

科学研究費補助金（特別推進研究）公表用資料
〔事後評価用〕

平成 15 年度採択分

平成 20 年 3 月 31 日現在

研究課題名（和文） サイトカインによる免疫応答制御機構と
自己免疫疾患の発症機構
研究課題名（英文） Regulation of Immune responses and autoimmune diseases
by cytokines
研究代表者
平野 俊夫（HIRANO TOSHIO）
大阪大学・大学院生命機能研究科・教授



研究の概要：自己免疫性関節炎を自然に発症する F759 マウスでの T 細胞や樹状細胞の免疫学的機能異常を明らかにし、正常の免疫応答の制御機構の一端を明らかにすることを目的とした。以下の成果を得た：1 IL-6 刺激による非免疫系組織の活性化が別のサイトカインを介して免疫細胞（メモリーCD4+T 細胞）の活性化を引き起こして自己免疫となる。2 非免疫系細胞には IL-17 と IL-6 の刺激を引き金とする IL-6 の正のフィードバックループが存在して生体の IL-6 量を制御している。F759 マウスは SOCS3 が働かずにその IL-6 ループが暴走し、過剰な IL-6 発現を介して病気を引き起こす。さらに、この研究の過程で発見された亜鉛シグナルの存在を証明して免疫反応との関連を示すことができた。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学・6913

キーワード：メモリーT細胞、サイトカイン、亜鉛、細胞内信号

1. 研究開始当初の背景

IL-6 は、gp130 を信号伝達分子とする。gp130 の SOCS3 信号経路を遮断した F759 マウスは、生後 1 年ほどで自己免疫性関節炎を自然発症する。一方、我々は若齢時から過剰のメモリーT細胞を持ち、脾臓・肝臓にリンパ球が浸潤する BL10#4 を発見した。F759 マウスでは、BL10#4 マウスと同様に関節炎発症に先立ちメモリーT細胞の増加を来す。これら2つマウスの形質は、メモリーT細胞分化の制御機構破綻が自己免疫疾患の発症に関与する可能性を強く示唆した。

2. 研究の目的

- 1) F759 マウスに見られる自己免疫性関節炎の発症メカニズムを解析する。
- 2) IL-6 の免疫細胞への機能を詳細に検討する。
- 3) サイトカイン信号とメモリーT細胞の制御機構を明らかとする。

さらに、2004年に細胞内亜鉛シグナルの存在の発見という予想外の研究成果を得たので細胞内亜鉛シグナル研究を推進することも目的に加えた。

3. 研究の方法

4. 研究の主な成果

サイトカイン IL-6 の信号伝達異常にて生じる自己免疫性関節炎の発症機序

F759 マウスを用いた交配実験、骨髄移植実験：F759 関節炎を抑制する遺伝子として IL-4, FAS, CD8 を増強する遺伝子として RAG, CD4, C2TA, IL-6, IFN γ , TNF α , WSX1, IL-7R を同定した。また、骨髄移植実験から非免疫系の細胞に F759 変異が入っていれば自己免疫性の関節炎が生じることが判明した。

F759 マウスの造血系細胞；T細胞、樹状細胞の研究：免疫系の細胞、T細胞、樹状細胞への F759 変異は炎症を抑えるような作用が有った。

F759 マウスの病気の発症メカニズムの解析：1 IL-6 刺激による非免疫系組織の活性化が別のサイトカインを介して免疫細胞（メモリーCD4+T細胞）の活性化を引き起こして自己免疫となる。2 非免疫系細胞には IL-17 と IL-6 の刺激を引き金とする IL-6 の正のフィードバックループが存在して生体の IL-6 量を制御している。F759 マウスは SOCS3 が働かずにその IL-6 ループが暴走し、過剰な IL-6 発現を介して病気を引き起こす。

[4. 研究の主な成果 (続き)]

サイトカインによる免疫反応の制御: 免疫組織におけるIL-6信号の研究として、IL-6による樹状細胞の活性化抑制機構を証明した。さらに、TLR信号による樹状細胞のMHC class II分子小胞の移動メカニズムを解明した。IL-2によるメモリーCD8+T細胞活性化制御の研究した。さらに、オーメン症候群モデルマウスを作出し、その病態に恒常的なCD4+T細胞の分裂が関わっていることを示した。

亜鉛シグナルの存在の証明と自己免疫疾患との関連: 亜鉛シグナルの発見: サイトカインの信号伝達分子 STAT3 と亜鉛トランスポーター、Zip6 のリンクを発見した。STAT3-Zip6 の信号が Snail を制御して細胞運動をコントロールする。

亜鉛トランスポーターのノックアウトマウス: Zip13 ノックアウトマウスでは結合組織、骨、皮膚等に異常が生じ、BMP、TGF β の信号伝達系でSmadの核移行が阻害されていた。**樹状細胞の活性化と亜鉛シグナル:** 樹状細胞への TLR 信号は亜鉛トランスポーターの発現を変化させて、数時間のスパンで細胞内の亜鉛濃度の減少を導く、この亜鉛の減少が樹状細胞依存性の CD4+T 細胞の活性化に必須である。

肥満細胞と亜鉛シグナル: 肥満細胞への Fc ϵ R 刺激は数分以内に細胞内の亜鉛濃度の増加、亜鉛波、を誘導する。亜鉛波と同程度の細胞内亜鉛の増加は細胞内のチロシン脱リン酸化酵素の活性を抑制して MAP キナーゼの活性化からサイトカインの転写を誘導する。**自己免疫疾患と亜鉛シグナル:** 亜鉛水は自己免疫疾患、コラーゲン誘導性関節炎、多発性硬化症のモデルである EAE を有為に抑制した。そのとき、血清中の IL-17 濃度は減少して、試験管内では亜鉛の添加は Th17 細胞の分化を有為に抑制した。

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

(1) 免疫学的意義が有る概念としては、非免疫組織の遺伝子異常を介して免疫細胞、特に、CD4+T 細胞が、抗原非特異的に異常なサイトカインの産生を起し、組織特異的な自己免疫疾患を誘導することを示したことである。これまで、組織特異的な自己免疫疾患の発症には、T 細胞による抗原認識が重要とのドグマがあった。

今回の研究を通じてそのドグマに合わない組織特異的な自己免疫疾患の発症があることを示すことができた。今後、この概念に基づく研究を行って、実際のヒトでの組織特異的な自己免疫疾患の発症に本概念の発症機構が本当に関与しているかを調べる必要が有る。

(2) 亜鉛シグナルの発見は免疫のみならず、学問分野を超えて生命科学全体に大きく貢献するものと考えられる。亜鉛のセカンドメッセンジャーとして作用機序を明らかにしていきたい。

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) Yamasaki, S., K. Sakata-Sogawa, A. Hasegawa, T. Suzuki, K. Kabu, E. Sato, T. Kurosaki, S. Yamashita, M. Tokunaga, K. Nishida and **T. Hirano**. Zinc is a novel intracellular second messenger. *J. Cell Biol.* 177: 637-645, 2007.
- 2) *Khiong, K., *M. Murakami, C. Kitabayashi, N. Ueda, S. Sawa, A. Sakamoto, B. L. Kotzin, S. J. Rozzo, K. Ishihara, M. Verella-Garcia, J. Kappler, P. Marrack, and **T. Hirano**. Homeostatic proliferating CD4 T cells are involved in the pathogenesis of an Omenn syndrome murine model. *J. Clin. Invest.* 17: 1270-1281, 2007. (*equal contribution)
- 3) Kitamura, H., H. Morikawa, H. Kamon, M. Iguchi, S. Hojyo, T. Fukada, S. Yamashita, T. Kaisho, S. Akira, M. Murakami and **T. Hirano**. Toll-like receptor-mediated regulation of zinc homeostasis influences dendritic cell function. *Nature Immunol.* 7: 971-977, 2006.
- 4) Sawa, S., D. Kamimura, G.-H. Jin, H. Morikawa, H. Kamon, M. Nishihara, K. Ishihara, M. Murakami, and **T. Hirano**. Autoimmune arthritis associated with mutated IL-6 receptor gp130 is driven by STAT3/IL-7-dependent homeostatic proliferation of CD4+ T cells. *J. Exp. Med.* 203:1459-1470, 2006.
- 5) Kitamura, H., H. Kamon, S. Sawa, S.-J. Park, N. Katsunuma, K. Ishihara, M. Murakami and **T. Hirano**. IL-6-STAT3 controls intracellular MHC class II $\alpha\beta$ -dimer level through Cathepsin S activity in dendritic cells. *Immunity* 23: 491-502, 2005.
- 6) Yamashita, S., C. Miyagi, T. Fukada, N. Kagara, Y.-S. Che, and **T. Hirano**. Zinc transporter LIV1 controls epithelial-mesenchymal transition in zebrafish gastrula organizer. *Nature*, 429, 298-302, 2004.

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molonc/www/index.html>