

「アレルギー疾患・自己免疫疾患などの発症機構と治療技術」
平成 20 年度採択研究代表者

高井 俊行

東北大学 加齢医学研究所 遺伝子導入研究分野・教授

受容体制御による新しい免疫療法の構築

1. 研究実施の概要

研究のねらい:免疫制御受容体である PIR-B/LILRB による自己抗体産生の制御の機構を探る一環として、自然抗体の産生、PIR-B 欠損における自己抗体の産生における TLR9 の活性亢進機構を解明する。またそのシグナル伝達経路の中でどのポイントで制御が行われているか、同定する。

これまでの研究の概要:

樹状細胞上の PIR-B は、樹状細胞それ自体の分化を調節しているとともに (Ujike et al. *Nat. Immunol.* 2002)、CD8 と MHC クラス I 分子を巡る競合関係をとることによって CD8+細胞の活性制御を行っていること、さらにこの機構ががん免疫、移植免疫において実際に機能していることを解明した (Endo et al. *PNAS* 2008)。CREST において我々はさらに自然抗体産生、自己抗体産生において PIR-B/LILRB がどのように関与しているかを解明する研究に着手した。

研究進捗状況と研究成果:

PIR-B 欠損において腹腔 B-1 細胞が加齢とともに増加する現象が見られていたが (Ujike et al. *Nat. Immunol.* 2002)、B-1 細胞からの IgM タイプのリウマチ因子 (RF; 抗 IgG Fc 自己抗体) の産生が亢進していること、さらに Fas 欠損との合併によりこの産生が顕著に亢進して IgG タイプの RF が増加し、糸球体腎炎を発症して死亡率が上昇することが明らかになった。この制御機構においては TLR9 の活性亢進が関係しており、PIR-B/LILRB 欠損によってとりわけ Btk のリン酸化が亢進してこれが TLR9 下流の NF- κ B のリン酸化亢進につながっていることが解明された (Kubo et al. submitted)。

BTLA-HVEM 系および OX40-OX40L 系を標的とした自己免疫疾患治療法を開発する目的で、両シグナル系の自己免疫発症における関与を解析した。その結果、BTLA シグナル欠損と OX40 過剰シグナルが自己免疫疾患発症に相乗的に関与する可能性が示唆された。また、マウス内にヒト免疫系を構築し、ひいてはヒト自己免疫疾患のマウス内解析系を確立するために、ヒト臍帯血幹細胞を NOG マウスに移植し、マウス内で分化したヒト T 細胞とヒト B 細胞の機能を解析

した。その結果、NOG マウスでは有効な T 細胞-B 細胞相互作用が起これないために B 細胞のクラススイッチが不完全であることが判明した。HLA 遺伝子導入 NOG マウスを作成することにより上記問題を解決していく予定である。さらに、OX40 リガンドの過剰発現マウスに観察される潰瘍性大腸炎様病変(UC)について、その感受性遺伝子を同定する目的で遺伝解析を行った。結論として、HVEM の遺伝子多型が UC 感受性規定することが示唆された。すなわち、UC を発症するマウス系統では、HVEM から BTLA 受容体に伝達する免疫抑制シグナルが弱いために UC 病変が発生していると考えられた。

今後の見通し:

TLR9 の制御機構として、新しく PIR-B/LILRB による Btk のリン酸化制御が重要である事が分かった。よって今後はこの PIR-B/LILRB と TLR9 との直接あるいは間接的な相互作用の分子機構を解明する方向で研究を進める。また B-1 細胞が自然抗体、とりわけ RF などの自己抗体の主要なソースであることが明確になってきたため、これの細胞表面上の PIR-B/LILRB などの制御受容体を賦活化させるアゴニストの開発、IVIg 中の成分などの検索を行い、新しい免疫療法の開発に取り組む。同時進行している OX40、BTLA の応用研究、さらに NOG マウスでのヒト免疫系の構築研究における経過を含めて研究チームとして協力的な推進体制で臨むことが可能となっている。

2. 研究実施内容(文中にある参照番号は 4.(1)に対応する)

2-1. MDL-1/DAP10/DAP12 レセプター・アダプター複合体による破骨細胞分化促進機構の解明ならびに PIR-B/LILRB による破骨細胞分化制御機構の解明

研究目的:免疫制御受容体の研究において、対抗する賦活化型受容体の構造と機能を解明することは不可欠である。本研究では単球・マクロファージ系と起源が同じである破骨細胞の分化機構において、それを促進する分子機構とさらにこれらに対して抑制を行う制御受容体の構造と機能を解明することを目的とした。

研究方法と結果:DAP10 欠損マウスにおいて骨形成がやや過剰になっていることが見られたため、DAP10 や DAP12/DAP10 二重欠損、DAP12/DAP10/FcR γ 三重欠損マウスなどの骨髄細胞からサイトカイン誘導で破骨細胞を分化誘導する実験系で各シグナルアダプター分子の機能を解析したところ、DAP10 は DAP12 に完全に依存した形式で破骨細胞の分化を促進すること、DAP10 には破骨前駆細胞上で、これまで機能未知である Myeloid DAP12-associating lectin (MDL)-1 と会合すること、MDL-1/DAP10 複合体には常に DAP12 が含まれていることが分かった(図 1)。この破骨細胞分化誘導系において、PIR-B/LILRB はおそらく MHC クラス I を恒常的に認識することで恒常的に SHP-1 を動員し、破骨細胞分化を負に制御するため、破骨細胞の分化がこれら受容体の機能低下および欠損などによって促進されることが示された(図 2)。

結論:DAP10 は MDL-1/DAP12 複合体中で DAP12 とヘテロダイマーを形成して MDL-1 と会

合し、未知のリガンドを認識して活性化することで破骨細胞の分化を正に制御していることが解明された (Inui et al. *PNAS* 2009)。また PIR-B/LILRB は同一細胞上の MHC クラス I をシスに認識して恒常的に抑制シグナルを導入し、破骨細胞分化を負に制御することが解明された。

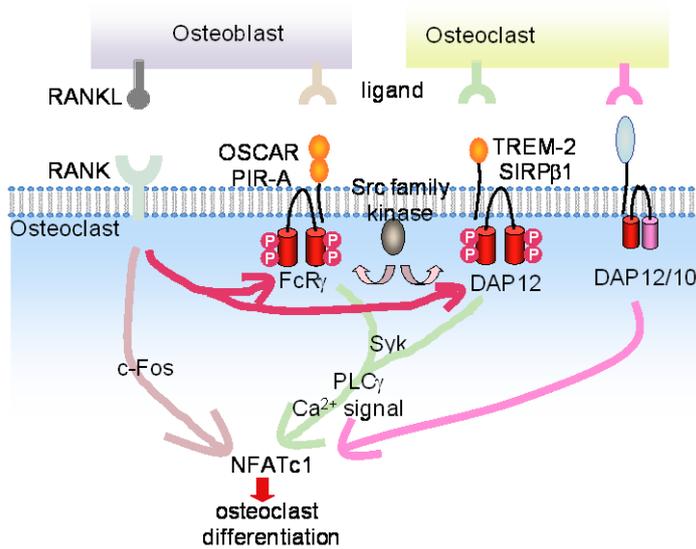


図 1：破骨細胞の分化における賦活化受容体の構造とシグナル伝達

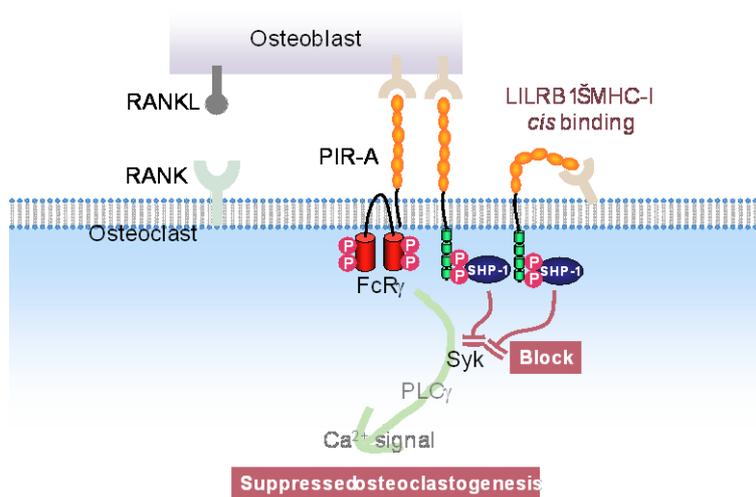


図 2：破骨細胞の分化における制御受容体の構造とシグナル伝達

3. 研究実施体制

(1)「東北大学」グループ

① 研究分担グループ長: 高井 俊行 (東北大学、教授)

②研究項目

- B-1 細胞の制御による新規な自己抗体産生制御 (高井グループ)
- IVIg ポリッシュアップ (高井グループ)
- FcγRIIB, LILRB のアゴニスティック・リガンド開発 (高井グループ)
- OX40/OX40L, BTLA 系の利用 (石井サブグループ)
- FcγRIIB, LILRB 系, IVIg 活性画分の利用 (高井グループ)
- 新規治療法の構築 (高井グループ, 石井サブグループ, 菊地サブグループ, 小野サブグループ)

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表 (原著論文)

高井グループ

1. Helming L, Tomasello E, Kyriakides TR, Martinez FO, Takai T, Gordon S, Vivier E. Essential role of DAP12 signaling in macrophage programming into a fusion-competent state. *Sci Signal*. 2008 Oct 28;1(43):ra11.
2. Hida S, Yamasaki S, Sakamoto Y, Takamoto M, Obata K, Takai T, Karasuyama H, Sugane K, Saito T, Taki S. Fc receptor γ -chain, a constitutive component of the interleukin-3 receptor, is required for interleukin 3-induced interleukin 4 production in basophils. *Nat. Immunol*. 2009 Feb;10(2):214–222. Epub 2008 Dec 21.
3. Orr MT, Sun JC, Arase H, Phillips JH, Takai T, Lanier LL. DAP12-independent Ly49H-mediated NK cell responses against mouse cytomegalovirus. *J. Exp. Med*. 2009 Mar. 30 [Epub ahead of print]
4. Li L, Kaifu T, Obinata M, Takai T: Peroxiredoxin III-deficiency sensitizes macrophages to oxidative stress. *J. Biochem*. in press.
5. Inui M, Kikuchi Y, Aoki N, Endo S, Maeda T, Sugahara-Tobinai A, Nakamura A, Kumanogoh A, Colonna M, Takai T. Signal adaptor DAP10 associates with MDL-1 and triggers osteoclastogenesis in cooperation with DAP12. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Feb 27. [Epub ahead of print]

石井サブグループ

6. Mousavi, S. F., Soroosh, P., **Takahashi, T.**, Yoshikai, Y., Shen, H., Lefrançois, L., Borst, J., Sugamura, K., and **Ishii, N.**: OX40 costimulatory signals potentiate the memory commitment of effector CD8⁺ T cells. *J. Immunol.*, 181: 5981-5989, 2008
7. Satoh, K., Fukumoto, Y., Nakano, M., Sugimura, K., Nawata, J., Demachi, J., Karibe, A., Kagaya, Y., **Ishii, N.**, Sugamura, K., and Shimokawa, H.: Statin ameliorates hypoxia-induced pulmonary hypertension associated with down-regulated stromal cell-derived factor-1.

Cardiovasc. Res., 81, 226-34, 2009

(2) 特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数 : 1 件 (CREST 研究期間累積件数 : 1 件)