

免疫担当細胞における増殖と分化のシグナル

Growth and Differentiation Signaling in the Immune System

(研究プロジェクト番号: JSPS-RFTF 96L00307)

プロジェクトリーダー

谷口 維紹 東京大学大学院医学系研究科・教授

コアメンバー

田中 信之 東京大学大学院医学系研究科・助教授

瀧 伸介 東京大学大学院医学系研究科・講師

高岡 晃教 東京大学大学院医学系研究科・助手



1. 研究目的

本研究ではインターフェロン(IFN)- γ 転写制御因子 IRF (interferon regulatory factor) 関連の変異マウスを用い、これらの異常についての分子レベルでの詳細な解析を通じて、免疫担当細胞の発生分化および活性化機構に関わる細胞シグナリングにおける IFN 系や IRF ファミリーの役割を明らかにすることを目的として、以下の2つの観点より研究プロジェクトを推進した。

1) リンパ球系細胞の増殖・分化のシグナリング (谷口 維紹、瀧 伸介): 転写制御因子 IRF-1 欠損マウスでは、ナチュラルキラー (NK) 細胞が分化しないことを見出したことより、このマウスを解析することにより、NK 細胞の分化における IRF-1 転写因子の役割を明らかにする。また、別の IRF ファミリー転写因子である IRF-2 の遺伝子欠損マウスにおいて生後 8 週齢頃から皮膚炎症が観察されることを見出した。この皮膚炎症のメカニズムを追究することより、CD8⁺ T 細胞応答の制御系におけるインターフェロン(IFN)- γ の役割及び、その際の IFN シグナル伝達系における IRF-2 の機能について明らかにする。さらに、単球・マクロファージ系前駆細胞からの破骨細胞分化誘導因子と知られている RANKL のシグナル伝達制御系の解析を、特に、活性化 T 細胞上に発現している RANKL とその際に産生される IFN- γ とのクロストークという観点から推し進め、骨代謝と免疫系をつなぐ新たな領域を開拓する。

2) 免疫担当細胞分化および機能発現におけるシグナリング(谷口 維紹、田中 信之、高岡 晃教): IFN シグナル伝達系は免疫系の制御に極めて重要な役割を果たしている。生体防御系における IFN 産生機構での IRF ファミリー転写因子の分子制御について IRF ファミリー転写因子欠損マウスを用いて、解明する。さらに IFN シグナリングのクロストークによる生体防御系での新たな制御メカニズムの解析を行う。

2. 研究成果概要

A. リンパ球増殖・分化のシグナリング

A-1) 転写因子 IRF-1 が NK 細胞の分化に必須であることを明らかにした。実際に IRF-1 が IL-15 遺伝子の転写を制御することにより、NK 細胞の前駆細胞に働き、分化を誘導することに重要な役割を担っていることが明らかとなった。このような NK 細胞の分化に必須の転写因子の発見は、NK 細胞が重要な働きをなす感染症や癌等に対する治療法の開発に有力な標的となり得ると考えられる。

A-2) 生後 8 週齢頃より IRF-2 欠損マウスに出現する皮膚炎症の発症に、IFN- γ によって活性化される

転写因子 ISGF3 の構成成分である IRF-9 を介する IFN- γ シグナルが必須な役割を果たしていることを明らかにした。一方、IRF-2 欠損マウスの皮膚や脾臓での IFN- γ の発現は野生型マウスと変わらないが、IFN 誘導遺伝子群の発現は著しく上昇していた。このことは、IRF-2 は IFN- γ シグナルの負の制御因子として機能しており、その欠損が IRF-9 を介して伝達される IFN- γ シグナルの亢進をもたらすことを示している。さらに、この IFN- γ シグナルの抑制因子である IRF-2 欠損マウスにおいて CD8⁺ T 細胞異常活性化による炎症性皮膚病変を発症することを明らかにした。このことは、今後の自己免疫疾患の治療法の開発において新たな標的分子を提示することとなり、新たな展開が期待される。

A-3) 活性化 T 細胞が、破骨細胞分化因子 RANKL による破骨細胞形成を強力に抑制することを見出した (図 1)。更に、この作用は活性化 T 細胞から産生された IFN- γ を介し、ユビキチン・プロテアソーム系を活性化して、RANKL の受容体である RANK 下流のシグナル分子である TRAF6 タンパクの分解を促進する調節機構が存在していることを明らかにした。このように、活性化 T 細胞は RANKL をも発現していることから、T 細胞の破骨細胞分化への作用は、RANKL と IFN- γ のシグナルバランスによって決定されると考えられた。これまで、リウマチ骨破壊の病態はほとんど不明であったが、破骨細胞分化活性化及びその抑制機構が解明され、それを標的とすることで、新たな治療戦略が生まれる可能性が出てきた。今後は、免疫系による骨代謝制御をさらに解明することで、リウマチ骨破壊への新たなアプローチの展開が期待される。

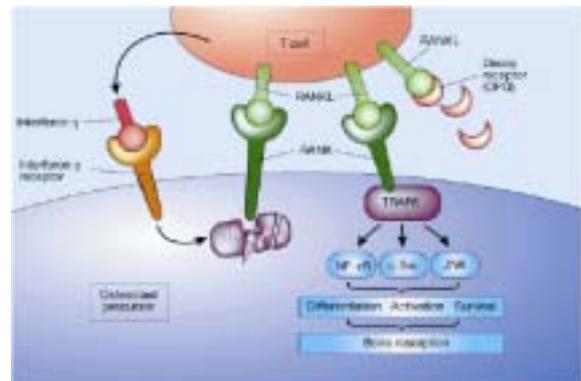


図 1: RANKL と IFN- γ のシグナルバランスによる T 細胞の破骨細胞分化への作用。

B. 免疫担当細胞分化および機能発現におけるシグナリング

- B-1) 我々は、IRF ファミリー転写因子 IRF-3 及び IRF-7 がウイルス感染による IFN- γ / 遺伝子の発現誘導に関わる必須因子であることを実証した。このことにより、今後、ウイルス感染に伴う IRF-3/IRF-7 の活性化機構を解明することで、自然免疫系の根幹をなす IFN- γ / 遺伝子の発現機構の全貌が明らかになると共に、ウイルス感染の防御、治療法の開発への有力な標的となり得ると考えている。
- B-2) IFN- γ 及び IFN- γ / 受容体のカベオラ膜画面上での新たなシグナルクロストークを発見した(図2)。即ち、構成的に微量に産生されている IFN- γ / による弱いシグナルが、IFN- γ の効率の良い応答を発現するために必須の役割を果たしていることが分子レベルで明らかにされた。生体防御系のように迅速に強力な応答が求められる系においては、構成的な弱い IFN- γ / シグナルが常にその応答の準備をしているという、生体防御を高次レベルで解析していく上で重要な発見であると考えられ、これまでに知られていない新たな分野の開拓に繋がった。今後、高次レベルでの生体防御機構の更なる解明が期待できる。

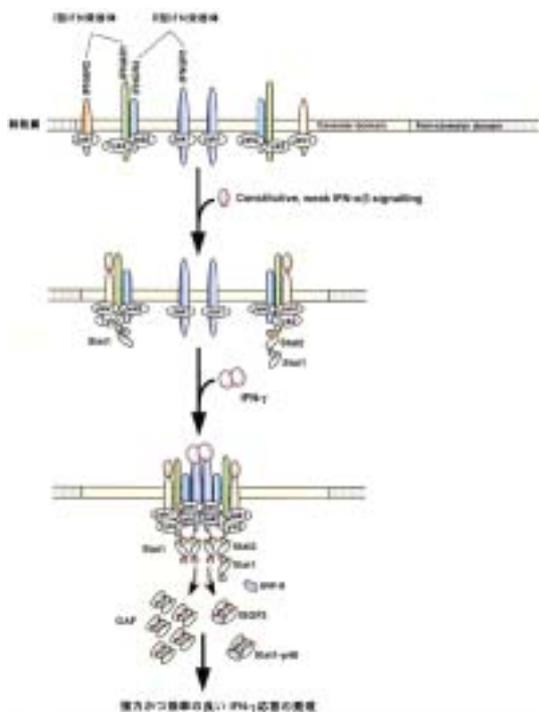


図2：IFN- γ と IFN- γ / 受容体レベルでのシグナルクロストーク：構成的に微量に産生されている IFN- γ / による弱いシグナルの生体防御系での重要性。

- B-3) IRF-1 欠損 MEF では DNA 損傷時に p53 下流の p21 遺伝子の DNA 損傷による発現誘導が障害されており、このことによって細胞周期の停止が起こらないことを明らかにした。さらに p21 のプロモーターが IRF-1 と p53 によって協調的に活性化されることを見出し、癌抑制遺伝子である転写因子が協調して同じ標的遺伝子を活性化する現象を初めて見いだした。これらの結果を含め、マウス個体での解析から、IRF-1 が新規の高発がん感受性遺伝子 (tumor susceptibility gene)であることを明らかにした。

- B-4) p53 依存性に転写誘導される新規遺伝子 *Noxa* を単離した。*Noxa* タンパクは Bcl-2 homology (BH) 3-only ファミリーに分類される新たなアポトーシス実行因子であることが明らかとなった。このことは、p53 による癌抑制機構において、新たな機構を見いだしたことであり、今後、この分野の更なる発展が期待できる。

3. 結論

以上の研究成果を基に、ウイルス・細菌感染における生体防御メカニズムの解明が進んだことは特記すべき点と考えられる。特に、IFN- γ / の発現を調節している転写因子が如何にして効率的にウイルス感染の防御を担っているか、の一端を解明できたことは、今後、感染の防御に対し有効な手だてを開発するうえで重要となるものと考えられる。また、シグナル系のクロストークといった生体シグナルの複雑系の解析は自己免疫疾患など多くの疾患の原因究明にも大きな貢献をするものと期待される。一方で、本研究では「免疫シグナルによる骨形成の制御」という新しい分野を開拓し、そのメカニズムについても解析が進んだ。このことは、慢性関節リウマチ、骨粗鬆症など現在社会が抱える難病の治療と予防に関する新しい展望をもたらすものと考えている。

主要な発表論文

1. Tanaka, N., Ishihara, M., Lamphier, M., Nozawa, H., Matsuyama, T., Mak, T.W., Aizawa, S., Tokino, T., Oren, M. and Taniguchi, T.; Cooperation of the tumor suppressors IRF-1 and p53 in response to DNA damage. (1996). *Nature*, **382**, 816-818.
2. Taki, S., Sato, T., Ogasawara, K., Fukuda, T., Sato, M., Hida, S., Suzuki, G., Mitsuyama, M., Shin, E.-H., Kojima, S., Taniguchi, T. and Asano, Y.; Multistage regulation of Th1-type immune responses by the transcription factor IRF-1. (1997). *Immunity*, **6**, 673-679.
3. Ogasawara, K., Hida, S., Azimi, N., Tagaya, Y., Sato, T., Yokochi-Fukuda, T., Waldmann, T.A., Taniguchi, T. and Taki, S.; Requirement of IRF-1 for the microenvironment supporting natural killer cell development. (1998). *Nature*, **391**, 700-703.
4. Oda, E., Ohki, R., Murasawa, H., Nemoto, J., Shibue, T., Yamashita, T., Tokino, T., Taniguchi, T. and Tanaka, N.; Noxa, a BH3-only member of the Bcl-2 family, and candidate mediator of p53-induced apoptosis. (2000). *Science*, **288**, 1053-1058.
5. Takaoka, A., Mitani, Y., Suemori, H., Sato, S., Yokochi, T., Noguchi, S., Tanaka, N., and Taniguchi, T.; Cross talk between interferon- γ and - β signaling components at caveolar membrane domains. (2000). *Science*, **288**, 2357-2360.
6. Sato, M., Suemori, H., Hata, N., Asagiri, M., Ogasawara, K., Nakao, K., Nakaya, T., Katsuki, M., Noguchi, S., Tanaka, N., and Taniguchi, T.; Distinct and essential roles of transcription factors IRF-3 and IRF-7 in response to viruses for IFN- γ gene induction. (2000). *Immunity*, **13**, 539-548.
7. Takayanagi, H., Ogasawara, K., Hida, S., Chiba, T., Murata, S., Sato, K., Takaoka, A., Yokochi, T., Oda, H., Tanaka, K., Nakamura, K. and Taniguchi, T.; T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN- γ . (2000). *Nature*, **408**, 600-605.
8. Hida, S., Ogasawara, K., Sato, K., Abe, M., Takayanagi, H., Yokochi, T., Sato, T., Hirose, S., Shirai, T., Taki, S. and Taniguchi, T.; CD8⁺ T cell-mediated skin disease in mice lacking IRF-2, the transcriptional attenuator of interferon- γ signaling. (2000). *Immunity*, **13**, 643-655.
9. Taniguchi, T., Ogasawara, K., Takaoka, A., and Tanaka, N.; IRF family of transcription factors as regulators of host defense (2001). *Ann. Rev. Immunol.* **19**, 623-655.
10. Taniguchi, T. and Takaoka, A.; A weak signal for strong responses: Interferon- γ / . (2001). *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **2**, 378-386.