子を各種臓器において特異的に欠失したマウス (**cKO** マウス) を作製し解析を行い、サイトカインシグナルの制御による免疫ホメオスタシス維持の分子機構とその破綻による免疫関連疾患の発症機構を解明することを目的とする。

同時にまだ未解明の免疫制御機構、例え

ば **cAMP** や **TGF $\beta$**  による免疫抑制の分子機構を解明し、炎症性疾患や自己免疫疾患との関係を明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1) **SOCS1**, **Spred-1** コンディショナルノックアウト (**cKO**) マウスの作製と解析  
**cKO** マウスは常法に従い **SOCS1** や **Spred-1** 遺伝子の coding 領域の両側に **flox** 配列を挿入し相同組み替えによってマウスを得る。さらに **Cre**-トランスジェニック (**Tg**) マウスもしくは **ノックイン** マウスとの交配により **cKO** マウスを得る。

(2) 新規免疫抑制物質の探索と機能解明  
繊維芽細胞の培養上清に含まれる樹状細胞からの **LPS** による **TNF** や **IL-12** 産生の抑制分子を同定する。

(3) **cAMP** による免疫抑制機構の解明  
**プロスタグランジン E2 (PGE2)**、**ヒスタミン**、**細胞外 ATP**、**下垂体アデニルシクラーゼ活性化ペプチド (PACAP)** などの様々な化学メディエーターやペプチドは細胞内 **cAMP** 濃度の上昇を介して抑制する。**cAMP** によって誘導される遺伝子に注目して、**cAMP** の抑制作用の本体の同定を行う。

(4) **TGF $\beta$**  による免疫抑制機構の解明  
① **TGF $\beta$**  によって誘導される **Foxp3** と **ROR $\gamma$ t** のプロモーター解析を行い誘導の分子機構を解明する。② **TGF $\beta$ -Smad** による免疫抑

制機構の本質を理解するためにSmad2/3 cKOマウスを作製し解析を行う。

#### 4. これまでの成果

(1) SOCS の Th17 分化における機能解明  
近年 Th1/2 に加えて誘導性 Treg(iTreg)や Th17 など Th 細胞の新たなサブセットについての報告・知見が集積してきており、免疫の恒常性維持もしくは破綻はこれらの様々な Th 細胞群のバランスにより生じるのではないかと考えられるようになってきている。SOCS1 は IFN $\gamma$  のシグナルを抑制することで Th17 促進に、SOCS3 は IL-6 や IL-23 を抑制することで Th17 抑制に作用することを明らかにした。さらに SOCS1 欠損においては TGF $\beta$ -Smad の活性化が抑制されていることも明らかにした。

(2) SOCS の Treg 分化における機能解明  
SOCS1 欠損 T 細胞では nTreg が 2 倍以上に増加していることを発見した。一方 SOCS3 欠損 SOCS3 樹状細胞は TGF $\beta$  の産生を介して Foxp3 陽性 Treg を選択的に増幅した。

#### (3) SOCS と炎症性発がんの関係

SOCS 研究の過程で SOCS1 欠損マウスに大腸がんが自然発症すること、およびヒト肝臓がん(HCC)で SOCS1 の遺伝子サイレンシングが高頻度で見られることや SOCS3 タンパクの発現が癌部で低いことなどから図のような炎症と発がんに関する 2 step-model を発表した。

(4) 新規免疫抑制物質の探索と機能解明  
繊維芽細胞から産生される、TNF や IL-12 産生の抑制因子をプロスタグランジン E2 (PGE2) と同定した。PGE2 は細胞内 cAMP 濃度の上昇を介して樹状細胞からの TNF や IL12 産生を抑制する。我々は *c-fos* を cAMP による抑制効果を担う因子の候補として同定した。cAMP は *c-fos* の転写を促進し TLR によって活性化される IKK によってリン酸化をうけ、その結果安定化されて NF- $\kappa$ B を抑制するモデルを提唱した。

#### (5) TGF- $\beta$ /Smad による免疫抑制作用の解析

Foxp3 プロモーターの解析から Smad による Foxp3 の転写制御の機構を明らかにした。

#### (6) Spred1 が家族性神経細胞腫の原因遺伝子であることの発見

SPRED1 は NF1 症候群の原因遺伝子の一つであり、Ras 経路を抑制する新しい癌抑制遺伝子の候補であることが示唆された。

#### 5. 今後の計画

SOCS1 および SOCS3 に関しては flox マウスが完成し、各種 cKO マウスの作製、解析が順調に進行している。これらを活用し免疫制御に関して新しいパラダイム

を確立することをめざす。また Smad2/3 欠損マウス、細胞、Foxp3 や ROR $\gamma$ t プロモーターなどこれまでの研究の蓄積がある。これらを活用することで独自性を高める。

PGE2-cAMP 経路に関しては *c-fos* を樹状細胞に強制発現させた Tg マウス、樹状細胞特異的 cKO マウスを作製し生理的な意義を明らかにする。Spred1 に関しては KO マウスの解析、細胞レベルでの解析を進め病態を分子レベルで理解する。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む) (研究代表者は太字、研究分担者は二重下線、 連携研究者は一重下線)

平成 19 年度 日本生化学会柿内三郎賞

平成 19 年度 持田記念学術賞

Koga K, Takaesu G, Yoshida R, Nakaya M, Kobayashi T, Kinjyo I, Yoshimura A. Cyclic adenosine monophosphate suppresses the transcription of proinflammatory cytokines via the c-Fos protein phosphorylated by IKKbeta *Immunity* 2009 30(3): 372-383

Lu LF, Thai TH, Calado DP, Chaudhry A, Kubo M, Tanaka K, Loeb GB, Lee H, Yoshimura A, Rajewsky K, Rudensky AY. Foxp3-dependent microRNA155 confers competitive fitness to regulatory T cells by targeting SOCS1 protein. *Immunity*. 2009 30(1):80-91.

Takaki H, Ichiyama K, Koga K, Chinen T, Takaesu G, Sugiyama Y, Kato S, Yoshimura A, Kobayashi T. STAT6 inhibits TGF-beta 1-mediated Foxp3 induction through direct binding to the Foxp3 promoter, which is reverted by retinoic acid receptor. *J Biol Chem*. 2008 283(22):14955-62

Tanaka K, Ichiyama K, Hashimoto M, Yoshida H, Takimoto T, Takaesu G, Torisu T, Hanada T, Yasukawa H, Fukuyama S, Inoue H, Nakanishi Y, Kobayashi T, Yoshimura A. Loss of Suppressor of Cytokine Signaling 1 in Helper T Cells Leads to Defective Th17 Differentiation by Enhancing Antagonistic Effects of IFN- $\gamma$  on STAT3 and Smads. *J Immunol*. 2008 15;180(6):3746-56.

Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nat Rev Immunol*. 2007 Jun;7(6):454-65.

Brems H, Chmara M, Sahbatou M, Denayer E, Taniguchi K, Kato R, Somers R, Messiaen L, De Schepper S, Fryns JP, Cools J, Marynen P, Thomas G, Yoshimura A, Legius E. Germline loss-of-function mutations in SPRED1 cause a neurofibromatosis 1-like phenotype. *Nature Genet*. 2007 39(9):1120-6.

ホームページ等

<http://www.immunoreg.jp/>