

免疫系シグナル伝達機構とその異常に起因する免疫病態の研究
Signal transducing pathways in immune cells and immunological disorders caused by their dysfunctions

菅村 和夫 (Sugamura, Kazuo)
東北大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要

免疫不全症、自己免疫疾患、炎症性疾患などの免疫系シグナル異常に起因する免疫病態を解明するために以下の3つの課題に取り組む。 1) サイトカインシグナル異常 2) T細胞補助シグナル異常 3) T細胞受容体シグナル異常

研究分野/科研費の分科・細目/キーワード

医学/病理・免疫学/免疫疾患、サイトカイン、シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景・動機

サイトカイン γ c鎖シグナル系およびOX40シグナル系の異常によるT細胞分化・活性化異常と病態の解明を目指す。

2. 研究の目的

- 1) サイトカインシグナル伝達制御における新規分子STAM1、STAM2、Hrsの役割解明
- 2) T細胞補助シグナル分子OX40からのシグナルと自己免疫疾患発症との関連性を明らかにし、OX40-OX40L系を標的とした自己免疫治療法を開発する。
- 3) T細胞シグナル伝達分子Gads / Grf40異常による免疫不全症発症機序の解明、およびヒト免疫不全症におけるGads / Grf40異常の同定

3. 研究の方法

前述分子の遺伝子欠損マウスおよび遺伝子導入マウスを作成し、生体内におけるこれら分子の機能を解析する。また、OX40関連自己免疫疾患の発症機序解析において疾患感受性遺伝子の同定を試みる。また、免疫不全症患者の遺伝子配列を解析し、新たな免疫不全症原因遺伝子の同定を行う。いずれの実験においても遺伝子配列の解析は不可欠であり、それを迅速に実行するためにジェネティックアナライザおよびPCR Thermal Cyclerを購入し、使用した。また、遺伝子改変マウス由来の細胞や遺伝子改変細胞株を実験操作するためにセイフティキャビネットを購入・使用した。

4. 研究の主な成果

1-1) サイトカイン受容体分解・リサイクリングにおけるSTAMsおよびHrs役割

STAM1/2 遺伝子二重欠損マウスあるいはHrs 欠損マウス由来の細胞株を用いて、哺乳類細胞におけるSTAMsならびにHrsの機能的役割について解析した。その結果、STAMs あるいはHrs が欠損するとエンドサイトーシスされたEGF受容体やgp130の分解遅延がみられ、これらのサイトカイン受容体からのシグナルが増強・遷延化した。従って、STAMs、Hrs はサイトカインシグナル伝達分子の分解・リサイクリングに関与することによりサイトカインシグナルを制御することが明らかになった。

1-2) STAM1 会合分子AMSHの機能解析

STAMs 会合分子として同定した脱ユビキチン化酵素AMSHの機能解析を行うために、AMSH 会合分子の同定を試み、CHMP3を同定した。CHMP3はESCRTIII分子である。そこで、CHMP3と結合できないAMSH変異体や脱ユビキチン化酵素活性を欠失した変異体を細胞株に導入したところ、エンドソームからのユビキチン化タンパク質輸送が著しく障害された。従って、AMSH-CHMP3系はユビキチン化タンパク質の細胞内輸送に重要な役割を果たすことが示唆された。

1-3) 癌細胞悪性形質維持におけるHrsの役割: Hrsは多くの悪性腫瘍で発現量の増大が見られる。そこで、種々の癌細胞株でshRNAを用いてHrs発現を人為的に抑制したところ、contact inhibitionや

[4. 研究の主な成果 (続き)]

足場依存性増殖の回復が見られ、*in vivo* 癌細胞増殖能と転移能も強く抑制された。さらに、Hrs 発現抑制細胞では E-カドヘリンの細胞質内発現量が増大し、そのために核に移行すべき β カテニンが細胞質に滞留することが明らかになった。以上より、Hrs はこれまでとは異なる機序の癌細胞悪性形質維持分子であると考えられる。

2-1) OX40 シグナルによる免疫寛容破綻

自己免疫疾患やアレルギー発症機序を理解する上で、免疫寛容維持と破綻の分子機構の解明は極めて重要である。他方、我々は免疫系 OX40 シグナルの自己免疫発症への関与を明らかにしてきた。近年、免疫寛容維持に必須の細胞として CD25 陽性制御性 T (Treg) 細胞の役割が重要視されている。そこで、Treg 細胞機能と OX40 シグナルとの関連性を検討した。その結果、OX40L-Tg マウス由来 APC 存在下では Treg 細胞が全く抑制効果が発揮できないことを見いだした。この結果は OX40 シグナルによって Treg 細胞機能が破綻したことを意味する。さらに、*in vivo* においても過剰な OX40-OX40L 結合が Treg 細胞機能を破綻させることが分かった。以上の結果より、OX40 シグナルが、Treg 細胞依存的免疫寛容を無効にすることにより、自己免疫発症を惹起することが示唆された。

2-2) : 炎症性腸疾患 (IBD) の責任遺伝子の同定

OX40L-Tg マウスは C57BL/6 系統依存的に炎症性腸疾患 (IBD) を自然発症する。そこで、OX40L 遺伝子導入で疾患を発症する感受性系統と疾患を発症しない抵抗性系統を交配し、遺伝子連鎖解析を行うことにより IBD 感受性遺伝子座の同定を試みた。その結果、マウス 4 番、8 番、19 番染色体に疾患発症に関連する遺伝子座を同定した。その中で、4 番染色体に位置する IBD 感受性遺伝子座は QTL 解析で Lod スコア 7.4 と極めて有意であった。同部位の候補遺伝子を 13 個にまで限定し、疾患感受性遺伝子の同定を行っている。

3) Gads/Grf40 変異の同定

本邦および仏国の CD4 陽性 T 細胞欠損を呈する免疫不全症患者 5 名の Gads・Grf40 遺伝子配列を検索したが正常であった。従って、ヒト免疫不全症に Gads / Grf40 遺伝子異常が関与する証拠は得られなかった。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

T 細胞補助シグナル分子 OX40 に関する研究成果は世界的な評価を受けており、臨床応用の可能性が高い点でも注目されている。また、STAM1/2、Hrs に関する研究は、哺乳類細胞におけるこれら分子の機能を明らかにした点で評価されている。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

- 1) Toyoshima M., Tanaka, N., **Sugamura, K.** et al.: Inhibition of tumor growth and metastasis by deletion of hepatocytes growth factor-regulated tyrosine kinase substrate (Hrs), a key regulator of monoubiquitinated protein sorting: Hrs-mediated regulation of E-cadherin and β -catenin. *Cancer Res*, 67: in press
- 2) Ishikawa Y, Tanaka N., **Sugamura K.** et al: Phage ϕ C31 integrase-mediated genomic integration of the common cytokine receptor gamma chain in human T-cell lines. *J. Gene Medicine*, 8, 646-653, 2006.
- 3) Soroosh, P., Ine, S., **Sugamura, K.**, Ishii, N.: OX40-OX40 ligand interaction through T cell-T cell contact contributes to CD4 T cell longevity. *J. Immunol.*, 176: 5975-5987, 2006
- 4) Kobayashi H, Tanaka N., **Sugamura K.** et al: Hrs, a mammalian master molecule in vesicular transport and protein-sorting, suppresses the degradation of ESCRT proteins STAM1 and STAM2. *J. Biol. Chem.*, 180:10468-10477, 2005.
- 5) Wang, X., Ishii, N., **Sugamura, K.**, Paigen, B. et al: Positional identification of *TNFSF4*, encoding OX40 ligand, as a gene that influences atherosclerosis susceptibility. *Nat. Genet.*, 37:365-372, 2005
- 6) **Sugamura, K.**, Ishii, N., Weinberg, A. D.: Therapeutic targeting of the effector T-cell co-stimulatory molecule OX40. *Nature Rev. Immunol.*, 4, 420-431, 2004
- 7) Takeda, I., **Sugamura, K.**, Ishii, N. et al: Distinct roles for the OX40-OX40L interaction in regulatory and non-regulatory T cells. *J. Immunol.*, 172, 3580-3589, 2004
- 8) Yamada, M., Ishii N., **Sugamura, K.** et al: Signal-transducing adaptor molecule STAM1 and STAM2 are required for T-cell development and survival. *Mol. Cell. Biol.*, 22, 8648-8658, 2002

ホームページ

<http://www.med.tohoku.ac.jp/~immunol/index.html>