

「生体防御のメカニズム」  
平成7年度採択研究代表者

奥村 康

(順天堂大学医学部 教授)

## 「免疫系と神経・内分泌系の立体的分子機構の解明」

### 1. 研究実施の概要

これまで別個の現象としてとらえられてきた免疫神経内分泌系の現象のクロストークを細胞分子のレベルで明らかにすることを本プロジェクトの目的とする。我々はかねてより TNF/TNFR ファミリー分子について研究を続けてきており、これらの分子の神経系疾患における役割について検討を加えた。CD27/CD70 および OX40/OX40L 相互作用がマウス実験脳炎モデルである experimental allergic encephalitis (EAE) の発病に関与していることが明らかとなった。また TNFR ファミリーを介する NF- $\kappa$ B の活性化に関与する新たなシグナル伝達分子 TNFR-associated factor (TRAF) 5 を遺伝子クローニングし、さらにそのノックアウトマウスを作製し、TRAF5 の *in vivo* における役割を明らかにした。さらにアポトーシスを誘導する FasL や TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) といった TNF ファミリーに属する分子の標的細胞破壊や腫瘍拒絶における役割を明らかにした。これらの解析を通じて、TNF/TNFR ファミリー分子を介する細胞増殖あるいは細胞死などの分子メカニズムを明らかにすることができた。

### 2. 研究実施内容

- (1) 免疫神経内分泌系の相互作用を明らかにするためにマウス OX40L に対するモノクローナル抗体を作製し、実験脳炎モデルである EAE における役割を検討した。その結果抗体投与群においては著明な神経症状の改善が認められ、そのメカニズムとしては神経組織への細胞浸潤が著明に抑制されており、OX40/OX40L 相互作用が中枢神経の炎症時のリンパ球の浸潤に必須の役割を担っていることが明らかとなった。
- (2) TRAF5 の *in vivo* における役割を検討するために TRAF5 ノックアウトマウスを作製した。TRAF5 ノックアウトマウスでは、TNF, CD40, CD27 など介する NF- $\kappa$ B や SAPK の活性化は予想に反して正常に認められたが、CD40 刺激による B 細胞の増殖や CD23, CD80, CD86 などの表面分子の上昇に障害が認められた。また T 細胞依存性抗原に対する抗体産生の低下が認められた。こ

ることから、TRAF5 は CD40 を介するシグナルの一部を NF- $\kappa$ B あるいは JNK の経路を経ずに伝達していることが示された。

(3) 最近クローニングされた新たな TNF ファミリーに属しアポトーシスを誘導することの知られている TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) の生理的機能を明らかにするためにモノクローナル抗体を作製した。その解析からヒト TRAIL はある種の CD4 陽性 T 細胞クローン細胞上に発現しており、パーフォリン、FasL につぐ、第三の細胞障害活性経路を担っていることが明らかとなった。

(4) IL-12 投与時にみられる腫瘍拒絶におけるエフェクター細胞について検討した。IL-12 投与にともなう腫瘍拒絶は NKT 細胞の存在しない RAG1 欠損マウスでも認められ、NK 細胞除去によりその拒絶が認められなくなることより、IL-12 投与時のエフェクター細胞としては、これまでの報告されている NKT 細胞以外に NK 細胞も関与していることが明らかとなった。

(5) テレピン油による発熱応答における IL-1 の役割について IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha/\beta$  ノックアウトマウスを用いて検討した。その結果テレピン油を腹腔内投与した場合、IL-1 $\alpha/\beta$  ノックアウトマウスでは全く発熱が認められないことが明らかとなった。野性型マウスにおいては、発熱中枢があることが知られている間脳で IL-1 が強く発現していたことから、脳内の IL-1 の発熱への関与が示唆された。また、間脳における IL-1 $\alpha$  の発現は、IL-1 $\beta$  の発現に強く依存しており、IL-1 $\beta$  KO マウスでは IL-1 $\alpha$  の発現もおこらず、発熱も認められなかった。一方、IL-1 $\beta$  の発現は IL-1 $\alpha$  の発現に依存しておらず、IL-1 $\alpha$  KO マウスでは発熱が見られた。これらの結果から、テレピン油で誘導した発熱においては、脳内の IL-1 $\beta$  が主要な役割を果たしていることが示唆された。

### 3. 主な研究成果の発表 (論文発表)

○Kashiwada, M., Y. Shirakata, J.-I. Inoue, H. Nakano, K. Okazaki, K. Okumura, T. Yamamoto, H. Nagaoka, and T. Takemori. Tumor Necrosis Factor Receptor-associated Factor 6 (TRAF6) Stimulates Extracellular Signaling Kinase (ERK) Activity in CD40 Signaling Along a Ras-independent Pathway. *J. Exp. Med.* 187:237-244, 1998.

○Akiba, H., M. Atsuta, H. Yagita, and K. Okumura. Identification of rat OX40 ligand by molecular cloning. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 251, 1:131-6, 1998.

○Akiba, H., H. Nakano, S. Nishinaka, M. Shindo, T. Kobata, M. Atsuta, C. Morimoto, C.F. Ware, N.L. Malinin, D. Wallach, H. Yagita, and K. Okumura.

1998. CD27, a member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, activates NF- $\kappa$ B and stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase via TRAF2, TRAF5, and NF- $\kappa$ B-inducing kinase. *J. Biol. Chem.* 273, 21:13353-8, 1998.
- Hattori, K., T. Hirano, H. Miyajima, N. Yamakawa, M. Tateno, K. Oshimi, N. Kayagaki, H. Yagita, and K. Okumura. Differential effects of anti-Fas ligand and anti-tumor necrosis factor  $\alpha$  antibodies on acute graft-versus-host disease pathologies. *Blood* 91, 11:4051-5, 1998.
- Kawamura, T., K. Takeda, S.K. Mendiratta, H. Kawamura, L. Van Kaer, H. Yagita, T. Abo, and K. Okumura. Critical role of NK1+ T cells in IL-12-induced immune responses in vivo. *J. Immunol.* 160, 1:16-9, 1998.
- Mogi, S., T. Ebata, Y. Setoguchi, M. Fujime, Y. Heike, T. Kohsaka, H. Yagita, K. Okumura, and M. Azuma. Efficient generation of autologous peripheral blood-derived cytotoxic T lymphocytes against poorly immunogenic human tumors using recombinant CD80-adenovirus together with interleukin 12 and interleukin 2. *Clin. Cancer Res.* 4, 3:713-20, 1998.
- Nakajima, A., T. Kodama, S. Morimoto, M. Azuma, K. Takeda, H. Oshima, S. Yoshino, H. Yagita, and K. Okumura. Antitumor effect of CD40 ligand: elicitation of local and systemic antitumor responses by IL-12 and B7. *J. Immunol.* 161, 4:1901-7, 1998.
- Nakano, H., M. Shindo, S. Sakon, S. Nishinaka, M. Mihara, H. Yagita, and K. Okumura. Differential regulation of I $\kappa$ B kinase  $\alpha$  and  $\beta$  by two upstream kinases, NF- $\kappa$ B-inducing kinase and mitogen-activated protein kinase/ERK kinase kinase-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 7:3537-42, 1998.
- Oshima, H., H. Nakano, C. Nohara, T. Kobata, A. Nakajima, N.A. Jenkins, D.J. Gilbert, N.G. Copeland, T. Muto, H. Yagita, and K. Okumura. Characterization of murine CD70 by molecular cloning and mAb. *Int. Immunol.* 10, 4:517-26, 1998.
- Saito, K., J. Sakurai, J. Ohata, T. Kohsaka, H. Hashimoto, K. Okumura, R. Abe, and M. Azuma. Involvement of CD40 ligand-CD40 and CTLA4-B7 pathways in murine acute graft-versus-host disease induced by allogeneic T cells lacking CD28. *J. Immunol.* 160, 9:4225-31, 1998.
- Seino, K., K. Iwabuchi, N. Kayagaki, R. Miyata, I. Nagaoka, A. Matsuzawa, K. Fukao, H. Yagita, and K. Okumura. Chemotactic activity of soluble Fas ligand against phagocytes. *J. Immunol.* 161, 9:4484-8, 1998.

- Shindo, M., H. Nakano, S. Sakon, H. Yagita, M. Mihara, and K. Okumura. Assignment of I $\kappa$ B kinase  $\beta$  (*IKK $\beta$* ) to human chromosome band 8p12 $\rightarrow$ p11 by in situ hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.* 82, 1-2:32-3, 1998.
- Shindo, M., H. Nakano, H. Kuroyanagi, T. Shirasawa, M. Mihara, D.J. Gilbert, N.A. Jenkins, N.G. Copeland, H. Yagita, and K. Okumura. CDNA cloning, expression, subcellular localization, and chromosomal assignment of mammalian aurora homologues, aurora-related kinase (ARK) 1 and 2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 1:285-92, 1998.
- Hong, N.M., K. Masuko-Hongo, H. Sasakawa, T. Kato, T. Shirai, K. Okumura, K. Nishioka, and T. Kobat. Amelioration of lymphoid hyperplasia and hypergammaglobulinemia in lupus-prone mice, gld by Fas ligand gene transfer. *J. Autoimmunity*, 11; 301-307, 1998.
- Tsukada, N., T. Kobata, Y. Aizawa, H. Yagita, and K. Okumura. Graft-versus-leukemia (GVL) effect and graft-versus-host disease (GVHD) can be differentiated by cytotoxic mechanisms in a murine model of allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, 93: 2738-2747, 1999.
- Suzuki, N., A. Nakajima, S. Yoshino, K. Matsushima, H. Yagita, and K. Okumura Selective accumulation of CCR5+ T lymphocytes into inflamed joint of rheumatoid arthritis. *Int. Immunol.*, 11: 553-559, 1999.
- Kayagaki, N., N. Yamaguchi, M. Nakayama, A. Kawasaki, H. Akiba, K. Okumura, and H. Yagita. Involvement of TRAIL in human CD4+ T cell-mediated cytotoxicity. *J. Immunol.*, 162; 2639-2647, 1999.
- Kayagaki, N., Yamaguchi, N., Nakayama, M., Eto, H., Okumura, K. and H. Yagita. Type I Interferones (IFNs) Regulate Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand (TRAIL) Expression on Human T Cells: A Novel Mechanism for the Antitumor Effects of Type I IFNs. *J. Exp. Med.* 189:1451-1460, 1999.
- Kodama, T., K. Takeda, O. Shimozato, Y. Hayakawa, M. Atsuta, K. Kobayashi, M. Ito, H. Yagita, and K. Okumura. Perforin-dependent NK cell cytotoxicity is sufficient for anti-metastatic effect of IL-12. *Eur. J. Immunol.* 29:1-7, 1999.
- Hatakeyama, S., M. Kitagawa, K. Nakayama, M. Shirane, M. Matsumoto, K. Hattori, H. Higashi, H. Nakano, K. Okumura, K. Onoe, R. A. Good, and K.-I. Nakayama. Ubiquitin-dependent degradation of I $\kappa$ B is mediated by a novel ubiquitin ligase SCF<sup>FWD1</sup>. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 3859-3863, 1999.
- Shimozato, O., K. Takeda, H. Yagita, and K. Okumura Expression of CD30

ligand (CD153) on murine activated T cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 256: 519-526, 1999.

○Akiba, H., H. Oshima, K. Takeda, M. Atsuta, H. Nakano, A. Nakanjima, C. Nohara, H. Yagita, and K. Okumura. CD28-independent costimulation of T cells by OX40 ligand and CD70 on activated B cells. J. Immunol. J. Immunol. 162: 7058-7066, 1999.

○Takumi, T., C. Matsubara, Y. Shigeyoshi, K. Taguchi, K. Yagita, Y. Maebayashi, Y. Sakakida, K. Okumura, N. Takashima and H. Okamura. A new mammalian period gene predominantly expressed in the suprachiasmatic nucleus. Genes Cells, 3, 167-176, 1998.

○Takumi, T., K. Taguchi, S. Miyake, Y. Sakakida, N. Takashima, C. Matsubara, Y. Maebayashi, K. Okumura, S. Takekida, S. Yamamoto, K. Yagita, L. Yan, M. W. Young and H. Okamura. A light independent oscillatory gene mPer3 in mouse SCN and OVLN. EMBO J., 17, 4753-4759, 1998.

他 17 件