

戦略的創造研究推進事業 C R E S T
研究領域「免疫難病・感染症等の先進医療技術」
研究課題「IgL 受容体の理解に基づく免疫難病
の克服」

研究終了報告書

研究期間 平成13年12月～平成19年3月

研究代表者：高井俊行
(東北大学加齢医学研究所，教授)

1 研究実施の概要

【着想の経緯】

研究代表者は平成8年～12年の5年間、科学技術振興事業団 CREST「生体防御のメカニズム」による支援を受け、「Fc 受容体を介する生体防御システムの解析」に取り組み、アレルギーや自己免疫疾患に Fc レセプターが枢軸的な制御を行っていることを解明してきた。特筆すべき成果のひとつは、これまで主に *in vitro* での生化学的研究により示唆されていた抑制性アミノ酸配列モチーフ ITIM (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif) が、実際に生体内において機能し、これを持つ Fc レセプターである Fc γ RIIB がアレルギーや自己免疫の発症を抑制していることを生理的レベルにおいて実証したことである。

研究代表者はこの研究過程において、ITIM を有し、ヒトの IgA レセプターである Fc α R に似た新規分子を発見した。これは現在、PIR-B (Paired Ig-like Receptor-B) と呼ばれているが、ちょうど同時期に次々とクローニングされた NK cell Ig-like receptor (KIR), leukocyte Ig-like receptor (LILR/ILT/LIR/MIR) とともに新しい、しかもマルチメンバーの大きなレセプターファミリーの存在を予感させることとなり、世界的にその構造と免疫機能が注目された。これらの分子群は現在、Ig-Like Receptor (イムノグロブリン様受容体, IgLR) と総称され、Ig スーパーファミリーに属し、その特徴はペアで免疫系を正と負の両方向に制御する点にある(図1)。前回の CREST に支援された Fc レセプターの研究は、世界的に見て、図らずも IgLR の研究の先駆けとなったが、それと同時に、免疫疾患の理解のためには Fc レセプターの解析だけでは不十分であることを痛感することとなった。このような経緯で、代表者らは免疫系の制御機構の理解と免疫難病の克服のために、研究対象を IgLR として捉えるという方向に発展させ、その中心に、代表者らがオリジナルに発見した分子である PIR を位置づけることを構想した。

Ig-like receptors –activating and inhibitory receptor pairs–

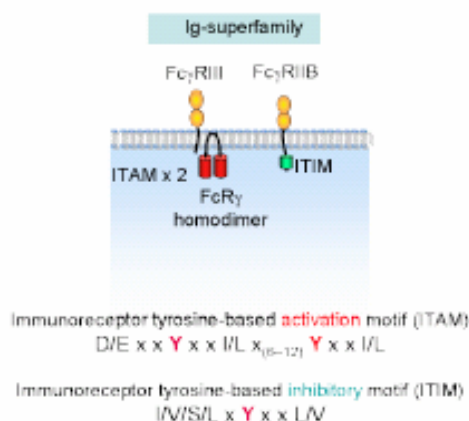


図1 IgLR：活性化型および抑制性のペア型 Ig ファミリーレセプター

IgLR の代表例として Fc レセプターを示した。活性化型である Fc γ RIII と抑制性の Fc γ RIIB とが同一リガンドである IgG 免疫複合体 (図には示していない) と結合することで、細胞内モチーフ ITAM, ITIM を起点にして細胞を正と負に制御する。

【研究構想】

今回の CREST 研究課題では、上述のように代表者らのこれまでの CREST の成果を踏まえた上で、IgLR の革新的な展開を目指した。つまり IgLR およびそのシグナル伝達を担う分子群によるアレルギー、自己免疫の制御機構、癌免疫の制御機構、さらには神経系の発達制御機構を総合的に解析するとともに、IgLR が基礎となるアレルギー、自己免疫、癌、移植関連免疫病などを「免疫難病」と位置づけ、さらに IgLR の機能異常が基礎となる神経疾患の可能性をも範疇に入れ、これらを克服するための「IgLR 群、とりわけ PIR の徹底的な基礎研究」、さらにモデル動物の開発、細胞移入療法の *In Vivo* 評価系の開発、モデル動物由来の不死化培養細胞の新規な作製方法の開発に基づく *In Vitro* 薬効評価系の開発など、「免疫難病を克服するための新規治療法の開発につながる道筋の開拓」を通して、先進医療技術の開発に貢献することを構想した。

本研究課題を遂行することで、IgLR、とりわけ PIR を中心とした分子機能を手がかりにして新しい免疫制御の仕組みを解明することを期待した (図 2)。またこれに基づいたアレルギー、自己免疫疾患、癌、移植免疫病に対する画期的な治療法、薬剤の開発をも視野に入れた。さらに、神経系の発達とその異常に起因する疾患に対して IgLR を突破口とする解明の糸口が得られ、精神神経疾患についても分子と細胞の機構の一端を解明することを企図した。

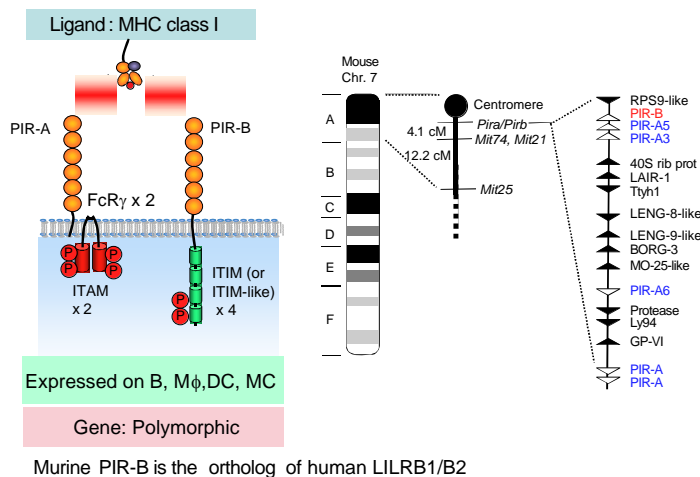


図 2 IgLR の中でも注目される PIR

IgLR のメンバーであるマウス PIR はヒト Leukocyte Ig-like receptor (LILR)B1, B2 と相同であり、抑制性 PIR-B は第 7 番染色体動原体近傍に位置する 1 遺伝子にコードされるが活性化型 PIR-A は同遺伝子座にある多遺伝子にコードされる。リガンドについては本 CREST により我々が MHC クラス I であることを示した。

【国内外の類似研究の現状】

研究代表者らの Fc レセプターに関する研究は、CREST 「生体防御のメカニズム」における「Fc 受容体を介する生体防御システムの解析」に対する支援により、国内の類似研究をリードするレベルに達することができた。また国際的に見ても各種 Fc レセプターのノックアウトマウスを駆使して免疫制御の解析を動物レベルで行える態勢を整え、成果を挙げた。現在、世界中で利用されている Fc レセプターのノックアウトマウスのうち主要なも

のは代表者らの開発したものであり、代表者ら自身の研究を含めて世界の本領域の研究に多大な貢献を行ってきた。

5年前において、IgLRの研究は、特に欧米でヒトLILR分子群を中心に展開されていた。また本邦を含めてNK細胞上のIgLRについての研究が活発であった。ここにおいて、PIRを世界に先駆けて発見し、PIR-Bノックアウトマウスや他のIgLRノックアウトマウス、さらにIgLRと会合するシグナルアダプター分子のノックアウトマウスの作製を通じて免疫疾患を動物レベルで解析しようとして計画した代表者らのグループは特徴的な存在であった。今から5年前の世界的な趨勢としては、IgLRの研究はまだ*in vitro*や*ex vivo*の解析が中心であった。よって代表者らの計画した研究は、生理的なレベルで免疫制御の解析につなげようとした点で、Fcレセプターの研究によって証明された重要性を足がかりに、さらにPIRの研究においてまた新たな免疫制御の仕組みの解明が展開される期待感を持って迎えられた。

【研究計画内容の概略】

以下の項目に示すように、IgLRの免疫制御機構の解明と免疫難病の克服に向けて革新的な展開を目指した。

1. IgLR群およびそのシグナル伝達を担う分子群の遺伝子を欠損させたマウスおよび免疫難病モデル動物を基盤的な研究材料として開発する
2. 開発された遺伝子欠損マウス等を駆使してアレルギー、自己免疫の制御機構、癌免疫の制御機構、移植関連免疫病、さらには神経系の発達制御機構の分子基盤を解明する
3. IgLRの機能異常が基盤となるアレルギー、各種自己免疫疾患、癌、移植関連免疫病を一括して「免疫難病」として捉え、さらに精神神経疾患との関わりをも視野に入れるための新たな分子論的共通性を見いだす
4. これらモデル動物由来の不死化培養細胞の簡便かつ新規な作製方法の開発を行い、*in vitro*薬効評価系の開発に貢献するとともに、免疫難病のモデル動物を対象として新規治療法の*in vivo*モデル評価系を開発する
5. 以上のことを通して、免疫難病の理解と免疫学の発展、先進医療技術開発に貢献する

【具体的な研究実施項目の内容】

1. IgLR群およびそのシグナル伝達分子群の遺伝子欠損マウスの開発と解析、未知レセプター、未知リガンドの同定によるIgLRの徹底的な基礎研究

PIR-B, gp49Bの欠損、および活性化型IgLRのシグナル伝達を担うDAP12欠損、DAP10 + DAP12ダブル欠損マウスの開発を行う。さらにFcγRIIB + PIR-B2重欠損、Fcレセプターγ + DAP12 2重欠損マウスを交配により取得する。これらIgLR分子群の解析における興味ポイントは、ITIMおよびITAMによる正と負の制御機構を、IgLRが何らかの免疫システムにおいてはたらかせている、という謎の解明に集約される。

2. IgL受容体の理解に基づき、アレルギー・アトピー、各種自己免疫疾患、癌、移植関連免疫病などの「免疫難病」を克服するためのモデルを開発する

代表者らはすでに抑制性FcレセプターであるFcγRIIBを欠損したマウス、活性化型Fcレセプター欠損マウスを開発している。本CREST課題においては特に全身性エリテマトーデス(SLE)のモデルである*Ipr*マウス、およびI型糖尿病モデルNODマウスと交配することでFcレセプター欠損、とりわけFcγRIIB欠損*Ipr*やNODを開発し、自己免疫性糖尿病におけるFcレセプターの役割を解明し、治療方法の評価系の開発につなげる。

さらに代表者らは、DAP12欠損マウスがグリア細胞の発達障害を示し、多発性骨折と中枢神経系異常を示す遺伝性疾患であるNasu-Hakola病のいくつかの症状を再現できることを示す。この動物モデルの確立とともに、精神神経疾患、骨疾患の分子メカニズムを解明

する材料とする。

その他、代表者らのオリジナルである PIR-B 欠損マウス, gp49B 欠損マウス, その他 DAP10 + DAP12 ダブル欠損, DAP12 欠損などの多重欠損マウスを駆使して免疫難病のモデルを構築する。

3. モデル由来の不死化培養細胞の開発と *in vitro* 薬効評価系の開発および *in vivo* 治療評価系の構築を行う

遺伝子欠損マウスの解析を行う過程において、疾患の原因となるエフェクター細胞が同定されると、次は体外に取り出した細胞を培養して、*in vitro* で諸反応を追跡する必要が生じる。ほとんどの場合は一次培養細胞が利用されるが、すぐに本来の性能を失って増殖を止め、解析に適さなくなる。そこで一次培養細胞を不死化して永続的に培養可能とし、かつ本来のエフェクター機能を保有している細胞が切望されるが、免疫系の細胞は特に不死化が困難で、これまではミエローマ細胞との融合がほとんど唯一の方法であった。代表者らは温度感受性 SV40 ウィルス Large T 抗原遺伝子トランスジェニックマウス (SV40LTg) において、少なくとも間質系の細胞で株化が容易である点に着目し、Fc レセプター欠損マウスと SV40LTg との交配種から NK 細胞を単離して 33°C で培養を開始したところ、これまで株化の成功例の無い NK 細胞が、機能を保持したまま 1 年以上もの間、死滅することなく維持することに成功している。しかもこれらは 37°C に戻せばナチュラルキラー活性を発揮する。したがってこの方法をあらゆる免疫系細胞の株化とクローン化に応用し、遺伝子欠損、かつ株化エフェクター細胞として確立することを計画する。これらは免疫難病のキーステップを構成するエレメントを解析するうえで絶好の材料であり、また新薬開発の一次スクリーニング系として有用であると期待される。

細胞移入・遺伝子導入療法が有効に機能する可能性のある免疫難病として、代表者らは「自己免疫疾患」および致死性である「癌」、さらに患者および周囲をも QOL が著しく低下した環境に陥れてしまう「精神神経疾患」に着目する。これらに対し、上述のモデルを用いた細胞移入・遺伝子導入などを駆使した新規治療法の評価系を構築することを計画する。

【研究成果の概要】

T 細胞レセプターおよび NK 細胞レセプターによる MHC クラス I (MHC-I) 分子を標的とした自己と非自己の識別機構は、自然免疫および獲得免疫の成立に不可欠である。その一方、この識別機構は移植免疫においては拒絶や移植片対宿主病 (GVHD) を誘発する。代表者らは PIR (ピア) が約 10^{-6} M の親和性で MHC-I を広く認識すること、この結合には β_2 ミクログロブリン鎖と MHC-I α 鎖の双方が関与し、この結合により PIR の細胞内モチーフがチロシンリン酸化されることを見出した。即ち、「PIR は新しい MHC-I のレセプター」である。さらに抑制性の PIR である PIR-B の欠損により免疫応答が Th2 型にシフトすること、マスト細胞の感受性が増大するためにアナフィラキシーが強く誘導されることを見出した。さらに移植関連免疫病である GVHD の誘導実験から、個体レベルにおいても PIR が自己ならびにアロ MHC-I との結合によって細胞応答を制御していることが示唆された。したがって B 細胞、樹状細胞、マスト細胞、好中球、マクロファージの分化と機能発現にとって PIR と MHC-I との相互作用による恒常的な制御機構が重要であり、これら細胞には T 細胞や NK 細胞とは異なる新しい自己認識機構が具備されていることになる。免疫難病において PIR はアレルギーや GVHD の重症度を定める重要なレセプターであり、自己免疫、癌免疫にも関係している可能性が示唆され始めている。この PIR による新しい自己 MHC-I 認識システムをコントロールすることができるようになればこれら免疫難病の克服に向かう新しいルートが見つかることが期待される。本 CREST 研究課題での最も重要な発見かつ特徴的な成果は、この B 細胞と骨髄系細胞が有する新規な自己認識機構の存在の証明、およびその意義の解明に向けたルートの開拓に着手したこと、である。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

【基本構想】

IgL 受容体 (Immunoglobulin-like receptor, IgLR) は、ペアで免疫系を正と負の両方向に制御するレセプター群である (図 1-3)。我々は IgLR の代表格である Fc レセプター (FcR) がアレルギーや自己免疫疾患に対して中枢的な制御を行っていることを解明してきたが、その過程で我々の見出した IgLR である PIR (Paired Ig-like Receptor) を中心に据え、CREST の本研究課題の遂行によって PIR が T 細胞レセプター, NK レセプターに匹敵する重要な新規自己認識性レセプターであることを指摘する。PIR のリガンド結合様式の解明と免疫難病との関連など、PIR を中心にした IgLR の解析を通して免疫難病の理解と免疫難病の克服につながる新しい局面の打開を目指すことが基本構想である。

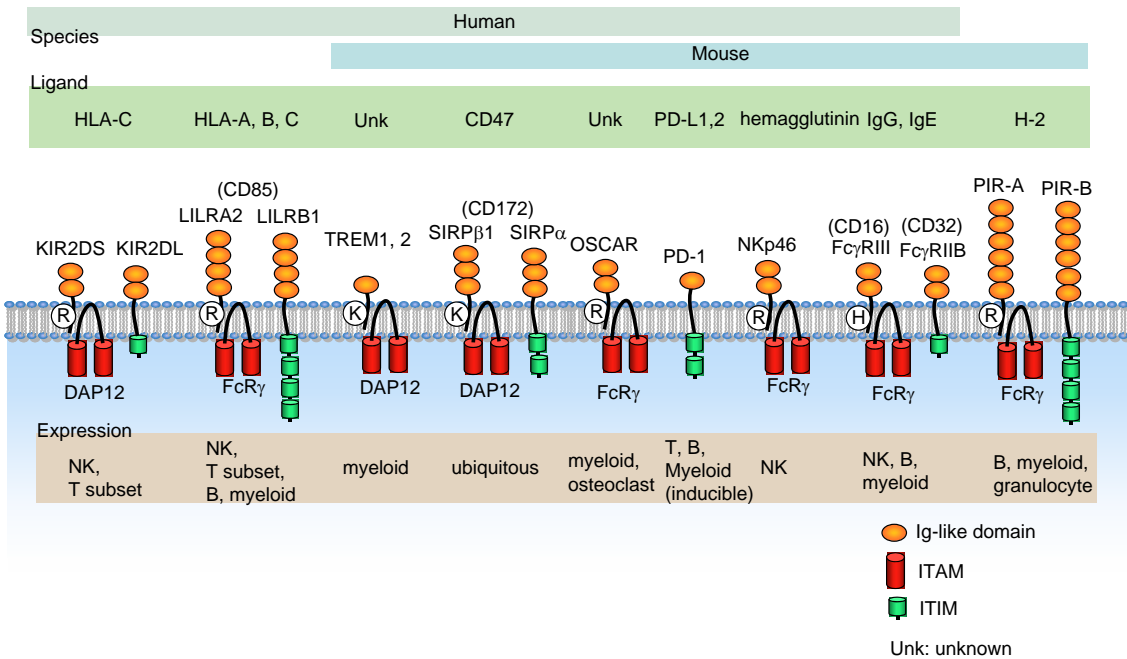


図3 IgL 受容体分子群の代表的なものの模式図

human および mouse の免疫系細胞に発現している IgLR 群のうち、主なものについて構造とリガンド、発現細胞などを示した。我々はこれらの中から PIR を中心に据え、FcR, gp49 および PIR と gp49 のヒト相同分子である LILR 群の機能解析を目指した。

【研究計画・進め方の概要】

概要に示したとおり、IgLR の免疫制御機構の解明と免疫難病の克服に向けて革新的な展開を目指した。

1. IgLR 群およびそのシグナル伝達を担う分子群の遺伝子を欠損させたマウスおよび免疫難病モデル動物を基盤的な研究材料として開発する
2. 開発された遺伝子欠損マウス等を駆使してアレルギー、自己免疫の制御機構、癌免疫の

- 制御機構，移植関連免疫病，さらには神経系の発達制御機構の分子基盤を解明する
3. IgLR の機能異常が基盤となるアレルギー，各種自己免疫疾患，癌，移植関連免疫病を一括して「免疫難病」として捉え，さらに精神神経疾患との関わりをも視野に入れるための新たな分子論的共通性を見いだす
 4. これらモデル動物由来の不死化培養細胞の簡便かつ新規な作製方法の開発を行い，*In Vitro* 薬効評価系の開発に貢献するとともに，免疫難病のモデル動物を対象として新規治療法の *In Vivo* モデル評価系を開発する
 5. 以上のことを通して，免疫難病の理解と免疫学の発展，先進医療技術開発に貢献する

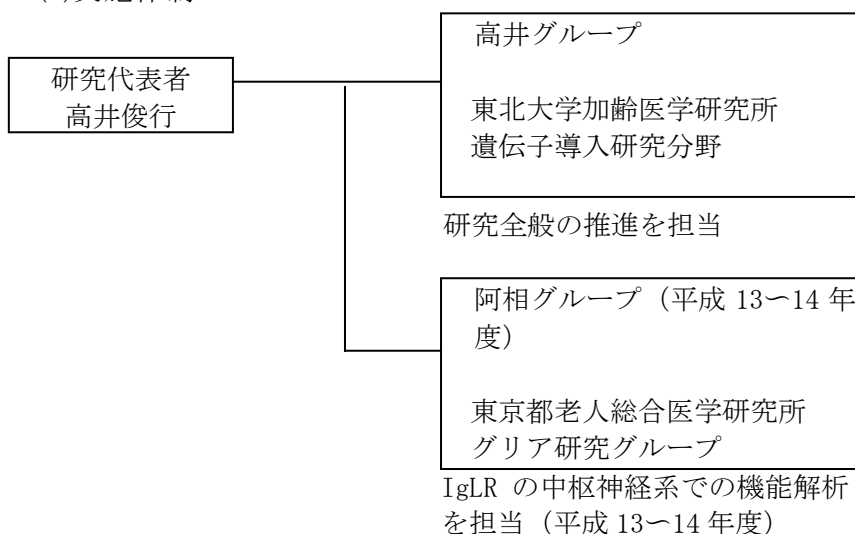
【役割分担】

本 CREST 研究計画において，我々は基本的に極めて簡素な研究グループ構成とした．代表者らの東北大学加齢医学研究所においては，研究構想のほぼ全容とも言える計画内容を遂行する．また，年度ごとに臨機応変に必要な研究グループを学内外に求め，積極的に共同研究態勢を組むことによって研究の推進を図った．実際，平成 13 年度および平成 14 年度にグリア細胞関連研究が専門の東京都老人総合医学研究所の阿相グループと共同で Nasu-Hakola 病の成因である DAP12 欠損による生体機能への影響を解析し，後述のように実質的かつ重要な成果を得た．本共同研究が成立していなかったならば，DAP12 欠損による神経系への影響は報告できなかったであろう．

【新展開から生まれた目標】

PIR が T 細胞レセプター，NK レセプターに匹敵する重要な新しい自己認識性レセプターであることを示すことができた．さらに，細胞上に普遍的に発現している MHC-I 分子を認識してシグナル伝達を行うレセプターが B 細胞や，樹状細胞を含めた骨髄系細胞に発現していることから，この認識システムにより調節される細胞機能が構成的なものであるのか，それとも環境変化に応じて臨機応変に性質を変化させるものであるのか，という問題，さらに抗原提示細胞と T 細胞間の免疫シナプスにおける PIR の挙動と機能について新たな興味を誘起するものである．これらの問題の解決は，取りも直さず免疫システムのスタートポイントをコントロールする方法の開発につながるため，重要であると考えられる．

(2)実施体制



3 研究実施内容及び成果

3. 1 IgL 受容体の理解に基づく免疫難病の克服（東北大学 高井グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

3.1.1 PIR のリガンドの同定と GVHD における機能の解析

【研究概要】

B 細胞，樹状細胞，マクロファージ，マスト細胞上に発現する新規イムノグロブリン様受容体 (IgLR) 分子群である Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR) の生理機能の解明，とりわけ免疫抑制機能をもつと考えられる PIR-B による免疫制御機構およびそのアレルギーや自己免疫疾患との関係について解明すべく，ターゲットを絞った集中的な研究を行った．その一環として PIR のリガンドの特定に取り組むとともに，移植関連免疫病のひとつである移植片対宿主病 (Graft-versus-host disease, GVHD) との関連を解析した．

【具体的研究内容と成果】

PIR のリガンドは MHC-I 分子である証拠を見出し，このレセプター・リガンド相互作用が生理的に重要であることを証明する知見を得た．BIAcore®解析の結果，リコンビナント PIR-B はマウス MHC-I 分子モノマー，H-2L^d，H-2D^d，H-2K^d，H-2K^b，H-2K^k と 10^6 ~ 10^7 M の K_d 値で結合する．テトラマーH-2 分子との結合はこれよりもおよそ 10~100 倍高い親和性で結合する (図 4)．

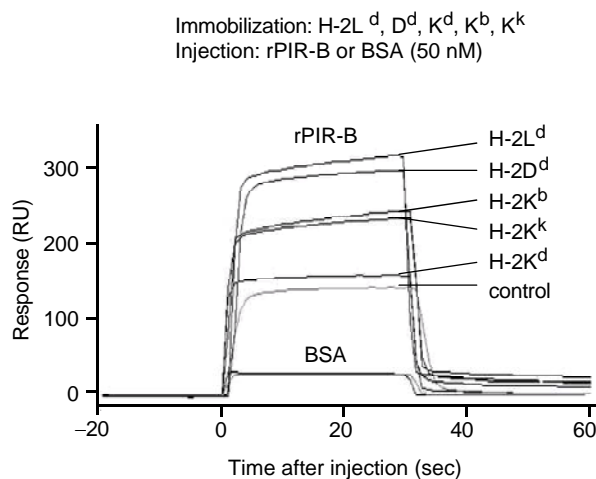


図 4 リコンビナント PIR-B 細胞外領域タンパクは多様な MHC クラス I 分子と結合する
BIAcore 解析により PIR の細胞外領域が 10^6 ~ 10^7 M の K_d 値で多様な H-2 分子と結合することが示された。

B 細胞上に発現する PIR-B は蛍光標識した MHC-I テトラマーと結合するため、ネイティブな PIR-B は MHC-I と結合すると考えられる (図 5)。よって細胞上に発現する MHC-I 分子によって十分に高い親和性で PIR-B は架橋刺激を受けると考えられる。PIR-B 欠損マウスのマクロファージ上に発現する PIR-A も蛍光標識した MHC-I テトラマーと結合する。これらのことから、PIR-A, PIR-B はいずれも H-2 分子と広い特異性を持って結合すると結論付けられた。

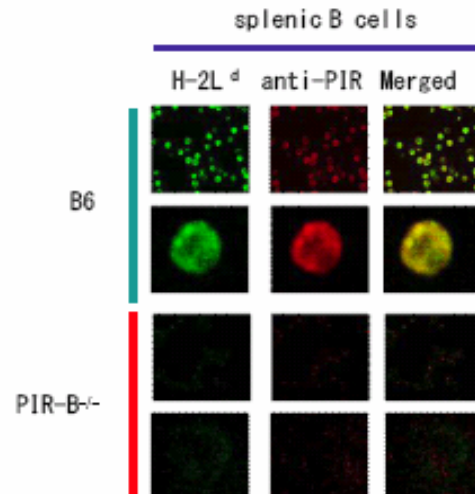


図5 B細胞表面のPIR-BがMHCクラスI分子を結合することを示す蛍光顕微鏡写真

野生型マウスのB細胞の表面上にはPIR-Aは無く、PIR-Bのみが発現し、抗PIR抗体で蛍光染色される。これはMHCクラスI分子の結合による蛍光と合致することから、PIR-BがMHCクラスIを結合することが分かる。PIR-B欠損マウスのB細胞ではこれらいずれの蛍光も観察されない。なお樹状細胞上にはPIR-AとPIR-Bがともに発現し、いずれもMHCクラスI分子を結合する。

さらに、B細胞、マクロファージに発現するPIRにMHC-Iテトラマー刺激を与えると、PIR-Bがチロシンリン酸化され、またPIR-Aは会合するFcレセプターγ鎖がチロシンリン酸化される。よって生理的リガンドとしてMHC-IはPIRを介して細胞内にシグナルを伝達することができる。

MHC-Iの発現の多寡により影響を受ける可能性のある実験系として *graft-versus-host disease* (GVHD) があるが、放射線照射したPIR-B欠損マウスに野生型マウスの脾臓細胞を移入することで誘導されるGVHDはコントロールマウスよりも重症化し、致命的となる (図6)。

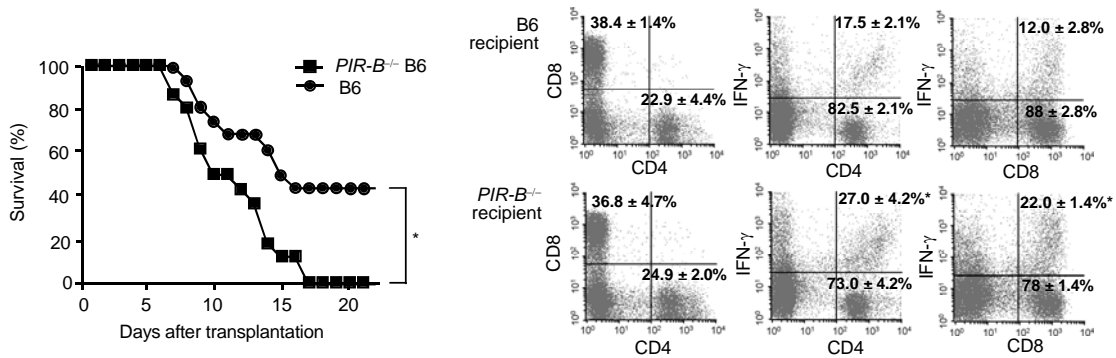


図6 移植片対宿主病の生存率曲線

免疫不全状態にしておいたPIR-B欠損マウスに非自己の白血球を移入すると野生型B6マウスに比べ、重症の移植片対宿主病（GVHD）が起って全例死亡する（左図）。GVHD発症中の脾臓細胞ではIFN- γ を産生しているCD4+およびCD8+T細胞の割合が増加している（右図）。

この時、PIR-B欠損マウスのGVHDではドナー側のCD4+ TおよびCD8+ T細胞のIFN- γ 産生細胞のポピュレーションが増加する。またGVHD初期にレシピエント側の脾臓中に見られる樹状細胞においてPIR-A、PIR-Bの発現亢進があり、PIR-B欠損マウスでは明らかなPIR-Aの発現亢進となり、IFN- γ を産生する樹状細胞のポピュレーションが増加している。以上のことから、PIR-B欠損マウスのGVHDではドナー細胞上のMHC class Iを認識する樹状細胞上の抑制性PIR-Bが無いために活性化型であるPIR-Aによる認識のみとなり、樹状細胞の活性化の亢進とドナーT細胞の活性化亢進が誘導されると考察される（図7）。

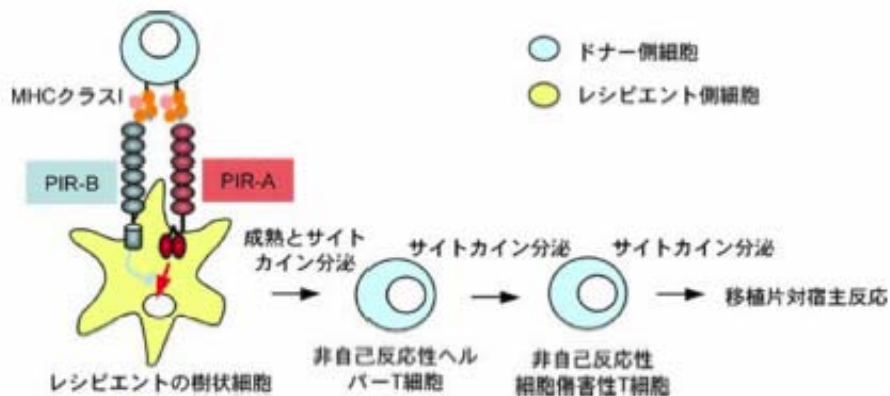


図7 移植片対宿主反応の際のPIR-A・PIR-Bの関与を示す模式図

ドナーの細胞上のMHCクラスI分子を認識したレシピエントの樹状細胞上のPIRは樹状細胞の活性を調節するが、PIR-Bが無いとPIR-AだけがMHCクラスIを認識し、活性化シグナルだけを伝達する。ドナーの非自己反応性T細胞がこの結果、より活性化し、レシピエントの組織を攻撃して移植片対宿主病が強くなる。このときに免疫反応を増強するサイトカイン（免疫細胞から分泌される低分子タンパク質で、他の免疫細胞の活性を調節する）は主にIFN- γ である。

【成果の位置づけと類似研究との比較】

PIR のリガンドを世界に先駆けて明らかにした。IgLR の各レセプターのリガンドを同定する試みは数多く行われているが、成功例はまだ多くはない。またリガンドを同定した場合でも、その生理的重要性を含めて証明した例になると更に限られる。我々の PIR と MHC class I との結合と GVHD 誘導系におけるその重要性の証明は今後の類似研究を大いに刺激し、活性化するものである。また、GVHD に関与するレセプターは、これまでは T 細胞上に発現する共刺激分子、共抑制分子などが中心になっていたが、我々の PIR は樹状細胞上に発現することで T 細胞の反応性をコントロールする例として極めて特徴的である。本研究成果は *Nature Immunology* 誌に 2004 年に掲載されるとともに、「骨髄移植の成否をコントロールする受容体たんぱくの発見」として NHK 全国放送でのオンエア、および新聞報道が行われた。

3.1.2 PIR-B によるアレルギーの制御に関する研究

【研究概要】

我々はマウス PIR が MHC-I 分子をリガンドとして認識することを示したが、このことがアレルギー、自己免疫疾患、癌免疫、移植免疫にどのように関係し、どのような役割を担うのかが今後の研究の焦点のひとつと考えている。何故ならば MHC-I はあらゆる細胞表面上に恒常的に発現しており、PIR による制御機構は構成的な側面と、臨機応変に活性化および抑制のバランスをとるといふ精巧な二面性を備えていなければならないと考えるからである。たとえばアレルギーの発症に至る一連の過程において PIR と MHC-I 分子との相互作用がどのように影響しているのかを解明することを本研究項目の目的とした。さらにヒトの PIR-B 相同分子である leukocyte Ig-like receptor (LILR) B1, B2 についても平行して解析を進めており、興味深い成果が得られている。

【具体的研究内容と成果】

マウスのマスト細胞表面上には PIR, MHC-I いずれも発現が見られる。*in vitro* および *in vivo* のマスト細胞は PIR-B が欠損すると反応性が亢進することが示されたので、1 個のマスト細胞表面上でのみ完結する PIR-B/MHC-I 間のシス結合 (図 8) によるものであるのか否かを共焦点レーザー蛍光顕微鏡および Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) 法により検証した。また PIR-B 欠損マウスのアレルギー誘発応答性として全身性アナフィラキシーに対する反応を調査した。その結果、マスト細胞表面上の MHC-I 分子と PIR-B とは同一細胞表面上で構成的にシスの関係で結合しており、このことが恒常的なマスト細胞の機能抑制に重要であることが示された (図 9)。

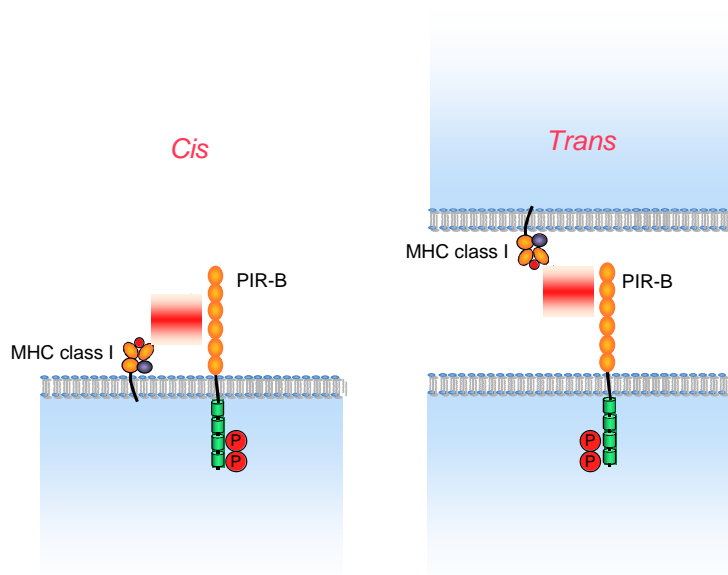


図8 PIR-BとMHCクラスI分子との結合の2つのモード

MHCクラスI分子の発現は免疫系に限らず広範囲の細胞上に発現するため、同一細胞表面上のPIR-BとMHCクラスIとが結合するシス結合モードと、別個の細胞上のPIR-BとMHCクラスI分子とが結合するトランス結合モードが想定される。これら2つのモードでPIRの機能に差異があるか否かは基本的に解決せねばならない課題である。

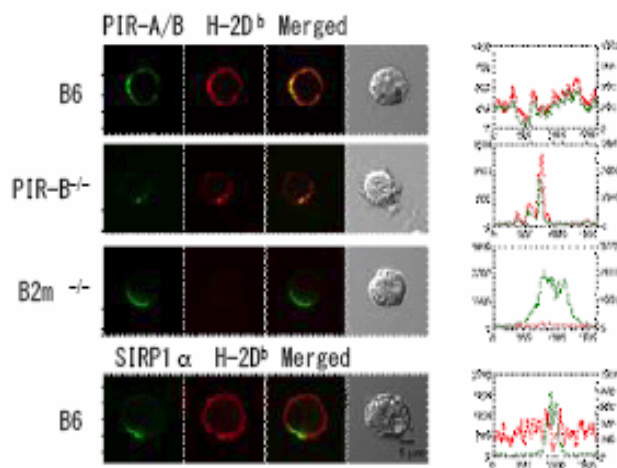


図9 マスト細胞上でのPIR-BとMHCクラスI分子とのcis結合

左パネルでは野生型B6マウス由来の培養マスト細胞ではPIRとH-2Dが共焦点レーザー蛍光顕微鏡下で共局在を示す。右パネルは2波長の蛍光のプロファイルを示しているが、ここでもパターン的一致を見る。PIR-B欠損のマスト細胞ではPIR-Aのみの発現であるが、弱いながらも共局在を示す。MHCクラスI分子の発現を欠損した β 2-microglobulin欠損マスト細胞では共局在は見られない。SIRP1 α のプロファイルは陰性コントロールである。

また PIR-B 欠損マウスは全身性アナフィラキシーが重症となり, *in vivo* においてもマスト細胞上の PIR-B と同一細胞あるいは周辺の細胞上の MHC-I との結合が重要であることが示された (図 10). この新しいアレルギーの抑制機構を制御するためには PIR-B, ヒトの LILRB の MHC-I への恒常的結合およびシグナルを増強することがひとつの手段となる可能性が示されたことになる. 最近さらにヒト PIR 相同分子である LILRB1/B2 が好塩基球上で MHC-I 分子とシス結合していることが証明できた (Masuda et al. *Submitted*).

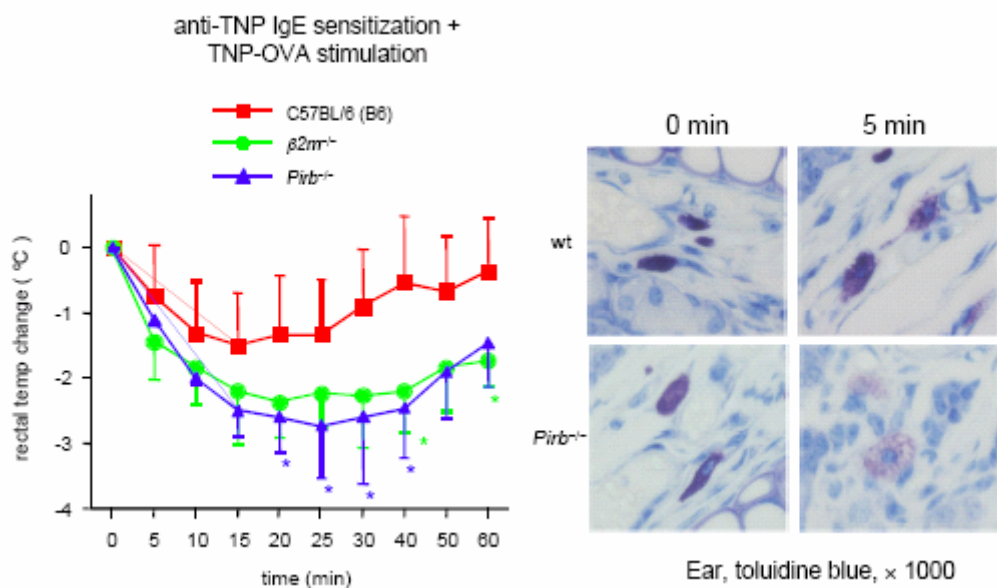


図 10 PIR-B 欠損および MHC クラス I 欠損マウスにおける全身性アナフィラキシーの亢進
左図では MHC クラス I 分子の発現が欠損した $\beta 2m$ 欠損マウスでも PIR-B 欠損マウスでも同様のアナフィラキシーの亢進が見られることを示し, 右図はその際の耳組織中のマスト細胞の脱顆粒が各欠損マウスで亢進していることを示す.

【成果の位置づけと類似研究との比較】

ヒトのアレルギー反応において少なくとも細胞表面上のこれらリガンド-レセプター相互作用を増強させる, もしくは修飾することで病態がコントロールできる可能性が示唆される. なお, PIR と MHC-I 分子とのトランス結合, つまり別個の細胞上の PIR と MHC-I とが結合する状態も取り得るほどに PIR の細胞外領域がフレキシビリティを有しているか否かの証明は, 後述の抗原提示細胞と T 細胞との相互作用の実験系にて検討を続けている.

3. 1. 3 PIR のリガンド結合部位の同定と立体構造の解析

【研究概要】

PIR のリガンドである MHC-I 分子と PIR との結合様式を把握することは, アレルギー, 自

己免疫疾患など免疫難病全般の克服に向け、精密なレセプター・リガンド相互作用のコントロールを行うために重要な知見となる。とりわけPIRのリガンド結合部位の決定と理解、さらにPIRの生理的溶液中での構造とリガンド結合における挙動に関する解析を進め、総合的にシス・トランス結合におけるPIRの構造について解明する。これを樹状細胞などの抗原提示細胞上のPIRによるT細胞応答性の制御機構の理解に結びつけることを目的として構造科学的な解析を行った。

【具体的研究内容と成果】

PIR-Bに関しては6つのIg様ドメインそれぞれとMHC-I分子との結合および β 2マイクログロブリンとの結合を表面プラズモン波共鳴アナライザーによって解析した。またPIR-B細胞外ドメイン組み換えタンパクを293T細胞系で多量に調製し、この立体構造をCryo-Electron Tomographyにより解析した。また同様に、MHC-Iと結合した状態で解析することで、PIR細胞外領域がリガンドと結合した状態での立体構造の解明に取り組んだ。その結果、PIR-Bのリガンド結合を担うドメインがD1D2、つまりN末端の2つのドメインに限局することが示された(図11)。

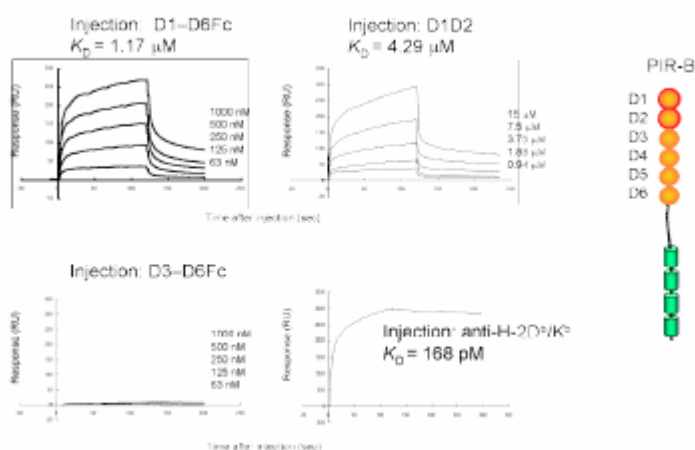


図11 PIRの細胞外領域D1D2がMHCクラスIと結合する

細胞外領域全て(D1-D6)の結合活性よりも弱いがD1D2はMHCクラスIと結合する活性を有し、D3-D6には結合活性は検出できなかった。右下図は陽性コントロールのMHCクラスIに対する抗体を反応させた場合である。

またCryo-electron tomography解析の結果、水溶液中でPIRの6つのドメインから成る構造は不定形であり、極めてフレキシブルに運動していることを窺い知ることができる(図12)。

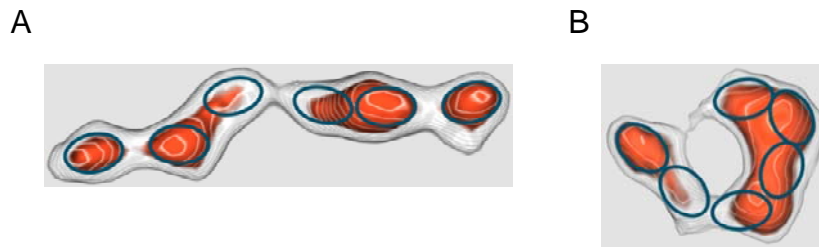


図 12 PIR の細胞外領域の水溶液中での構造

A のように 6 つのドメインが伸展した状態である例、および B のように屈曲した状態の例が Cryo-Electron Tomography 解析により見られた。したがって PIR は生理的溶液中で極めてフレキシブルな構造をとり得ることが示唆された。

また同様に Cryo-electron tomography により、MHC-I 分子と PIR 細胞外領域の混合溶液を解析したところ、PIR-B の D1D2 ドメインと考えられる末端領域と MHC-I 分子との結合が示され、コンピューターによるシミュレーションから得られた結合構造モデルにフィットするものであった (図 13)。

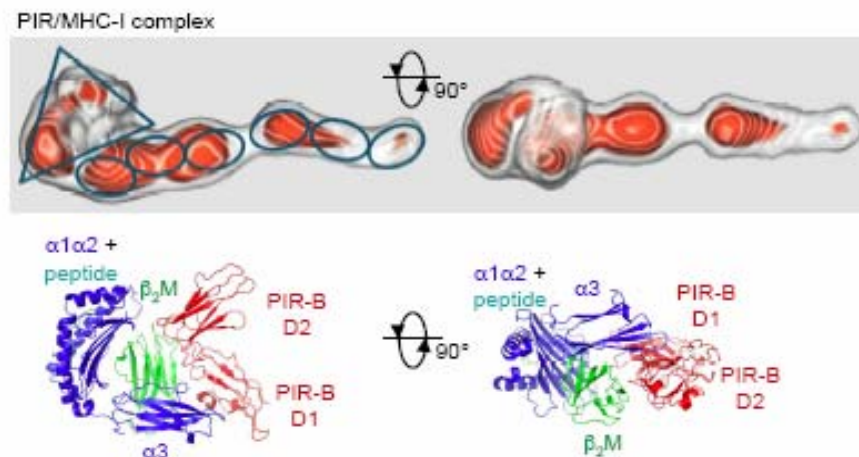


図 13 PIR の細胞外領域の水溶液中での構造

上図のように 6 つのドメインが伸展した状態である例および屈曲した状態の例 (示していない) が Cryo-Electron Tomography 解析により見られた。また末端ドメイン (青い楕円で示した 6 つのドメインの左端) 付近により MHC クラス I 分子に結合している事が分かり (青い三角が MHC クラス I 分子), 下図のコンピューターシミュレーションで構築したモデル構造とフィットする。

これらの結果は PIR が細胞表面上にあって、同一細胞上の MHC-I とも、他の細胞上の MHC-I とも *cis*, *trans* いずれの配向であっても十分結合することを示唆しており、PIR と MHC-I とのダイナミクスを考える上で貴重な情報となった。

後述のように樹状細胞上の PIR と T 細胞上の MHC-I とが *trans* 結合している証拠が得られ

ており、マスト細胞，B細胞，マクロファージ，樹状細胞で見られる *cis* 結合とともに，抗原提示のステップにおいて *trans* 結合が起こり得ることが示された（図 14）。

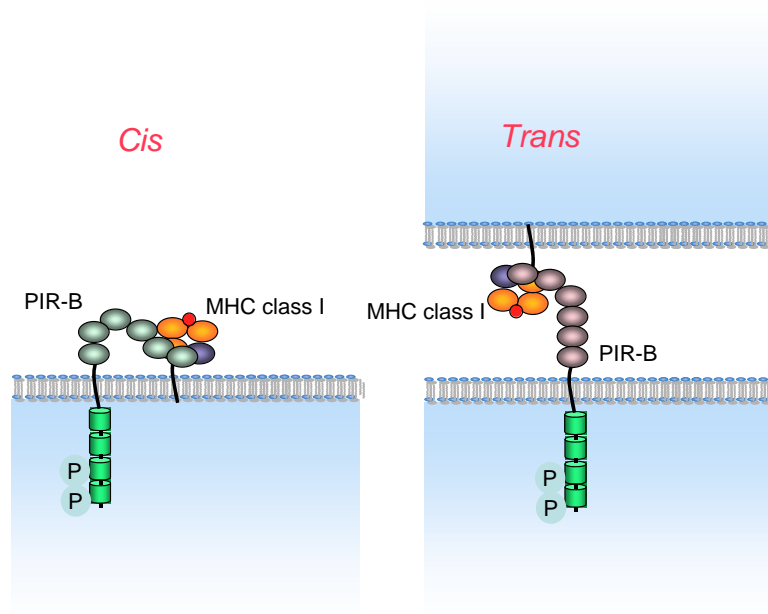


図 14 PIR は MHC クラス I と *cis* でも *trans* でも結合し得るとりわけ，MHC クラス I の比較的定常な領域である $\alpha 3$ ドメインと $\beta 2m$ と結合していることが予測される。

【成果の位置づけと類似研究との比較】

CD8+T 細胞が PIR-B を欠損した樹状細胞により強く活性化される現象の説明として，CD8+T 細胞の CD8 が樹状細胞の MHC-I 分子を巡って PIR-B と競合し，その結果 CD8+T 細胞の活性化が通常は抑制されてしまうという仮説の裏付けになる。このことは免疫疾患のみならず癌細胞などの標的細胞に対する CD8+T 細胞の攻撃機構に直接影響を与える新規なメカニズムとしてたいへん興味深い。樹状細胞上のレセプターの機能が CD8+T 細胞選択的に影響を与える例は珍しく，今後の展開が興味深い。

3.1.4. 免疫シナプスにおける DC 上の PIR と T 細胞上の MHC クラス I 分子との *trans* 結合

【研究概要】

代表者らは PIR が MHC-I と 10^{-6} M の親和性により結合し (Nakamura et al. 2004)，さらに TCR とは異なり MHC-I の多型性に乏しい領域を認識することをコンピューターシミュレーションにより示唆した (Kobayashi et al. *Submitted*) (図 15)。

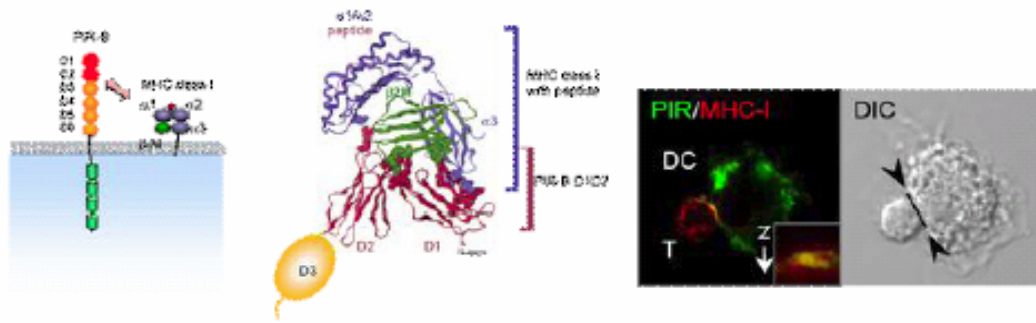


図 15 PIR と MHC クラス I 分子との結合

抗原提示細胞などに発現する PIR (左図) は、ほとんどの細胞上に普遍的に発現する MHC クラス I 分子の、比較的的多型性の少ない $\alpha 3$ ドメインと多型性を示さない β_2 ミクログロブリン (β_2M) を認識する (中図)。実際に、樹状細胞 (DC) 上の PIR は T 細胞上の MHC-I と *trans* 結合する (右図)。

MHC-I は PIR が発現する抗原提示細胞上にも T 細胞上にも発現することから、PIR と MHC-I とは *cis* 結合するのか、T 細胞上の MHC-I と優先的に *trans* 結合するのか、*cis/trans* 両方なのかという命題が生じ、それぞれの結合により惹起されるシグナル伝達の相違についても興味深い。免疫シナプスの中心に位置しながらも TCR に比べて注目度の低かった MHC-I、またその定常領域を標的とするレセプター CD8 と PIR について、シナプス内での構造遷移と移動の観点から追究し、MHC-I を巡る新たな分子動態を解明することを目的とした。

【具体的研究内容と成果】

樹状細胞あるいは B 細胞を抗原提示細胞とし、OVA 刺激ののちに OT-I T 細胞と共培養することで抗原提示過程を共焦点レーザー蛍光顕微鏡およびタイムラプスビデオにより追跡した。また fluorescence energy transfer (FRET) 解析を行った。抗原提示細胞上の PIR と MHC クラス I は *cis* 結合により構成的に相互作用しているが、抗原提示のプロセスにおいて T 細胞と相互作用する局面では *trans* 結合で PIR と T 細胞上の MHC クラス I 分子が相互作用することが明らかになった (図 15)。また、抗原提示細胞上の PIR は T 細胞との免疫シナプスにおいて c-SMAC (central supramolecular activation complex) から時間とともに p-SMAC (peripheral SMAC) に移動し、概ね T 細胞上の LFA-1 と似た挙動をとることが示された (Sakamoto et al. in preparation) (図 16, 17)。

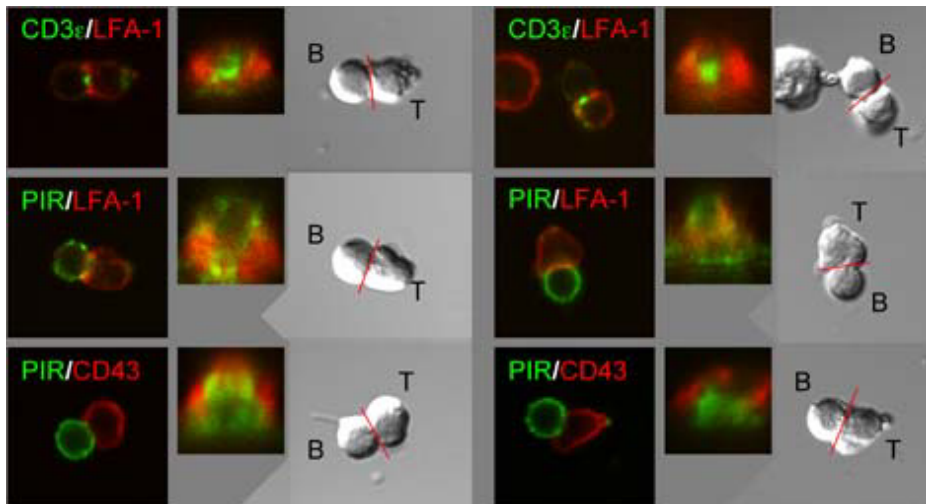


図 16 PIR の p-SMAC 局在性

PIR は T 細胞との相互作用初期には他の接着系分子と同様、c-SMAC に存在するが、時間とともに LFA-1 に似た挙動を示し（左図 30 min）、成熟した免疫シナプスにおいては p-SMAC に移動する（右図 60 min）。

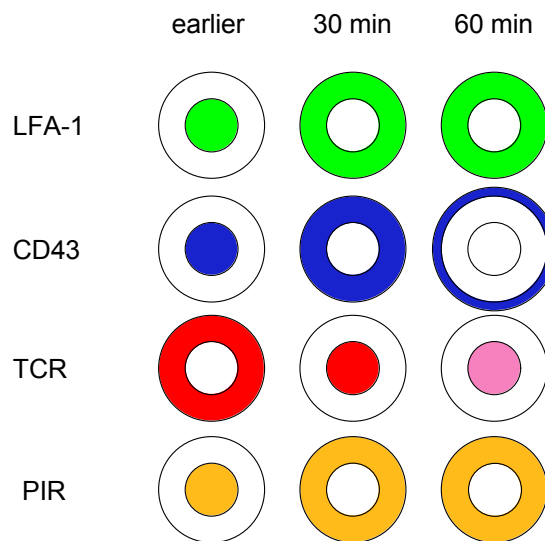


図 17 PIR の免疫シナプスでの挙動の暫定的モデル

PIR は初期には c-SMAC（同心円の中心）に存在するが、成熟した免疫シナプスにおいては p-SMAC（同心円ふたつに挟まれる領域）に移動するモデルが示唆された。他の接着系分子および TCR の動きと比較している。

【成果の位置づけと類似研究との比較】

抗原提示細胞上の PIR と T 細胞上の CD8 とが、両細胞上に発現する MHC-I を巡って競合関係もしくは協力関係を成立させながらダイナミックに構造遷移を行う可能性が示唆される（図 18）。今後この課題の解明はとりわけ細胞傷害性 T 細胞の活性化をスタートポイントにおいて制御する方法の開発に直結するため、癌、自己免疫疾患、移植関連免疫病などの免疫難病の制御と克服につながる。

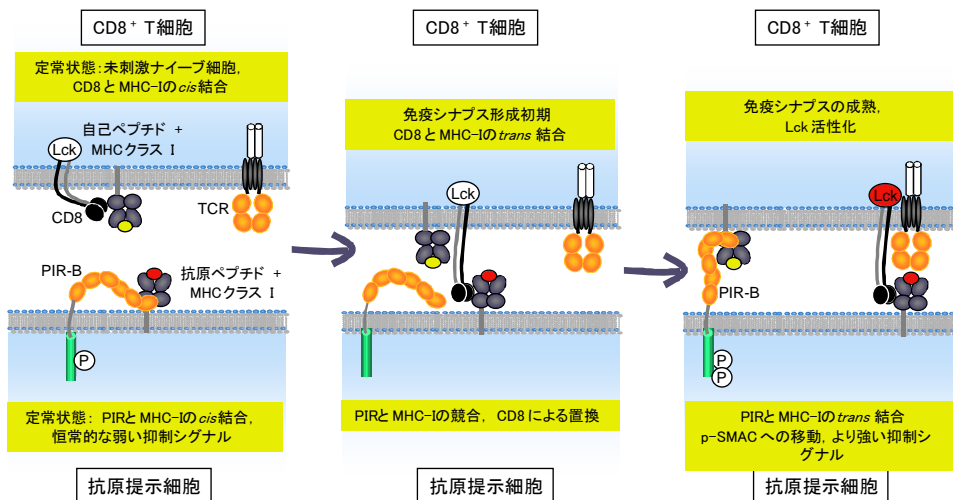


図 18 CD8+T 細胞上の MHC クラス I 分子および CD8 分子と、抗原提示細胞上の PIR および MHC クラス I 分子の構造遷移

我々の研究は、免疫シナプスにおける CD8+T 細胞上の MHC クラス I 分子と CD8、T 細胞レセプター、抗原提示細胞上の PIR-B と MHC クラス I 分子がそれぞれ構造遷移を多段階で行い、その後の免疫応答の品質をコントロールしている可能性を惹起した。

3.1.5. PIR と CD8 による MHC クラス I を巡る競合の可能性の検討

【研究概要と成果、類似研究との比較】

免疫シナプスにおいて PIR と MHC クラス I 分子とは *cis* から *trans* 結合への構造遷移があることが分かった。さらにシミュレーションの結果から、MHC クラス I 分子上の CD8 との結合部位が PIR の結合部位と重複していることが示唆されている。PIR-MHC の結合は 10^6 M であり、CD8-MHC は 10^5 M という報告に基づく、むしろ CD8 は抗原提示細胞上の MHC クラス I を標的としながらも、PIR によりブロックされていることが考えられる。でこれらのことを総合して考えると、図 18 に示す PIR と CD8 による MHC クラス I を巡る競合と構造遷移が起こる可能性が示唆される。我々は CD8+T 細胞を実際に樹状細胞を用いて抗原特異的に活性化させる実験系において PIR-B 欠損樹状細胞による CD8+T 細胞活性化がより顕著に惹起されることを見いだした (Endo et al. in preparation) (図 19)。

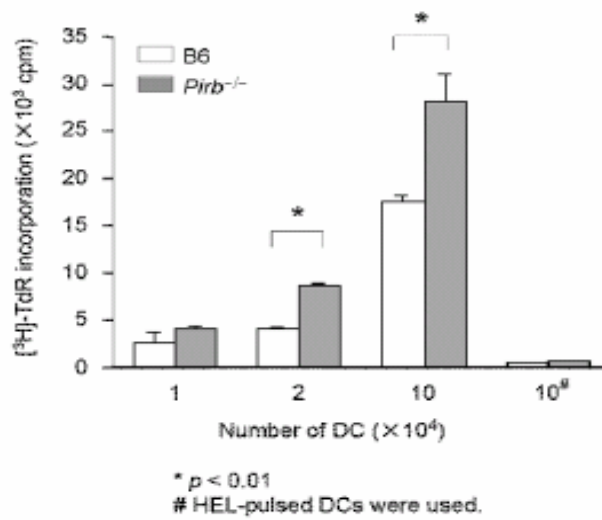


図 19 PIR-B 欠損樹状細胞による CD8+T 細胞の抗原特異的増殖の亢進
OVA 刺激した野生型 B6 マウスの樹状細胞あるいは PIR-B 欠損の樹状細胞により OT-I 細胞を刺激した場合、増殖応答が亢進し、IFN- γ の産生も亢進する (図には示していない)。

3. 1. 6. gp49B による新たな T 細胞制御機構の発見

【研究概要と成果, 位置づけ, 類似研究との比較】

gp49B およびヒト相同分子 LILRB4 は, PIR と同様, Ig-like receptor ファミリーに属する免疫抑制レセプターである (図 20). gp49B は 1980 年代後半にマスト細胞上に発現するタンパクとして見いだされ, ヒト LILRB4 は NK 細胞上に発現する新規抑制レセプターとして 1990 年代後半に見いだされた分子群の一つであり, gp49B と高い相同性を示す。

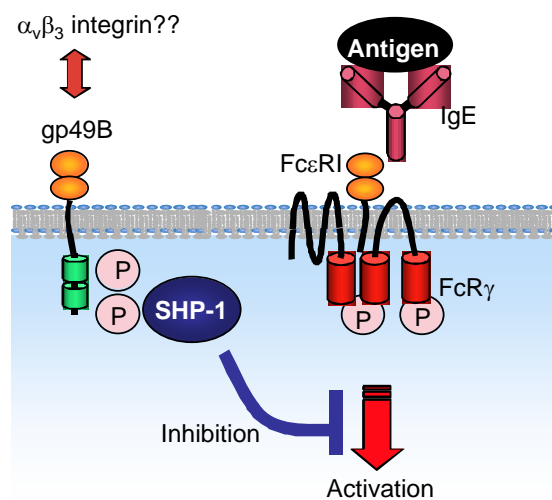


図 20 gp49B のマスト細胞上での機能の模式図

マスト細胞上に発現する gp49B は自己あるいは周辺のインテグリン $\alpha_v\beta_3$ と結合することで Fc ϵ RI などの活性化シグナルを SHP-1 の動員を以て遮断することが想像されているが、特にそのリガンドの所在、インテグリン以外のリガンドは無いのか、など不明な点が多い。

代表者らはこれまで PIR-B と gp49B の細胞内領域に極めて相同性があることを指摘し、その後も遺伝子構造の同定や隣接遺伝子産物である gp49A の活性化機構に関する報告を行ってきた。gp49B のノックアウトマウスは 2000 年に開発し、自然免疫やアレルギーの局面での表現型に期待したが、これらの点では際立った特徴は見いだせなかった (Inui et al. 未発表)。我々とほぼ同時期に米国の 2 カ所で独立にノックアウトマウスが作製され、そのうちの NIH の Long らは我々と同様の結果であった一方、Harvard の Katz らはアレルギー実験系で差異を報告し、さらに gp49B のリガンドが、血小板、免疫系細胞、内皮細胞などに広く発現するインテグリン $\alpha_v\beta_3$ であることを示した (図 20)。また T 細胞、 $\square\square$ 細胞の抑制、更に好中球の血管内皮への接着能の亢進が報告され、生体内における gp49B の抑制機能が、ただひとつのグループのみから報告され続けているのが現状である。

代表者らはようやく最近、DC と T 細胞との細胞間相互作用に依存して起こる T 細胞の増殖応答等が gp49B 欠損の DC と T 細胞との直接接触で顕著に増大することを見いだした (Kasai et al. Submitted)。さらに我々の重要な知見として、gp49B のリガンドとして報告されている $\alpha_v\beta_3$ について、同一 DC 細胞上の gp49B と $\alpha_v\beta_3$ との cis 結合、T 細胞上の $\alpha_v\beta_3$ との trans 結合についても共焦点レーザー蛍光顕微鏡による検証において否定的な結果であり (Kasai et al. 未発表)、ここで我々は DC 上の gp49B と T 細胞上の「未知のリガンドとの相互作用」を仮定することが最も自然であると考えている。これを支持する実験事実として、代表者らは既に gp49B の Fc 融合タンパクを用い、T 細胞上および骨芽細胞上に刺激依存性で誘導されるリガンドの存在を示唆する結果を得ている (Inui et al. 未発表) (図 21)。

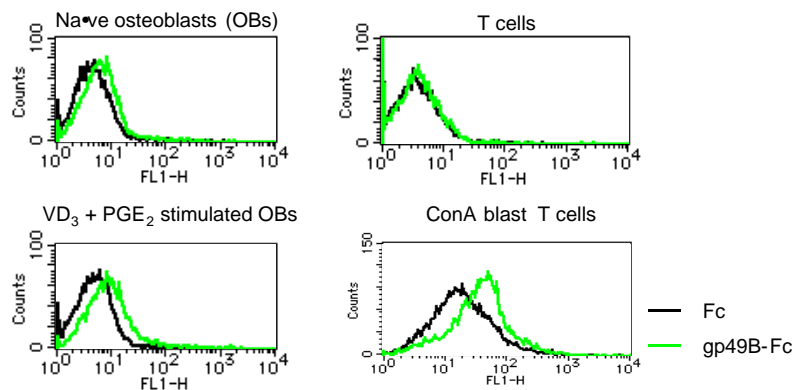


図 21 gp49B-Fc 融合タンパクによる gp49B の新規リガンドの検索

gp49B-Fc 融合タンパクとフローサイトメトリーにより、無刺激の骨芽細胞およびビタミン D₃ とプロスタグランジン E₂ 刺激した骨芽細胞において実際にリガンドの所在が確認され、さらにこの未知リガンドは刺激誘導性であることが示唆された (左列の図)。さらに我々はマイトジェン刺激に応答して T 細胞上に発現するリガンドを検出することができた (右列の図)。

【今後の展望】

gp49B, さらにはヒト相同分子 LILRB4 の新しいリガンドの同定が今後の課題となる. インテグリン $\alpha_v\beta_3$ とは異なるリガンドの存在が T 細胞上に同定されれば, PIR と並んで, DC と T 細胞間の接触に依存して開始される寛容誘導の分子機構を理解するひとつの突破口になる. 免疫学の中心課題の一つである末梢性寛容の誘導機構についての研究が分子レベルで進行することを大いに促進する上, 骨形成の制御機構の理解に向けたルートが新たに開拓される. 将来的にはアレルギーや自己免疫疾患, 移植免疫病, 骨代謝疾患, 癌治療の広い分野に応用可能な診断, 治療方法の開発に結びつけることができよう.

3. 1. 7. IgLR 群によるミエロイド系細胞の分化制御に関する研究

【研究概要】

PIR-A に代表されるように, 活性化型の IgLR 群はそれぞれのリガンドと結合したのち, 活性化モチーフ ITAM を有するアダプター分子である FcR γ か DAP12 を介して細胞内にシグナル伝達を行う. これら活性化型 IgLR 群の生理的な役割は, 抑制性 IgLR よりも解析が遅れている. 活性化型の IgLR システムをその機能発現に利用していると考えられる細胞として樹状細胞, マクロファージ, マスト細胞, 破骨細胞などのミエロイド系細胞がある. 本研究項目では, PIR-A を中心課題と捉えながら, IgLR によるこれらミエロイド系細胞の分化と活性制御, ならびに制御の逸脱に伴うアレルギー, リウマチなどの免疫難病の発症のしくみを解明し, これらの克服を目指した.

【具体的研究内容と成果】

3. 1. 7. 1. 破骨細胞分化制御と活性化型 IgLR 群の機能

PIR-B 欠損マウス, 活性化型 IgLR 群の膜アダプターである FcR γ と DAP12 欠損マウスにおける樹状細胞, マクロファージ, マスト細胞, 破骨細胞の分化と活性化および生体内での機能について解析を進めている.

DAP12 欠損による骨と神経系の疾患, 那須ハコラ病は破骨細胞とオリゴデンドロサイトの発達異常による [Kaifu et al. *J. Clin. Invest.* 111 (3): 323-332 (2003)]

Nasu-Hakola (那須ハコラ) 病は 1970 年代初頭に那須, および Hakola らによって初めて記載された, 専ら日本人とフィンランド人において 100 万人に 2 人程度の頻度で見られる稀な劣性遺伝病である. 多発性の病的骨折を呈する骨関節症状と, 性格変化などの統合失調症ともオーバーラップする精神神経症状ののち, 初老期痴呆を必発し, 50 才前後で死亡するが特別な治療法は無い. この疾患の責任遺伝子は, 免疫系において見出されていた活性化シグナル伝達を担う膜アダプター分子である DAP12 であることが最近示された. 我々は免疫系と中枢神経系のコミュニケーションの好例となる可能性に着目し, DAP12 欠損マウスを作製して骨および中枢神経系における DAP12 の役割を検討した. その結果, 意外なことに骨の過形成と中枢神経系の低ミエリン形成が観察され, 破骨細胞とオリゴデンドロサイトに発達障害があることを突き止めた (図 22).

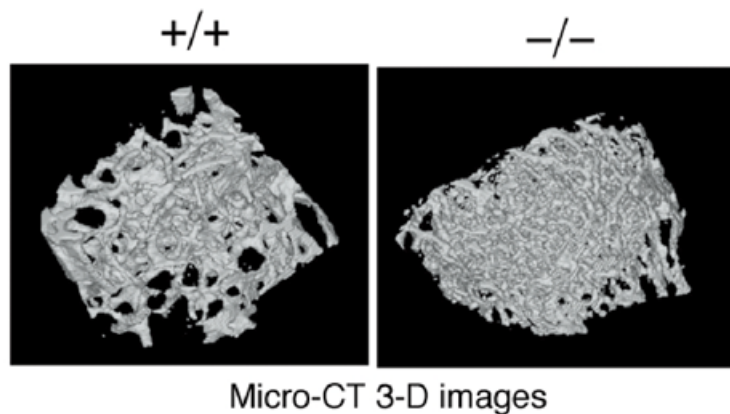


図 22 DAP12 欠損マウスは骨組織が過形成となる

野生型マウス (+/+) に比べ、DAP12 欠損マウス (-/-) は大腿骨などにおいて軽度の大理石骨病を呈することを示す micro-computed tomography (CT) 像。

3. 1. 7. 2. 破骨細胞の分化制御は RANKL および活性化型 IgLR 群の共刺激によって成立する

(Koga et al. 2004)

慢性関節リウマチにおける骨軟骨破壊のメカニズムの一つとして、破骨細胞の分化と異常活性化が挙げられる。しかしながら破骨細胞の分化プロセス、活性化プロセスにどのような分子機構がはたしているのかについては十分に理解されていない。これまで破骨細胞の分化には骨芽細胞などから提供される RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) が必要十分と考えられていたが、我々は RANKL 以外に多数の IgLR 群が活性化する必要があることを突き止めた。つまり IgLR の活性化に利用されている膜アダプターである FcR γ と DAP12 が同時に欠損することで破骨細胞の試験官内での分化は完全に阻害され、このマウスは重度の大理石骨病となる (図 23)。

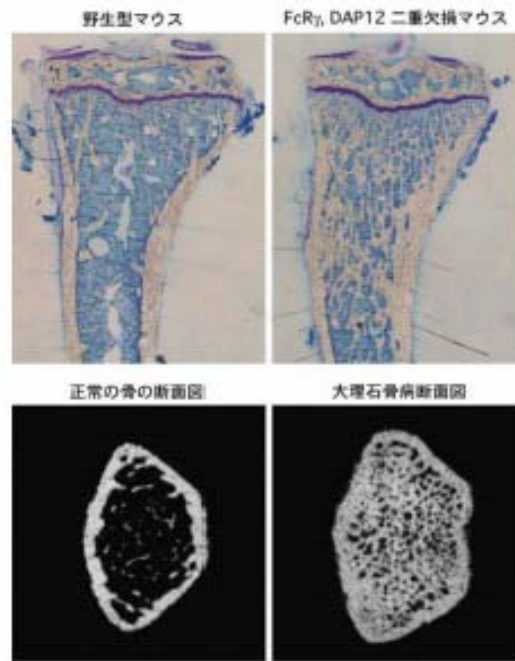


図23 FcR γ とDAP12の二重欠損マウスの骨組織像とマイクロCTイメージ

(上) 左側の野生型マウスの大腿骨縦断面HE染色像に比べ、右側のFcR γ /DAP12二重欠損マウスでは骨髓腔が極端に少なくなっている。

(下) 同様に脛骨横断面のマイクロCTスキャン像では二重欠損マウスの大理石骨病の重症性が明らかである。

破骨細胞のこの経路による活性化には PIR-A, OSCAR, TREM-2, SIRP α 1 などの既知の活性化型 IgLR 群および未知の活性化型 IgLR 群が関与していることが示された(図 24)。この成果により、慢性関節リウマチ患者の破骨細胞のはたらきの制御は、IgLR を介する活性化経路を人為的に修飾することで達成できる可能性が指摘される。

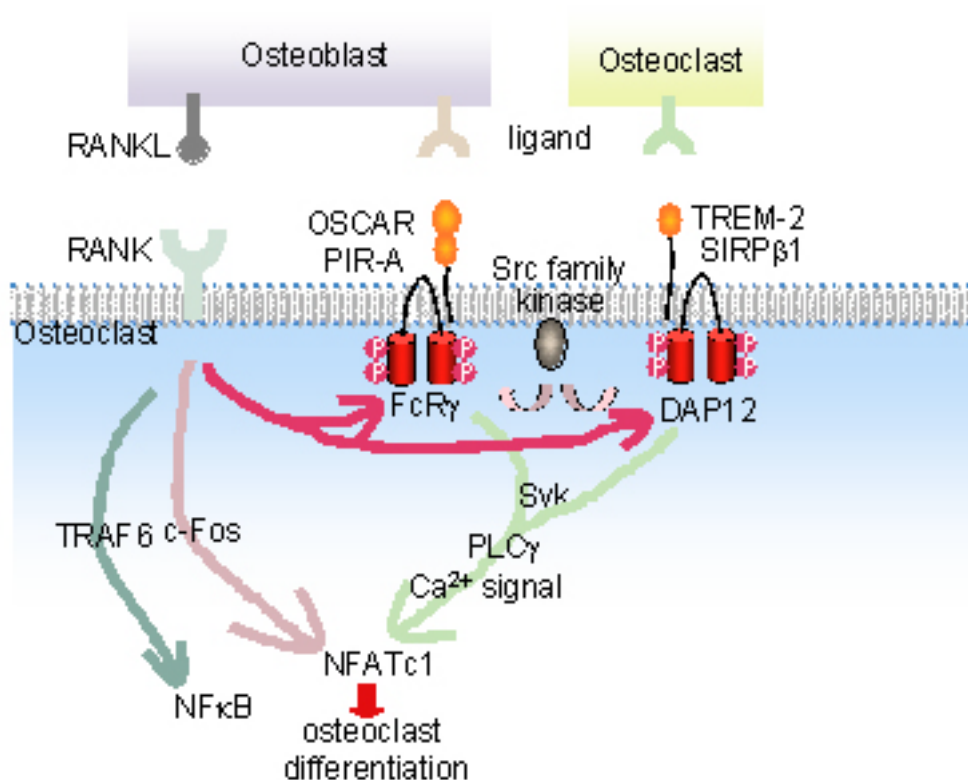


図 24 破骨細胞の新しい分化機構

破骨細胞 (Osteoclast) の分化には骨芽細胞 (Osteoblast) などから提供される RANKL と M-CSF による生存維持刺激 (図には示していない) で必要十分であると考えられてきたが, 我々の研究成果により, 活性化型 IgLR から導入されるカルシウムシグナルを介する刺激が必須であることが分かった. これには OSCAR, PIR-A, TREM-2, SIRP 1 などが関与することが示唆された.

【成果の位置づけと類似研究との比較】

これまで破骨細胞の分化には骨芽細胞などから提供される RANKL (receptor activator of NF- B ligand) が必要十分と考えられていたが, 我々は RANKL 以外に多数の IgLR 群が活性化する必要があることを示し, 免疫系が使用しているシグナル伝達経路が骨形成においても利用されていることを明らかにした. 本研究についても PIR の GVHD における役割の解明と同様に新聞報道が行われた. 免疫難病としてとらえられるリウマチ関節炎において IgLR 群という新たな標的が示され, 世界の骨・免疫関係の研究者および製薬系企業に多大な影響を与えた画期的な成果であると考えられる. また, この成果を基に DAP12 に会合する膜分子の検索が進められ, セマフォリンファミリーの一員である Plexin A1 と TREM-2 が骨髄系細胞で会合することが示された (Takegahara et al. 2006). この成果は神経系に豊富に発現するセマフォリン群との相互作用を連想させるものであり, Nasu-Hakola 病の病因の解明にもつながると考えられる.

3.1.8. 自己免疫疾患における Fc レセプターの役割と細胞治療に向けての実験系の構築

【研究概要と成果】

3.1.8.1. 抑制性 Fc レセプターと Fas の二重欠損により健常系マウスにおいて全身性エリテマトーデス (SLE) が発症する (Yajima et al. 2003)

SLEは抗DNA抗体の産生、血管炎、糸球体腎炎、関節炎などを発症する全身性自己免疫疾患であるが、免疫複合体が全身を循環して多様な組織で沈着し、炎症を誘発する。アレルギーやリウマチと同様に多くの遺伝的要因に環境因子が影響して発症すると考えられている。責任遺伝子と疾患発症機構の追究のためにいくつかのSLEモデルマウスが開発されており、現在、30個以上のマウスSLE感受性遺伝子座が同定されているが、その遺伝子の実体が分からないものが多い。MRL *lpr*はこうしたモデルマウスの代表的なもののひとつであるが、アポトーシスを誘導する分子であるFasに変異を有し、リンパ球の増殖、抗DNA抗体などの自己抗体の産生が見られ、糸球体腎炎、関節炎などを自然発症し、5-6ヶ月齢までに腎炎などにより約半数が死亡する。しかし *lpr* を指標にC57BL/6 (B6) に戻し交配した系統であるB6. *lpr* ではもはや自己免疫疾患を発症しなくなるため、SLE抑制性の遺伝子(あるいは遺伝子群)がB6マウスに存在することが示唆される。我々はFcγRIIBがSLE抑制遺伝子としてはたらく可能性を検討した。B6. *lpr* にFcγRIIB欠損を導入した結果、MRL. *lpr* で見られるものと同様の自己免疫疾患が発症し、著しく短命であった(Yajima et al. 2003) (図25)。従ってFcγRIIBは全身性自己免疫疾患においても抑制因子としてはたらく、多遺伝子疾患であるSLEであってもFas変異とFcγRIIB欠損という2個の遺伝素因の合併のみで再構成出来ることになる。

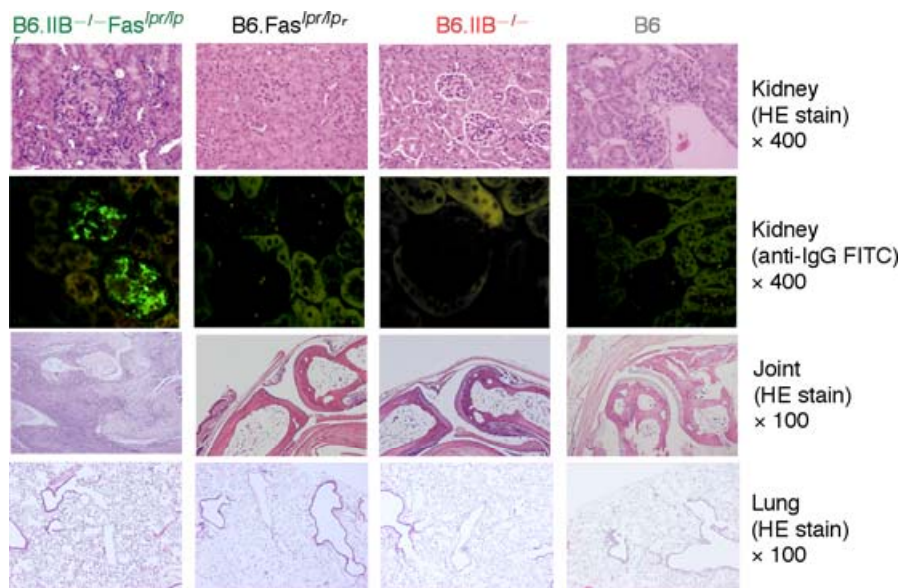


図25 FcγRIIB欠損のB6. *lpr* マウスは全身性エリテマトーデス様の自己免疫を発症する
FcγRIIB欠損 (IIB^{-/-}) に *lpr* つまり Fas 変異が加わると、健常系のB6マウスであっても腎糸球体に炎症像が見られ、IgGの沈着、関節炎が観察される。血管炎は肺胞で見られる限りは顕著でない。

3.1.8.2. 自己免疫性糖尿病の発症は活性化型Fcγレセプターに顕著に依存する (Inoue et al. Submitted)

自己免疫性糖尿病は一般に、T細胞依存性の自己免疫疾患とされており、膵島β細胞に対する組織特異的、細胞性自己免疫が多くの遺伝因子に起因して惹起されると考えられている。このモデルとしてNODマウスがよく使われるが、我々は多くの自己免疫疾患がそうであるように抗体依存性、ひいてはFcレセプター依存性の経路が寄与する程度を見積もるた

めに、各種 Fc レセプター欠損 NOD マウスを作成し、糖尿病の発症、および膵島炎症などを解析した。その結果、活性化型 Fc レセプターが欠損した NOD マウスは糖尿病の発症率および膵島炎症が顕著に低下し、逆に抑制性 Fc レセプターが欠損した NOD マウスではこれらが野生型 NOD マウスと同等であった (図 26)。

膵島炎に先駆けて産生される膵島 β 細胞特異的自己抗体のレベルは各種 Fc レセプター欠損 NOD マウスで際立った特徴はなく、むしろ野生型マウスよりも上昇する傾向が見られた。糖尿病の発症が樹状細胞あるいは NK 細胞の移入によって惹起されることから、これら細胞上に発現する活性化型 Fc レセプターが糖尿病の発症に重要な役割を演じていることが示唆された。また臨床において自己免疫疾患などに使われる製剤である γ グロブリン大量静注療法を NOD マウスに施すと、有意に症状の発現を低下、遅延させることができることが示された (Inoue et al. Submitted)。

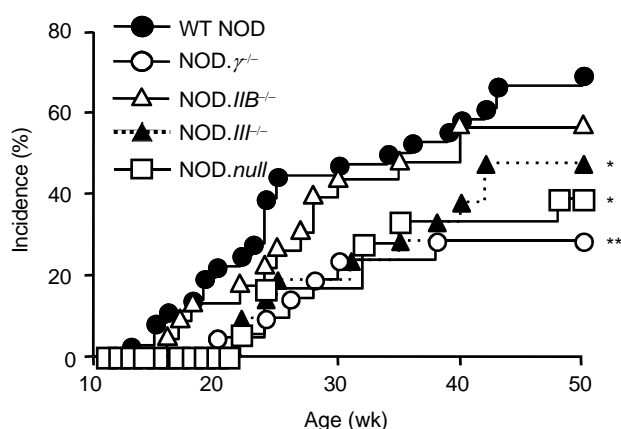


図 26 活性化型 Fc γ レセプター欠損の NOD マウスは自己免疫性糖尿病の発症率が低下する
Fc γ R鎖欠損, Fc γ RIII 欠損, 全 Fc γ R 欠損 (null) の NOD マウスはいずれも発症率が野生型の 5 割程度に低下するが Fc γ RIIB 欠損 (IIB⁻) では影響が見られない. 図には示さないが、膵島炎の程度のこの発症率とは相関する。

【成果の位置づけと類似研究との比較】

SLE が Fc γ RIIB の変異に依存する可能性が指摘されたことで関連研究が活性化され、実際に Fc γ RIIB の変異とヒト SLE 発症との連関が調査されている。たとえばプロモーター領域の多型と SLE のリンク、膜貫通領域の多型と疾患のリンクが明らかになってきており、膜領域のアミノ酸配列の違いでラフトに組み込まれる容易さに差があるなどの知見が最近報告されている。また Fc γ RIIB の近傍に存在する SLAM ファミリー遺伝子との関連も指摘され始めており、我々の研究はこの分野の関連研究を大いに刺激する結果となっている。

また、NOD の方では、T 細胞依存性とされている自己免疫性糖尿病において Fc レセプターの役割を初めて明確に示した研究となった。これまで自己抗体は糖尿病の発症に大きく貢献しないとされてきたが、自己抗体との相互作用を想定できる Fc レセプターが欠損することで発症が顕著に低下することから、新たに Fc レセプターおよびそのシグナル経路を標的とした治療方法の構築が可能となった。実際に γ グロブリン大量静注療法が有効に機能することが証明され、関連研究を大いに活性化する成果である。

3.1.9. 不死化培養細胞の作成による薬効評価系の構築

【研究概要】

ミエローマ細胞との融合に頼らず、一次培養細胞を不死化して永続的に培養可能とし、かつ本来のエフェクター機能を保有している免疫系細胞の樹立方法の確立を目指した。これらは免疫難病のキーステップを構成するエレメントを解析するうえで絶好の材料であり、また新薬開発の一次スクリーニング系として有用である。

【具体的研究内容と成果】

代表者らは現在まで、温度感受性 SV40 ウィルス Large T 抗原遺伝子トランスジェニックマウス (SV40LTg) から一次培養に移行させた樹状細胞 (Ebihara et al. 2005), NK 細胞 (Iizuka et al. 2006), マスト細胞の株化 (Kanehira et al. 2006) に成功し (図 27), いくつかの細胞は本来の機能を保持していることを確認した。

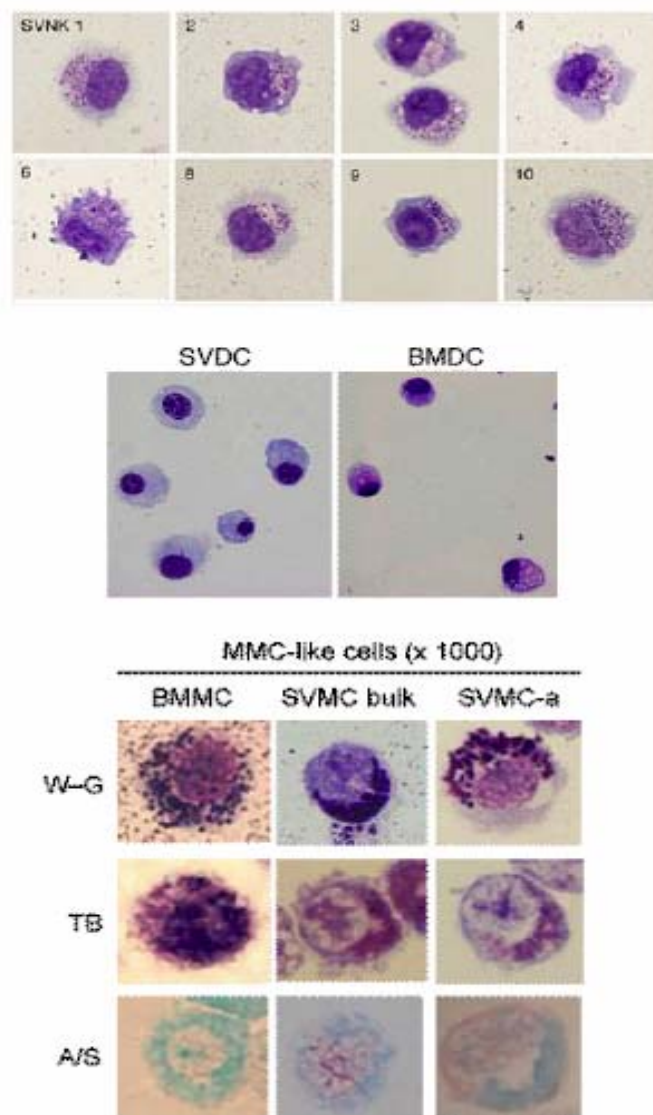


図 27 SV40LT トランスジェニックマウスから誘導培養され、不死化された樹状細胞 (SVDC), NK 細胞 (SVNK), マスト細胞株 (SVMC)

上 脾臓細胞を NK1.1 マーカーにて magnetic sorting ののち IL-2 で誘導培養することで得られた NK 細胞クローンのライト-ギムザ染色像.

中 骨髄細胞を GM-CSF により誘導培養して得られた樹状細胞株のライト-ギムザ染色像.

下 骨髄細胞を IL-3 により誘導培養することで得られたマスト細胞株. 通常の骨髄誘導マスト細胞 (BMDC), およびクローニングする以前の SVMC (SVMC bulk) とクローン a (SVMC-a) のライト-ギムザ染色 (W-G), トルイジンブルー染色 (TB), およびアルシアンブルー-サフラニン染色 (A/S) 像を示す. 顆粒が十分に発達していることがわかる.

これらの不死化 SV クローンの一部について, 細胞移入療法への応用を試みている. 37°C では増殖が停止する性質を持つため, 生体内における有効性が確認できている例に限られるが, SVDC はとりわけ試験管内で細胞傷害性 T 細胞の誘導能が高いことを反映して, 腫瘍増殖を *in vivo* で亢進した. また同様に試験管内で免疫複合体でパルス刺激することで, 正常マウスに通常の免疫応答を惹起させる能力を有することが示された (図 28) (Ebihara et al. 2005).

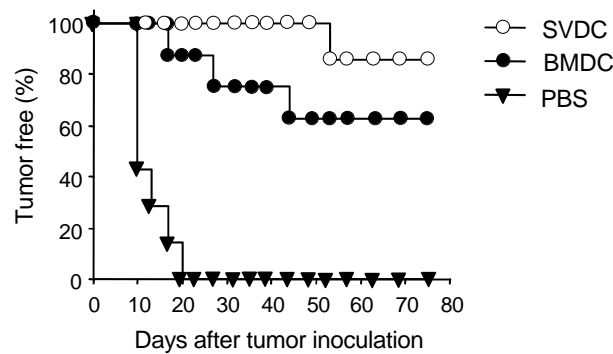


図 28 SVDC は細胞移入により腫瘍排除効果を発揮する

試験管内で SVDC を OVA 刺激し, マウスに移入した. その後 E. G7 腫瘍細胞を皮下接種し, 腫瘍サイズを測定したところ, 通常の骨髄由来 DC に比べて高い細胞傷害活性誘導能を反映して腫瘍の増殖を有意に押さえる傾向を示した (Ebihara et al. 2005).

【成果の位置づけと類似研究との比較】

これまで間質系細胞でしか主立った成功例の無かったリンパ系細胞, 骨髄系細胞においても SV40LT トランスジェニックマウスを利用して機能を保持した株化細胞を樹立できることが示された. この成果は更に特定の遺伝子変異を有するマウスと SV40LT トランスジェニックマウスとの交配種を確立することで, 特定の遺伝子機能を変異させた免疫系細胞の樹立が可能であることを示唆するものである. 既に本業績については企業に譲渡のうえ社会還元を目指している.

(2)研究成果の今後期待される効果

我々の研究成果の中で, 今後とりわけ重要になると確信することは, PIR と MHC クラス I 分子との相互作用の様式, 免疫シナプスにおける構造遷移とシグナル伝達の変換機構の解明である. これらを解決することで, 抗原提示という免疫応答のスタートポイントにおける膜分子同士のダイナミクスが理解でき, さらに制御が可能になるかも知れないからであ

る。この徹底的な基礎研究により多くの免疫難病に対する新規な制御方法の構築につながっていくことが期待される。

PIR-B 欠損で示された GVHD の亢進現象 (Nakamura et al. 2004), さらに gp49B 欠損マウスで示された同様の GVHD 亢進現象 (Kasai et al. *Submitted*) から考えると, これまで注目され続けてきた T 細胞上の共刺激分子, 共抑制分子よりも今後は, 樹状細胞上の IgLR にターゲットが移り, あたらしい研究領域の展開が進むのではないかと期待している。これらの T 細胞との相互作用の局面, つまり免疫シナプスでの挙動と機能, 構造の遷移をフォローする事で新たな免疫制御のパラダイムが構築されると思われ, 基礎研究者にとっても臨床医学研究者にとっても, また患者や一般社会にとっても有益な成果が得られる効果がある。

ヒトにおいて IgL 受容体の代表である LILR の研究はその適切なモデルの不足によりまだ生理的な重要性のレベルまでは一般的に認知され, 証明されてはいない。我々の PIR, gp49, Fc レセプターなどの研究は, 我々も含め, ヒトへの応用を視野に入れた研究を大いに刺激するであろう。それによりアレルギー, 自己免疫のメカニズムが解明され, それらを基盤にした疾患モデル動物の開発により新規な薬剤開発が行えるようになる。さらには患者の QOL の著しい改善が得られ, 社会的な経済効果に好ましい影響が与えられる。まだまだヒト IgLR, とりわけ PIR と gp49 の相同分子である LILR 群については分からないことが多い。我々も含め, 徹底的な基礎研究を押し進めることが今後も必要不可欠である。

3. 2 神経系における IgL 受容体の機能解析 (東京都老人総合医学研究所 阿相グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

DAP12 欠損による骨と神経系の疾患, 那須ハコラ病は破骨細胞とオリゴデンドロサイトの発達異常による (Kaifu et al. 2003)

Nasu-Hakola (那須ハコラ) 病は 1970 年代初頭に那須, および Hakola らによって初めて記載された, 専ら日本人とフィンランド人において 100 万人に 2 人程度の頻度で見られる稀な劣性遺伝病である。多発性の病的骨折を呈する骨関節症状と, 性格変化などの統合失調症ともオーバーラップする精神神経症状ののち, 初老期痴呆を必発し, 50 才前後で死亡するが特別な治療法は無い。この疾患の責任遺伝子は, 免疫系において見い出されていた活性化シグナル伝達を担う膜アダプター分子である DAP12 であることが最近示された。我々は免疫系と中枢神経系のコミュニケートの好例となる可能性に着目し, DAP12 欠損マウスを作製して骨および中枢神経系における DAP12 の役割を検討した。その結果, 意外なことに骨の過形成と中枢神経系の低ミエリン形成が観察され, 破骨細胞とオリゴデンドロサイトに発達障害があることを観察した (図 29)。

DAP12 欠損マウスが 2 種のグリア細胞の発達障害を示し, かつ精神分裂病患者で見られるゲート異常 (短時間のうちに繰り返される刺激に対する応答が減弱するという正常な応答が, 見られない) が観察されたことから, グリア発達異常が精神神経系の異常をきたし, さらにヒトでは何らかのトリガーが引かれて神経細胞死が誘導され, 痴呆になる可能性が指摘される。この裏付けとして近年, 高齢者の脳ではニューロンよりもグリア細胞の減少, 特にオリゴデンドログリアが担当するミエリンの減少が報告され, また精神分裂病患者の DNA マイクロアレー解析ではミエリン関連遺伝子の発現減少が報告されている。

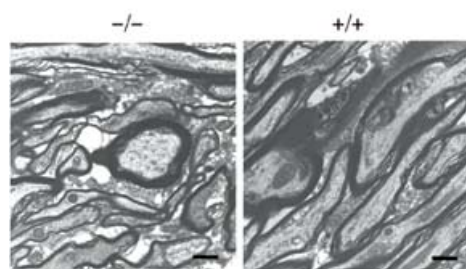


図 29 DAP12 欠損マウス中枢神経系におけるミエリン形成低下
DAP12 欠損マウス (-/-) では神経繊維の走行とともにオリゴデンドロサイト発達障害, ミエリン形成の低下傾向が見られる (Kaifu et al. 2003).

DAP12 と同様, 新規に Fcγ鎖ノックアウトマウスがグリア発達異常を示すことを発見した. これが著しいミエリン形成不全を起していることから, ヒトの多発性硬化症のモデルである実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) を誘導したところ, 炎症の低下が観察された. さらに DAP12 欠損マウスも EAE の低下が見られることが既に報告されている. したがって EAE のメカニズムとして従来考えられている, 炎症性細胞によるミエリンの攻撃の裏には, ミエリンの発達障害と修復, 再生のプログラム異常が関与している可能性がある. 代表者および阿相グループの共同研究者らはこれらの問題点を解決する基盤を構築した (Kaifu et al. 2003).

(2) 研究成果の今後期待される効果

既に Nasu-Hakola 病についてその中枢神経系での影響が DAP12 およびそれに会合するレセプターである TREM-2, さらに TREM-2 に会合する Plexin A1, そのリガンドであるセマフォリン分子という構図が描けることが示唆された (Takegahara et al. 2006). 神経疾患においても免疫学的手段が応用可能であることが証明されたので, 今後さらに分子レベルでの精神神経疾患の理解につなげてゆくものと期待される.

4 研究参加者

①高井グループ (IgL 受容体の理解に基づく免疫難病の克服)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期(平成 年月)
高井 俊行	東北大学 加齢医学 研究所	教授	IgLR の機能解析および研究の主導	13. 12～19. 3
中村 晃	同上	講師	IgLR の機能解析	14. 4～19. 3
坂本 謙	同上	CREST 博士研究員	IgLR とリガンドの機能解析	16. 4～19. 3

上堀 淳二	同上	CREST 博士研究員	IgLR と自己免疫疾患の解析	16. 4～18. 3
伊藤 由美	同上	CREST 技術職員	IgLR トランスジェニックマウスの作出	15. 4～19. 3
真屋 梢	同上	CREST 技術職員	IgLR 発現細胞の解析	15. 4～18. 3
飛内 (菅原) 章子	同上	CRESST 技術職員	IgLR 関連マウスと病理解析	15. 4～19. 3
門脇 晶子	同上	CREST 事務員	事務処理全般	14. 4～18. 3
佐藤 真理	同上	CREST 事務員	事務処理全般	18. 3～19. 3
小林 栄治	同上	D4	IgLR とリガンド結合の解析	14. 4～19. 3
遠藤 章太	同上	D4	IgLR の樹状細胞における機能解析	14. 4～19. 3
海部 知則	同上	助手	IgLR の骨髄系細胞における機能の解析	13. 12～19. 3
乾 匡範	同上	非常勤研究員	IgLR の骨形成における機能の解析	13. 12～19. 3
窪 智宏	同上	D2	IgLR と自己免疫疾患の解析	17. 4～19. 3
笠井 暁史	同上	D4	IgLR と移植免疫疾患の解析	14. 4～19. 3
森 優	同上	D3	IgLR の骨形成における機能の解析	16. 10～19. 3
井上 和也	同上	D2	IgLR の遺伝子解析	14. 4～19. 3
井上 吉浩	同上	技術職員	IgLR と自己免疫疾患の解析	13. 12～19. 3
Zsuzsanna Barad	同上	国費留学生	IgLR の B 細胞シグナルにおける機能の解析	17. 4～19. 3
今田 道代	同上	D1	IgLR トランスジェニックマウスの解析	18. 3～19. 3
辻 佑直	同上	M2	IgLR の骨形成における機能の解析	17. 4～19. 3
小林 圭輔	同上	M2	IgLR とリガンド結合の解析	17. 4～19. 3
笹野 孝義	同上	M2	IgLR とリガンド結合の解析	17. 4～18. 9
川村 雅美	同上	M2	IgLR の樹状細胞における機能解析	17. 4～19. 3
木村 真奈美	同上	M2	IgLR の樹状細胞における機能解析	17. 4～19. 3
延本 慎郎	同上	M2	IgLR トランスジェニックマウスの解析	17. 4～19. 3
斉藤 祐司	同上	M2	IgLR の樹状細胞における機能解析	17. 4～19. 3
松岡 孝幸	同上	B4	IgLR トランスジェニックマウスの解析	17. 4～18. 3
平 理一郎	同上	B4	IgLR 機能の電気生理学的解析	17. 4～19. 3
佐藤 友紀子	同上	B4	IgLR の骨髄系細胞における機能解析	18. 3～19. 3
藪田 尚子	同上	M2	IgLR とケモカインシグナルの解析	14. 4～18. 3
矢島 佳央里	同上	研究生	IgLR と自己免疫疾患の解析	13. 12～19. 3
後藤 義幸	同上	M2	IgLR トランスジェニックマウスの解析	14. 4～17. 3
秋山 健一	同上	研究生	IgLR の樹状細胞における機能解析	13. 12～17. 4
飯塚 悟	同上	D4	IgLR 機能解析のための不死化細胞の取得	13. 12～16. 3
兼平 雅彦	同上	D4	IgLR 機能解析のための不死化細胞の取得	13. 12～17. 4
増田 愛	同上	D4	IgLR のアレルギーにおける機能解析	13. 12～17. 4

佐藤 有沙	同上	M2	IgLR の自己免疫疾患における機能解析	13. 12～15. 3
前田 努	同上	M2	IgLR のマスト細胞における機能解析	14. 4～16. 3
岩田 利生	同上	M1	IgLR の樹状細胞における機能解析	15. 4～15. 9
金田 崇文	同上	M1	IgLR の自己免疫疾患における機能解析	15. 4～16. 3
小糸 寿美	同上	CREST 博士研究員	IgLR の中枢神経系における機能解析	14. 6～15. 12
高橋 美枝	同上	CREST 研究補助員	研究補助	14. 2～14. 8
吾妻 優子	同上	CREST 研究補助員	マウス飼育補助	14. 4～15. 3
西條 芳文	同上	助手	IgLR の診断技術への応用	13. 12～15. 3
氏家 あづさ	同上	D4	IgLR の骨髄系細胞における機能解析	13. 12～14. 3

②阿相グループ（神経系における IgL 受容体の機能の解析）東京都老人総合研究所グリア研究グループ

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
阿相皓晃	東京都老人総合研究所	部門長	グループ内の総括	H13. 12～H15. 3
清和千佳	同	研究員	IgLR の中枢発現とミエリン形成の解析	H13. 12～H15. 3
小糸寿美	同	CREST 博士研究員	IgLR の中枢発現とシグナル伝達	H14. 4～H14. 5
中原 仁	同	研究生	IgLR の中枢発現とミエリン形成の解析	H13. 12～H15. 3

5 招聘した研究者等

該当なし

6 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国内誌 0 件, 国際誌 28 件)

- Graham DB, Cella M, Giurisato E, Fujikawa K, Miletic AV, Kloeppe T, Brim K, Takai T, Shaw AS, Colonna M and Swat W. Vav1 controls NKG2D-DAP10-mediated NK cell cytoskeletal remodeling and natural cytotoxicity. *J. Immunol.* 177 (4): 2349–2355, 2006
- Iizuka S, Kaifu T, Nakamura A, Obinata M, Takai T. Establishment and functional

- characterization of novel natural killer cell lines derived from a temperature-sensitive SV40 large T antigen transgenic mouse. *J. Biochem. (Tokyo)* 140 (2): 255–265, 2006
3. Kanehira M, Kaifu T, Maya K, Kaji M, Nakamura A, Obinata M, Takai T. Novel mast cell lines with enhanced proliferative and degranulative abilities established from temperature-sensitive SV40 large T antigen transgenic mice. *J. Biochem. (Tokyo)* 140 (2): 211–220, 2006
 4. Takegahara N, Takamatsu H, Toyofuku T, Tsujimura T, Okuno T, Yukawa K, Mizui M, Yamamoto M, Prasad DV, Suzuki K, Ishii M, Terai K, Moriya M, Nakatsuji Y, Sakoda S, Sato S, Akira S, Takeda K, Inui M, Takai T, Ikawa M, Okabe M, Kumanogoh A, Kikutani H. Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis. *Nat. Cell. Biol.* 8 (6): 615–622, 2006
 5. Blasius AL, Cella M, Maldonado J, Takai T, Colonna M. Siglec-H is an IPC-specific receptor that modulates type I IFN secretion through DAP12. *Blood* 107 (6): 2474–2476, 2006
 6. Okazaki T, Otaka Y, Wang J, Hiai H, Takai T, Ravetch JV, and Honjo T. Hydronephrosis associated with anti-urothelial and anti-nuclear autoantibodies in BALB/c-*Fcγ2b^{-/-}Pdcd1^{-/-}* mice. *J. Exp. Med.* 202 (12): 1643–1648, 2005
 7. Turnbull IR, McDunn JE, Takai T, Townsend RR, Cobb JP, Colonna M. DAP12 (KARAP) amplifies inflammation and increases mortality from endotoxemia and septic peritonitis. *J. Exp. Med.* 202 (3): 363–369, 2005
 8. Xie X, He H, Colonna M, Seya T, Takai T, Croy BA. Pathways participating in activation of mouse uterine natural killer cells during pregnancy. *Biol. Reprod.* 73 (3): 510–518, 2005.
 9. Zhang H, Meng F, Chu C-L, Takai T, Lowell C. The src-family kinases Hck and Fgr negatively regulate neutrophil and dendritic cell chemokine signaling via PIR-B. *Immunity* 22 (2): 235–246, 2005
 10. Ebihara S, Endo S, Ito K, Ito Y, Akiyama K, Obinata M, Takai T. Immortalized dendritic cell line with efficient antigen-presenting ability established from transgenic mice harboring temperature-sensitive SV40 large T-antigen gene. *J. Biochem. (Tokyo)* 136 (3): 321–328, 2004
 11. Pereira S, Zhang H, Takai T, Lowell CA. The inhibitory receptor PIR-B negatively regulates neutrophil and macrophage integrin signaling. *J. Immunol.* 173 (9): 5757–5765, 2004
 12. Nakamura A, Kobayashi E, Takai T. Exacerbated graft-versus-host disease in *Pirb^{-/-}* mice. *Nat. Immunol.* 5 (6): 623–629, 2004
 13. Koga T,* Inui M,* (*equal contributor) Inoue K, Kim S, Suematsu A, Kobayashi E, Iwata T, Ohnishi H, Matozaki T, Kodama T, Taniguchi T, Takayanagi H, Takai T Costimulatory signals mediated by the ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis. *Nature* 428 (6984): 758–763, 2004
 14. Yamaguchi A, Katsuyama K, Nagahama K, Takai T, Aoki I, Yamanaka, S. Possible role of autoantibody in the pathophysiology of GM2 angliosidosis. *J. Clin. Invest.* 113 (2): 200–208, 2004
 15. Watanabe T, Okano M, Hattori H, Yoshino T, Ohno N, Ohta N, Sugata Y, Orita Y, Takai T, Nishizaki K. Roles of FcγRIIB in nasal eosinophilia and IgE production in murine allergic rhinitis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 169 (1): 105–112, 2004
 16. Yada, A., Ebihara, S., Matsumura, K., Akiyama, K., Aiba, S., Takai, T. Contribution of Fcγ receptors to antigen presentation and elicitation of humoral response in vivo. *Cell. Immunol.* 225 (1): 21–32, 2003
 17. Nakahara J, Tan-Takeuchi K, Seiwa C, Gotoh M, Kaifu T, Ujike A, Inui M, Yagi T, Aiso S, Takai T, Asou H. Signaling via immunoglobulin Fc receptors induces oligodendrocyte precursor cell differentiation. *Dev. Cell* 4 (6): 841–852, 2003
 18. Taube C, Takeda K, Dakhama A, Rha Y, Joetham A, Park J.-W, Ballhorn A, Takai T, Benchich KR, Nick JA, Gelfand EW. Transient neutrophil inflammation after allergen challenge is dependent on specific antibodies and Fc receptors. *J. Immunol.* 170 (8): 4301–4309, 2003
 19. Nakamura A, Nukiwa T, Takai T. Deregulation of peripheral B cell development in enhanced severity of collagen-induced arthritis in FcγRIIB-deficient mice. *J. Autoimmu.* 20 (3): 227–236, 2003

20. Nakamura A, Mori Y, Hagiwara K, Suzuki T, Sakakibara T, Kikuchi T, Igarashi T, Ebina M, Miyazaki J, Takai T, Nukiwa T. Increased susceptibility to LPS-induced endotoxin shock in secretory leukoprotease inhibitor (SLPI)-deficient mice. *J. Exp. Med.* 197 (5): 669–674, 2003
21. Yajima K, Nakamura A, Sugahara A, Takai T. Fc γ RIIB deficiency with Fas mutation is sufficient for the development of systemic autoimmune disease. *Eur. J. Immunol.* 33 (4): 1020–1029, 2003
22. Nieswandt B, Bergmeier W, Schulte V, Takai T, Baumann U, Schmidt RE, Zirngibl H, Bloch W, Gessner JE. Targeting of platelet integrin α IIB β 3 determines systemic reaction and bleeding in murine thrombocytopenia regulated by activating and inhibitory Fc γ Rs. *Int. Immunol.* 15 (3): 341–349, 2003
23. Akiyama K, Ebihara S, Yada A, Matsumura K, Aiba S, Nukiwa T, Takai T. Targeting of apoptotic tumor cells to Fc γ receptors provides efficient and versatile vaccination against tumors by dendritic cells. *J. Immunol.* 170 (4): 1641–1648, 2003
24. Kaifu T*, Nakahara J*, Inui M*, (*equal contributors) Mishima K, Momiyama T, Kaji M, Sugahara A, Koito H, Ujike–Asai A, Nakamura A, Kanazawa K, Tan–Takeuchi K, Iwasaki K, Yokoyama WM, Kudo A, Fujiwara M, Asou H, Takai T. Osteopetrosis and thalamic hypomyelination with synaptic degeneration in DAP12-deficient mice. *J. Clin. Invest.* 111 (3): 323–332, 2003
25. Xiu Y, Nakamura K, Abe M, Li N, Wen XS, Jiang Y, Zhang D, Tsurui H, Matsuoka S, Hamano Y, Fujii H, Ono M, Takai T, Shimokawa T, Ra C, Shirai T, Hirose S. Transcriptional regulation of *Fc γ 2b* gene by polymorphic promoter region and its contribution to humoral immune responses. *J. Immunol.* 169 (8): 4340–4346, 2002
26. Makabe-Kobayashi Y, Hori Y, Adachi T, Ishigaki-Suzuki S, Kikuchi Y, Kagaya Y, Shirato K, Nagy A, Ujike A, Takai T, Watanabe T, Ohtsu H. The control effect of histamine on the body temperature and respiratory function in IgE-dependent systemic anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 110 (2), 298–303, 2002
27. Ujike A, Takeda K, Nakamura A, Ebihara S, Akiyama K, Takai T. Impaired dendritic cell maturation and increased T_H2 responses in PIR-B^{-/-} mice. *Nat. Immunol.* 3 (6): 542–548, 2002
28. Kato I, Takai T, and Kudo A. The pre-B cell receptor signaling for apoptosis is negatively regulated by Fc γ RIIB. *J. Immunol.* Fc γ RIIB negatively regulates the pre-BCR signaling for apoptosis. *J. Immunol.* 168 (2): 629–634, 2002

(2) その他の著作物

【英文総説】

1. Takai T: Fc receptors: Their diverse functions in immunity and immune disorders. *Semin. Immunopathol.* (in press) DOI 10.1007/s00281-006-0055-y
2. Takai T: A novel recognition system for MHC class I molecules constituted by PIR. *Adv. Immunol.* 88: 161–192, 2005
3. Takai T: Paired Immunoglobulin-like Receptors and their MHC class I recognition. *Immunology* 115 (4): 433–440, 2005
4. Takai T: Fc receptors and their role in immune regulation and autoimmunity. *J. Clin. Immunol.* 25 (1): 1–18, 2005
5. Nakamura A, Akiyama K, Takai T. Fc receptors as potential targets for the treatment of allergy, autoimmune disease and cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 9 (1): 169–190, 2005
6. Nakamura A, Takai T. A role of Fc γ RIIB in the development of collagen-induced arthritis. *Biomed. Pharmacother.* 58 (5): 292–298, 2004
7. Takai T, Nakamura A, Akiyama S. Fc receptors as potential targets for the treatment of allergy, autoimmune disease and cancer. *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.* 3(3): 187–197, 2003
8. Takai T: Roles of Fc receptors in autoimmunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2 (8): 580–592, 2002

【和文総説・解説】

1. 森 優, 乾 匡範, 高井俊行: 破骨細胞を制御するレセプター群. 炎症と免疫14 (5): 615-619, 2006
2. 中村 晃, 高井俊行: 抑制型受容体によるアレルギー制御. 実験医学 24 (10): 1535-1539, 2006
3. 乾 匡範, 森 優, 高井俊行: 破骨細胞の分化制御機構と骨疾患. 生化学 78 (3): 250-256, 2006
4. 中村晃, 高井俊行: 加齢による免疫機構の変化と抑制性レセプター. 生体の科学 56 (6): 639-645, 2005
5. 高井俊行: イムノグロブリン様レセプターによる免疫制御. Medical Science Digest 31(12): 458-459, 2005
6. 高井俊行, 乾 匡範, 井上和也, 森 優: IgLRによる破骨細胞の分化制御. 日本臨床 63 (9): 1562-1568, 2005
7. 高井俊行: イムノグロブリン様受容体による免疫制御と免疫疾患に関する研究. 東北医学雑誌 117 (1): 115-116, 2005
8. 高井俊行: Fc受容体の異常. 最新医学 60 (6): 1322-1332, 2005
9. 高井俊行: 免疫グロブリン受容体と自己免疫疾患. 医学のあゆみ 213 (1): 52-58, 2005
10. 小林栄治, 中村 晃, 高井俊行: GVH病におけるpaired immunoglobulin-like receptor B(PIR-B) の役割. 臨床免疫 43 (2): 215-218, 2005
11. 中村 晃, 高井俊行: 第三の自己認識レセプターPIR. 臨床免疫 44 (6): 647-653, 2005
12. 高井俊行: Fc γ レセプターによる免疫制御と疾患. 日本臨床免疫学会会誌 28(5): 318-326, 2005
13. 高井俊行: IgGとアレルギー. アレルギー 54 (10): 1183-1189, 2005
14. 中村 晃, 高井俊行: 免疫グロブリン様受容体 (IgLR) 分子群による免疫制御. 日本小児 血液学会雑誌 18 (2): 59-68, 2004
15. 後藤義幸, 金田崇文, 高井俊行: 自己免疫疾患におけるFc γ レセプターの役割. 臨床免疫 41(2): 180-189, 2004
16. 高井俊行, 中村 晃: 自己免疫の治療ターゲットとしてのFc γ RIIB. Molecular Medicine 41 臨時増刊: 385-392, 2004
17. 高井俊行: ピアによるGVHDの制御. 医学のあゆみ 210(9): 776-777, 2004
18. 中村 晃, 高井俊行, 貫和敏博: SLPI ノックアウトマウス. 分子呼吸器病 8: 140-144, 2004
19. 増田 愛, 前田 努, 中村 晃, 高井俊行: I型アレルギーにおけるPIR-Bの役割. 臨床免疫 41: 43-48, 2004
20. 中村 晃, 高井俊行: PIR-Bと樹状細胞の成熟. Molecular Medicine 40 臨時増刊: 65-72, 2004
21. 高井俊行, 矢島佳央里, 後藤義幸, 中村 晃: 抑制性免疫グロブリン受容体Fc γ RIIBと自己免疫疾患. 小児感染免疫 16: 69-77, 2004
22. 後藤義幸, 中村 晃, 高井俊行: Fcレセプターと関節炎. 分子リウマチ 1(4): 50-56, 2004
23. 乾 匡範, 井上和也, 高井俊行: 免疫グロブリン様受容体と骨疾患. 医学のあゆみ 208(11): 910-915, 2004
24. 中村 晃, 高井俊行, 貫和敏博: 炎症反応の制御とプロテアーゼ阻害因子. 臨床免疫 40: 576-579, 2003

25. 増田 愛, 中村 晃, 高井俊行: アレルギー反応における Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR)-B の役割. アレルギー科 15(3):228-232, 2003
26. 増田 愛, 前田 努, 中村 晃, 高井俊行: PIR-B 欠損マウス. アレルギー科 16: 295-300, 2003
27. 中村 晃, 高井俊行: PIR-B による B 細胞の制御機構. 臨床免疫 39(5):519-524, 2003
28. 乾 匡範, 高井俊行: 活性化アダプター分子 DAP12 の機能. 臨床免疫 40(3): 309-313, 2003
29. 高井俊行, 中村 晃: Ig-like receptor 分子群による免疫細胞の制御. Annual Review 免疫 142-150, 2003
30. 高井俊行: DAP12 欠損とオリゴデンドロサイト発達障害. Clinical Neuroscience 21 (2): 162-164, 2003
31. 高井俊行, 中村 晃: Ig-like receptor 分子群による免疫細胞の制御. Annual Review 免疫2003: 142-150, 2002
32. 高井俊行: Fcレセプター欠損マウスにおける免疫異常. 蛋白質・核酸・酵素 47 (16): 2375-2381, 2002
33. 高井俊行: マスト細胞-正と負の制御レセプターによる調節. 分子呼吸器病 6 (6): 464-466, 2002
34. 氏家あづさ, 高井俊行. 新規Ig様レセプターPIRの多様性と機能. 臨床免疫 38 (3): 278-283, 2002
35. 高井俊行: Ig-like receptor最近の進展 Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR) AとBによる調節システム. 感染・炎症・免疫 32 (3): 168-175, 2002
36. 小野栄夫, 竹田和彦, 高井俊行: マスト細胞 抑制性シグナル伝達分子. 医学のあゆみ別冊アレルギーの分子医学的研究と克服: 109-115, 2002
37. 湯浅貴恵, 小野栄夫, 高井俊行: マスト細胞活性化と過敏反応におけるLynキナーゼの役割. 臨床免疫 37 (5): 567-572, 2002
38. 中村 晃, 高井俊行: Fcレセプター欠損マウス. 医学のあゆみ 別冊免疫疾患-state of arts Ver. (2) :307-310, 2002
39. 秋山健一, 貫和敏博, 高井俊行: Fc レセプターによる免疫制御機構 実験医学 20 (2): 383-390, 2002
40. 中村 晃, 高井俊行: 抑制性Fc受容体. 医学のあゆみ 200 (13): 1273, 2002
41. 中村 晃, 矢島佳央里, 高井俊行: 関節炎の発症におけるFcレセプターの役割. 日本臨床免疫学会会誌 25 (1): 56-61, 2002

(3) 学会発表 (国際学会発表及び主要な国内学会発表)

① 招待講演 (国内会議 29 件、国際会議 3 件)

【2006 年度】

1. Takai T (Invited speaker, IDAC, Tohoku University): RCAI-JSI International Symposium on Immunology "Role of paired immunoglobulin-like receptor (PIR)-B in allergic responses" Yokohama City-Hamagin Hall Via Marre 2006年6月16-18日
2. 高井俊行 (招待講演、東北大加齢研): 東北大学大学院歯学研究科インターフェイス口腔健康科学第15回学術フォーラム「破骨細胞の分化をコントロールする免疫系のレセプター」 東北大学歯学部 2006年7月19日

【2005 年度】

1. 高井俊行（招待講演、東北大加齢研）：Fc γ レセプターによる免疫制御と疾患. 第23回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 岡山 2005年3月3日
2. 高井俊行（招待講演、東北大加齢研）：PIRによる新しい自己認識システム. 科学技術振興機構 2005年第1回基礎研究報告会 大阪 2005年4月15日
3. 中村 晃（受賞講演、東北大加齢研）：免疫グロブリン様受容体による免疫疾患の制御機構の解明. 匂坂記念賞、勝山館（宮城） 2005年5月21日
4. Takai T (Invited Speaker, IDAC, Tohoku University): Exacerbated GVHD in mice devoid of PIR-B, an inhibitory receptor for MHC class I molecules. The Sixth Nagoya International Blood and Marrow Transplantation Symposium, Nagoya, Japan, May 22, 2005
5. 高井俊行（教育講演、東北大加齢研）：IgGとアレルギー. 第17回日本アレルギー学会 春季臨床大会 ホテルグランピア岡山 2005年6月1日～3日
6. 高井俊行（招待講演、東北大加齢研）：PIRによるMHCクラスI分子認識とその意義. 第5回日本蛋白質科学会年会ワークショップ「免疫シグナル伝達におけるタンパク質の分子認識」 福岡国際会議場 2005年7月1日
7. Takai T (Invited Speaker, IDAC, Tohoku University): Immunoreceptors, calcium, and bone remodeling. Gordon Conference on Bones and Teeth, The University of New England, Biddeford, ME, July 13, 2005
8. 高井俊行（招待講演、東北大加齢研）：加齢と免疫調節性レセプターの観点からー 第1回加齢皮膚医学研究会 札幌医大記念ホール 2005年8月20日
9. 高井俊行（招待講演、東北大加齢研）：免疫制御レセプターFcRとPIRをめぐる最近の話題 愛媛県医師会主催 愛媛県松山市ホテルJALシティ松山 2005年11月11日
10. 高井俊行（招待講演、東北大加齢研）：イムノグロブリンとその受容体をめぐる最近の話題 第1回神経治療を考える会（神経治療を考える会、帝人ファーマ株式会社共催） ホテルモントレー仙台 2005年11月21日
11. 高井俊行（指定講演、東北大加齢研）：新しい自己認識レセプターPIRによる免疫制御と疾患 2005年日本分子生物学会 シンポジウム「免疫系における分子認識とその制御」 福岡 SRP センター 2005年12月7日
12. 高井俊行（指定講演、東北大加齢研）：Fcレセプター 第35回日本免疫学会総会・学術集会 レビュートーク パシフィコ横浜 2005年12月13日
13. 中村 晃（招待講演、東北大加齢研）：抑制型MHCクラスIレセプターPIR-Bによる免疫応答の制御. 第35回日本免疫学会総会・学術集会 テクニカルセミナー パシフィコ横浜 2005年12月13日

【2004 年度】

1. 高井俊行（招待講演、東北大学加齢研）：Fc γ レセプターによる免疫抑制機能. 第1回東京小児感染免疫懇話会 東京 2004年2月24日
2. 高井俊行（指定講演、東北大学加齢研）：Fc γ レセプターを介する自己免疫の制御とIVIGの作用機序. 第40回日本小児循環器学会総会 サンシャインシティ文化会館（東京） 2004年6月30日 ランチョンセミナー
3. 高井俊行（招待講演、東北大学加齢研）：ペア型イムノグロブリン様受容体PIR-BによるGVHDの制御. 第7回造血器腫瘍シンポジウム ホテルグランドパレス（東京） 2004年7月10日
4. 高井俊行（受賞者講演、東北大加齢研）：イムノグロブリン様レセプターによる免疫制御機構と免疫疾患に関する研究. 第34回日本免疫学会総会・学術集会 札幌 2004年12月2日
5. 高井俊行（招待講演、東北大加齢研）：GVHDにおけるPaired Immunoglobulin-like Receptorの役割. 第27回日本造血細胞移植学会総会 ホテルグランピア岡山 2004年12月16日
6. 高井俊行（指定講演、東北大加齢研）：新しい自己認識システムを構築するPIR. 「免

【2003年度】

1. 高井俊行 (招待講演、東北大加齢研): 全身性自己免疫疾患における抑制性Fcレセプター, FcγRIIBの役割について. 千葉県がんセンター (千葉市) 2003年2月19日
2. 高井俊行 (招待講演、東北大加齢研): Fc受容体などの Ig-Like Receptor 分子群によるアレルギー・自己免疫疾患の制御. 岡山免疫懇話会 (岡山市) 2003年3月12日 セミナー
3. 高井俊行 (招待講演、東北大加齢研): Fcレセプターをはじめとするイムノグロブリン (Ig)-like レセプター (IgLR) 分子群による免疫アレルギー疾患の制御機構. 第75回日本薬理学会大会 福岡市 2003年3月24日
4. 高井俊行 (招待講演、東北大加齢研): PIR-B 欠損マウスにおける I型アレルギーの亢進. 第15回日本アレルギー学会春期臨床大会 横浜市 2003年5月12日
5. 高井俊行 (招待講演、東北大加齢研), 増田 愛, 前田 努, 中村 晃: FcR および PIR-B によるアレルギーの制御. Inhibition of allergic responses by FcR and PIR-B. 国際痒みシンポジウム大阪 (大阪市) 2003年9月6日
6. 高井俊行 (招待講演、東北大加齢研), 増田 愛, 前田 努, 小林栄治, 中村 晃: PIR-B 欠損マウスにおける I型アレルギーの亢進. アレルギー学会総会 岐阜 2003年10月24日
7. 高井俊行 (招待講演、東北大加齢研): 抑制性免疫グロブリン受容体 FcγRIIB と自己免疫疾患. 第35回日本小児感染症学会 富山 2003年11月7日 イブニングセミナー
8. Takai T (Invited speaker, IDAC, Tohoku University), Yajima K, Sugahara A, Nakamura A: FcγRIIB deficiency with Fas mutation is sufficient for the development of systemic autoimmune. 第33回 日本免疫学会総会・学術集会 福岡 2003年12月9日
9. 高井俊行 (招待講演、東北大加齢研): 抑制性 Fcレセプターによる免疫制御—新しい話題—. 第33回 日本免疫学会総会・学術集会 (福岡) 2003年12月9日 ランチョンセミナー

【2002年度】

1. Takai T (Invited Speaker, IDAC, Tohoku University): DAP12 deficiency results in thalamus-accentuated arrest of oligodendroglial development and a deficit in sensorimotor gating. Annual Meeting of Virtual Research Institute of Aging, Tokyo, September, 2002
2. Kaifu T (Invited Speaker, IDAC, Tohoku University), Inui M, Ujike-Asai A, Takai T, Kaji M, Nakahara J, Tan-Takeuchi K, Asou H, Mishima K, Sugahara A, Iwasaki K, Fujiwara M: Thalamus-accentuated malformation of myelin in DAP12-deficient mice. The 25th Annual Meeting of The Japan Neuroscience Society, Japan, July, 2002

② 口頭発表 (国内会議 28件、国際会議 5件)

【2006年度】

1. 遠藤章太, 中村晃, 高井俊行 (東北大加齢研): Paired immunoglobulin-like receptor (PIR)-B 欠損樹状細胞による MHC クラス I 拘束性抗原提示の増強」東北免疫研究会 仙台市良陵会館 2006年3月17日
2. 小林栄治, 小林圭輔, 中村晃, 高井俊行 (東北大加齢研): Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR)-B によるリガンド認識機構. 第1回 COE 相互交流、若手研究者の会 大崎市ホテルオニコウベ (宮城県) 2006年7月14日~15日

【2005年度】

1. 乾 匡範, 辻 佑直, 森 優, 高井俊行: 破骨細胞分化における Paired Immunoglobulin-like receptor (PIR)-B の役割の検討. 「シグナル伝達病の治療戦略創生拠点」COE 第 2 回若手研究交流会 ホテル大観荘 (宮城県) 2005 年 7 月 1 日～2 日
2. Inoue Y, Nakamura A, Takai T (IDAC, Tohoku University): Involvement of Fc γ receptors in the autoimmune type I diabetes of NOD mice. 第 35 回 日本免疫学会総会・学術集会 パシフィコ横浜 2005 年 12 月 13 日～15 日
3. Endo S, Nakamura A, Takai T (IDAC, Tohoku University): Enhanced MHC class I-restricted antigen presentation by Paired immunoglobulin-like receptor (PIR)-B deficient dendritic cell. 第 35 回 日本免疫学会総会・学術集会 パシフィコ横浜 2005 年 12 月 13 日～15 日
4. 石川哲 (阪大・微研・免疫化学、千葉大・院医・加齢呼吸器病態制御学)、白鳥行大、荒瀬規子、高井俊行、LANIER Lewis L.、荒瀬尚:NK 細胞の活性化 CD200 レセプターを介した新たな標的細胞認識機構 第 35 回日本免疫学会総会/学術集会 横浜市 2005 年 12 月 13～15 日
5. Takegahara N, Kumanogoh A, Takamatsu H, Takai T, Kikutani H. (Dept.Molecular Immunology, BIKEN ,Osaka Univ.): Plexin-A1 utilizes the Trem-2/DAP12 receptor complex as a co-receptor in the immune system. 第 35 回日本免疫学会総会/学術集会 横浜市 2005 年 12 月 13～15 日

【2004 年度】

1. Nakamura A, Masuda A, Maeda T, Takai T (IDAC, Tohoku University): Augmented anaphylactic responses due to hypersensitive mast cells in PIR-B-deficient Mice. International congress of immunology, Montréal Canada, July 2004
2. 古賀貴子 (東大免疫学), 乾 匡範, 末松綾子, 谷口維紹, 高井俊行, 高柳 広 : ITAM を介した共刺激シグナルは RANKL による破骨細胞分化に必須である. 日本骨代謝学会 大阪 2004 年 8 月 4-7 日
3. Inoue K, Inui M, Koga T, Taniguchi T, Takayanagi H, Takai T (IDAC, Tohoku University): ITAM-dependent costimulatory signals are essential for the maintenance of bone homeostasis. 第 77 回日本生化学会大会 横浜 2004 年 10 月 14 日
4. 中村 晃, 小林栄治, 高井俊行 (東北大加齢研): Paired immunoglobulin-like receptor (PIR) による移植片対宿主病 (GVHD) の制御. 第 34 回 日本免疫学会総会・学術集会 札幌 2004 年 12 月 2 日
5. 竹ヶ原宣子 (大阪大微研), 熊ノ郷淳, 山本みどり, 高松漂太, 識名 崇, 丸川聡子, 石田 勲, 高井俊行, 菊谷 仁 : Sema6D は plexin-A1 を介して免疫細胞を活性化する. 第 34 回 日本免疫学会総会・学術集会 札幌 2004 年 12 月 2 日
6. 乾 匡範 (東北大加齢研), 古賀貴子, 井上和也, 谷口維紹, 高柳 広, 高井俊行 : アダプター分子 DAP12 および FcR γ を介する ITAM シグナルは破骨細胞分化に必須である. 第 34 回 日本免疫学会総会・学術集会 札幌 2004 年 12 月 2 日
7. 中村 晃, 小林栄治, 高井俊行(東北大加齢研): A novel MHC class I recognition system by Paired immunoglobulin-like receptor. 第 27 回日本分子生物学会年会 神戸市 2004 年 12 月 8 日. ワークショップ

【2003 年度】

1. 高井俊行(東北大加齢研): Fc γ RIIB deficiency with Fas mutation is sufficient for the development of systemic autoimmune disease. 米国免疫学会 アメリカ合衆国コロラド州デンバー 2003 年 5 月 9 日. 英語口演
2. 中村晃, 高井俊行(東北大加齢研): Increased Susceptibility to LPS-Induced Endotoxin Shock in Secretory Leukoprotease Inhibitor (SLPI)-Deficient Mice. 米国免疫学会 アメリカ合衆国コロラド州デンバー 2003 年 5 月 10 日. 英語口演
3. 高井俊行 (東北大加齢研): PIR-B 欠損マウスにおける I 型アレルギーの亢進. 第 15 回日本アレルギー学会春季臨床大会 横浜 2003 年 5 月 12 日

4. 高井俊行(東北大加齢研)：痴呆を必発する那須ハコラ病の脂質代謝異常の病態生理の解析. 財団法人 小野医学研究財団 第14回研究成果発表会 大阪 2003年6月7日
5. 後藤義幸 (東北大加齢研)：FcγRIIB 欠損マウスを用いた Guillain-Barré 症候群モデルの作製. 日本免疫学会 免疫サマースクール 2003 淡路島 2003年7月28日
6. 高井俊行(東北大加齢研)：FcR および PIR-B によるアレルギーの制御 Inhibition of allergic responses by FcR and PIR-B. 国際痒みシンポジウム大阪 大阪 2003年9月6日
7. 高井俊行 (東北大加齢研)：T helper 2-prone immune responses and enhanced severity of anaphylaxis in Paired Immunoglobulin-like Receptor(PIR)-B-deficient mice. 第76回日本生化学大会 横浜 2003年10月18日
8. 高井俊行 (東北大加齢研)：PIR-B 欠損マウスにおけるI型アレルギーの亢進. アレルギー学会総会 シンポジウム8：関連トピックス 岐阜 2003年10月24日
9. 高井俊行 (東北大加齢研)：抑制性免疫グロブリン受容体FcγRIIB と自己免疫疾患. 第35回日本小児感染症学会総会 富山 2003年11月7日
10. 前田努, 高井俊行 (東北大加齢研)：Paired Immunoglobulin-like Receptor(PIR)-B によるマスト細胞の恒常的抑制. 第33回日本免疫学会総会. 福岡 2003年12月9日
11. 乾 匡範, 高井俊行 (東北大加齢研)：DAP12 遺伝子欠損マウスの骨形成異常と視床中心性のミエリン形成低下, 劣性遺伝子 Nasu-Hakora との関連について. 第25回日本分子生物学会年会 横浜 2003年12月13日

【2002年度】

1. Toshiyuki Takai, Azusa Ujike, Kazuhiko Takedo, Akira Nakamura, Shin Ebihara, Ken-ichi Akiyama (IDAC, Tohoku University)：Hypersensitive B cells and Th2-prone immune responses in Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR)-B-deficient mice. Experimental Biology 2002 New Orleans, April 2002
2. 西條芳文, 高井俊行, 海部知則, 菅原章子, 小林和人, 穂積直裕, 田中元直, 仁田新一 (東北大加齢研)：オリゴデンドロサイト発達障害モデルマウスにおける脳組織変性の音響特性変化の検出方法 日本超音波医学会 高松市 2002年6月2日
3. Takai T (IDAC, Tohoku University): DAP12 deficiency results in thalamus-accentuated arrest of oligodendroglial development and a deficit in sensorimotor gating. Annual Meeting of Virtual Research Institution of Aging, Tokyo, Japan, September 2002
4. Jin Nakahara (Dept. Neurobiology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology), Sadakazu Aiso, Toshiyuki Takai, Hiroaki Asou: The γ chain of immunoglobulin Fc receptors triggers myelination of oligodendroglia Society for Neuroscience 32nd Annual Meeting Orland USA, November 2002
5. 後藤真里 (都老研神経生物), 酒井智美, 清和千佳, 中原仁, 高井俊行, 松本勲武, 阿相皓晃：Fc レセプターを介したオリゴデンドロサイトの分化メカニズムについて. 第7回グリア研究会 東京 2002年12月1日
6. 矢島 佳央里、中村晃、高井俊行 (東北大加齢研)：FcγRII 欠損マウスを用いた Guillain-Barre 症候群の作製. 第32回日本免疫学会総会・学術集会 東京 2002年12月5日
7. 乾 匡範、高井俊行 (東北大加齢研)：DAP12 遺伝子欠損マウスにおける骨形成異常の解析. 第32回日本免疫学会総会・学術集会 東京 2002年12月6日
8. 乾匡範 (東北大加齢研), 中原仁, 海部知則, 三島健一, 舩山俊彦, 鍛冶光司, 菅原章子, 小糸寿美, 浅井あづさ, 中村晃, 金澤潔, 竹内京子, 岩崎克典, 工藤明, 藤原道弘, 阿相皓晃, 高井俊行：DAP12 遺伝子欠損マウスの骨形成異常と視床中心性のミエリン形成低下, 劣性遺伝病 Nasu-Hakola との関連について. 第25回日本分子生物学会年会 横浜 2002年12月14日

③ ポスター発表 (国内会議 25件、国際会議 20件)

【2006 年度】

1. Nakamura A, Masuda A, Maeda T, Takai T (IDAC, Tohoku University): Cis binding of PIR-B to MHC class I on mast cells suppress allergic responses. Immunology 2006, Boston USA, May 12-16, 2006
2. Kobayashi R (Univ. Alabama at Birmingham, USA), Kubagawa H, Takai T, Sekine S, McGhee J.R, and Fujihashi K: Enhanced mucosal IgA responses in PIR-B deficient mice. Immunology 2006, Boston USA, May 12-16, 2006
3. Inoue Y, Nakamura A, Takai T (IDAC, Tohoku University): Fc γ receptors participate in the development of autoimmune diabetes in NOD mice. Immunology 2006, Boston USA, May 12-16, 2006
4. Mori Y, Inui M, Tsuji S, Nakamura A, Takai T (IDAC, Tohoku University): Regulation of human osteoblast development by LILRB4 in vitro. 1st International Conference on Osteoimmunology, Crete Greece, May 28-June 2, 2006

【2005 年度】

1. Kaifu T, Iizuka S, Ito K, Obinata M, Takai T (IDAC, Tohoku University): Establishment of Immortalized Natural Killer Cell Lines with Natural Killing and Cytokine Production from Temperature-sensitive SV40T Transgenic Mice. Experimental Biology 2005, San Diego, CA, April 2-6, 2005.
2. 森優、乾匡範、辻佑直、高井俊行（東北大加齢研）：ヒト末梢血細胞由来破骨細胞における LILR の発現と特異的機能の解析. 日本分子生物学会年会 福岡市 2005 年 12 月 7 日
3. Inoue Y, Nakamura A, Takai T (IDAC, Tohoku University): Involvement of Fc γ receptors autoimmune type 1 diabetes of NOD mice. 日本免疫学会総会／学術集会 横浜市 2005 年 12 月 13-15 日
4. Takegahara N, Kumanogoh A, Takamatsu H, Takai T, Kikutani H. (Dept.Molecular Immunology, BIKEN ,Osaka Univ.): Plexin-A1 utilizes the Trem-2/DAP12 receptor complex as a co-receptor in the immune system. 日本免疫学会総会／学術集会 横浜市 2005 年 12 月 13-15 日
5. 石川哲（阪大・微研・免疫化学、千葉大・院医・加齢呼吸器病態制御学）、白鳥行大、荒瀬規子、高井俊行、LANIER Lewis L、荒瀬尚:NK 細胞の活性化 CD200 レセプターを介した新たな標的細胞認識機構 日本免疫学会総会／学術集会 横浜市 2005 年 12 月 13-15 日
6. Inoue Y, Nakamura A, Takai T (IDAC, Tohoku University): Involvement of Fc γ receptors in the autoimmune type 1 diabetes of NOD mice. 第 35 回 日本免疫学会総会・学術集会 パシフィコ横浜 2005 年 12 月 13 日-15 日
7. Endo S, Nakamura A, Takai T. (IDAC, Tohoku University): Enhanced MHC class I-restricted antigen presentation by Paired immunoglobulin-like receptor(PIR)-B deficient dendritic cell. 日本免疫学会総会／学術集会 横浜市 2005 年 12 月 13-15 日
8. Inoue K, Inui M, Koga T, Taniguchi T, Takayanagi H, Takai T (IDAC, Tohoku University): ITAM-dependent costimulatory signals are essential for the maintenance of bone homeostasis. 第 77 回日本生化学会大会 横浜 2004 年 10 月 14 日
9. 中村晃（東北大加齢研）：抑制型 MHC class I 受容体 PIR-B によるアレルギー反応の制御. 「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 2 回公開シンポジウム コクヨホール（東京） 2005 年 12 月 15 日-16 日
10. 遠藤章太（東北大加齢研）：PIR-B 欠損樹状細胞による MHC class I 拘束性抗原提示の増強. 「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 2 回公開シンポジウム コクヨホール（東京） 2005 年 12 月 15 日-16 日
11. 坂本謙（東北大加齢研）：Paired immunoglobulin-like receptor (PIR) は同一細胞表面上の自己 MHC class I を認識する. 「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 2 回公開シン

【2004年度】

1. Akiyama K, Ebihara S, Yada A, Matsumura K, Aiba S, Nukiwa T, Takai T (IDAC, Tohoku University): Targeting apoptotic tumor cells to Fcγ receptors provides efficient and versatile vaccination against tumors by dendritic cells. International Symposium on Predictive Oncology and Intervention, Nice, France, February 2004
2. Nakamura A, Kobayashi E, Takai T. (IDAC, Tohoku University): Defective ligation of PIR-B to MHC class I molecules leads to accelerated graft-versus-host disease (GVHD). Experimental biology 2004, Washington, D.C., April 2004
3. Masuda A, Maeda T, Nakamura A, Takai T. (IDAC, Tohoku University): Augmented anaphylactic responses in PIR-B-deficient mice. Experimental biology 2004, Washington, D.C., April 2004
4. Nakamura A, Kobayashi E, Takai T. (IDAC, Tohoku University): Defective ligation of paired Ig-like receptor (PIR)-B to MHC Class I molecules leads to exacerbated graft-versus-host disease (GVHD). International congress of immunology, Montréal, Canada, July 2004
5. Kanehira M, Yumi Y, Ito K, Kaifu T, Nakamura A, Obinata M, Takai T (IDAC, Tohoku University): Establishment and characterization of novel mast cell lines derived from temperature-sensitive mutant of SV40 large T antigen transgenic mice. International congress of immunology, Montréal, Canada, July 2004
6. Endo S, Akiyama K, Yada A, Ebihara S, Matsumura K, Maeda T, Nakamura A, Aiba S, Nukiwa T, Takai T (IDAC, Tohoku University): Antigen targeting to FcγRIIB and FcγRI/III on bone marrow-derived dendritic cells efficiently elicits humoral response and cytotoxic T lymphocytes *in vivo*. International congress of immunology, Montréal, Canada, July 2004
7. Kaifu T, Ebihara S, Endo S, Itoh Y, Akiyama K, Nakamura A, Obinata M, Takai T. (IDAC, Tohoku University): Immortalized dendritic cell line with efficient cross-presentation ability established from transgenic mice harboring temperature-sensitive SV40 large T-antigen gene. International congress of immunology, Montréal, Canada, July 2004
8. Kobayashi E, Nakamura A, Takai T (IDAC, Tohoku University): Exacerbated graft-versus-host diseases in *Pirb*^{-/-} mice. International congress of immunology, Montréal, Canada, July 2004
9. 古賀貴子 (東大免疫学), 乾 匡範, 末松綾子, 谷口維紹, 高井俊行, 高柳 広: ITAMを介した共刺激シグナルはRANKLによる破骨細胞分化に必須である. 日本骨代謝学会 (大阪) 2004年8月4-7日
10. Inoue K, Inui M, Koga T, Taniguchi T, Takayanagi H, Takai T (IDAC, Tohoku University): ITAM-dependent costimulatory signals are essential for the maintenance of bone homeostasis. 第77回日本生化学会大会 横浜 2004年10月14日

【2003年度】

1. Nakamura A, Mori Y, Hagiwara K, Suzuki T, Kikuchi T, Ebina M, Takai T, Nukiwa T: Increased susceptibility to LPS-induced endotoxin shock in Secretory leukoprotease inhibitor (SLPI)-deficient mice. Association of Immunologists IMMUNOLOGY 2003, Denver, May 2003
2. Yajima K, Nakamura A, Sugahara A, Takai T: FcγRIIB deficiency with Fas mutation is sufficient for the development of systemic autoimmune disease. Association of Immunologists IMMUNOLOGY 2003, Denver, May 2003
3. 後藤義幸 (東北大加齢研): FcγRIIB欠損マウスを用いた Guillain-Barre 症候群モデルの作製. 日本免疫学会 免疫サマースクール 2003 淡路島 2003年7月28日
4. Endo S, Akiyama K, Yada A, Ebihara S, Matsumura K, Maeda T, Nakamura A, Aiba S, Nukiwa T, Takai T (IDAC, Tohoku University): Antigen targeting to Fcγ receptors on bone marrow-derived dendritic cells efficiently elicits humoral response and cytotoxic T lymphocytes *In Vivo*. International Workshop on Langerhans Cells, Tokyo, Japan, September 2003. ワークショップ
5. Inui M, Nakahara J, Kaifu T, Mishima K, Momiyama T, Kaji M, Sugahara A, Koito H, Ujike-Asai A, Nakamura A, Kanazawa K, Tan-Takeuchi K, Iwasaki K, Yokoyama W.M., Kudo A, Fujiwara M, Asou H, Takai T (IDAC, Tohoku University): DAP12 deficiency results in

- osteopetrosis and thalamic hypomyelinosis with synaptic degeneration. HUPO 2nd annual and IUBMB XIX Joint World Congress, Montréal, Canada, October 2003
6. 遠藤章太, 海老原伸, 前田 努, 秋山健一, 伊藤 梢, 伊藤由美, 中村 晃, 高井俊行 (東北大加齢研): 温度感受性 SV40Large T トランスジェニックマウス由来の新規樹状細胞クローンによる強い抗腫瘍活性. 第 33 回日本免疫学会総会 福岡 2003 年 12 月 8 日
 7. 前田 努, 増田 愛, 中村 晃, 高井俊行 (東北大加齢研): Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR)-B によるマスト細胞の恒常的抑制. 第 33 回 日本免疫学会総会・学術集会 福岡 2003 年 12 月 9 日
 8. 兼平雅彦, 伊藤 梢, 伊藤由美, 中村 晃, 高井俊行(東北大加齢研): 温度感受性 SV40 Large T 抗原トランスジェニックマウスからの株化マスト細胞の樹立ならびに機能解析. 第 33 回日本免疫学会総会 福岡 2003 年 12 月 9 日
 9. Otaka Y (Dept. Med. Chem, Kyoto University), Okazaki T, Wang J, Takai T, Honjo T: Synergistic regulation of autoimmune disease by PD-1 and FcγRIIB. 第 33 回 日本免疫学会総会・学術集会 福岡 2003 年 12 月 9 日
 10. 山口 章 (横浜市立大病理学第 2), 勝山佳代子, 山中正二, 高井俊行, 青木一郎: GM2 Gangliosides と FcR : FcR 欠損によるサンドホフ病モデルでの神経症状の改善. 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会 福岡 2003 年 12 月 10 日
 11. 山口 章 (横浜市立大病理学第 2), 勝山佳代子, 山中正二, 高井俊行, 青木一郎: サンドホフ病における抗ガングリオシド抗体による中枢神経系への影響. 第 26 回日本分子生物学会年会 神戸 2003 年 12 月 13 日

【2002 年度】

1. Takai T, Ujike A, Takedo K, Nakamura A, Ebihara S, Akiyama K (IDAC, Tohoku University) : Hypersensitive B cells and Th2-prone immune responses in Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR)-B-deficient mice. Experimental Biology 2002 New Orleans, April 2002
2. Ujike-Asai A, Takai T (IDAC, Tohoku University) : Impaired dendritic cell maturation and increased TH2 responses in PIR-B-/- mice. 2002 FASEB Summer Research Conferences, Immunoreceptors Tucson, Arizona, USA August 3-8, 2002
3. 秋山健一, 海老原伸, 貫和敏博, 高井俊行 (東北大加齢研) : Targeting Apoptotic Tumor Cells to Fcγ Receptors Provides Efficient and Versatile Vaccination Against Tumors by Dendritic Cells. 2002 FASEB Summer Research Conferences, Immunoreceptors, Tucson, Arizona, USA August 3-8, 2002
4. 矢島 佳央里, 中村晃, 高井俊行 (東北大加齢研) : FcγRII 欠損マウスを用いた Guillain-Barre 症候群の作製. 第 32 回日本免疫学会総会・学術集会 東京 2002 年 12 月 5 日
5. 飯塚悟, 海老原伸, 伊藤梢, 伊藤由美, 高井俊行 (東北大加齢研): 温度感受性 SV40 Large T トランスジェニックマウスからの樹状細胞および NK 細胞の株化と機能解析. 第 32 回日本免疫学会総会・学術集会 東京 2002 年 12 月 5 日
6. 乾 匡範, 高井俊行 (東北大加齢研): DAP12 遺伝子欠損マウスにおける骨形成異常の解析. 第 32 回日本免疫学会総会・学術集会 東京 2002 年 12 月 6 日
7. 飯塚悟, 海老原伸, 伊藤梢, 伊藤由美, 高井俊行 (東北大加齢研): 温度感受性 SV40 Large T トランスジェニックマウスからの樹状細胞および NK 細胞の株化と機能解析. 日本分子生物学会 2002 年度年会 横浜 2002 年 12 月 12 日
8. 乾匡範 (東北大加齢研), 中原仁, 海部知則, 三島健一, 初山俊彦, 鍛冶光司, 菅原章子, 小糸寿美, 浅井あづさ, 中村晃, 金澤潔, 竹内京子, 岩崎克典, 工藤明, 藤原道弘, 阿相皓晃, 高井俊行: DAP12 遺伝子欠損マウスの骨形成異常と視床中心性のミエリン形成低下, 劣性遺伝病 Nasu-Hakola との関連について. 第 25 回日本分子生物学会年会 横浜 2002 年 12 月 14 日
9. 増田 愛, 浅井 あづさ, 中村 晃, 高井 俊行 (東北大加齢研) : I 型アレルギー

反応における Paired Immunoglobulin-like Receptor (PIR)-B の役割について. PIR-B 欠損マウスを用いて. 第 32 回日本免疫学会総会・学術集会 東京 2002 年 12 月 7 日

(4)特許出願

①国内出願 (13 件, 海外出願を含む)

1. 発明の名称: ギランバレー症候群及び/又はフィッシャー症候群発症モデル非ヒト動物

発明者: 高井俊行, 中村晃, 矢島佳央里
出願人: 科学技術振興機構 (技術)
出願日: 2002 年 10 月 29 日
特願番号: 2002-315091

2. 発明の名称: 不死化ナチュラルキラー細胞株

発明者: 高井俊行, 飯塚悟, 帯刀益夫, 伊藤由美, 伊藤梢
出願人: 科学技術振興機構 (技術)
出願日: 2003 年
特願番号: 2002-316870

3. 発明の名称: 骨髄由来の不死化樹状細胞株

発明者: 高井俊行, 海老原伸, 帯刀益夫, 伊藤由美, 伊藤梢
出願人: 科学技術振興機構 (技術)
出願日: 2002 年 10 月 20 日
特願番号: 2002-316871

4. 発明の名称: 脳組織変性の診断方法

発明者: 高井俊行, 西條芳文, 菅原章子
出願人: 科学技術振興機構 (免疫)
出願日: 2002 年 10 月 30 日
特願番号: 特願 2002-316703

5. 発明の名称: Th2 型過剰免疫応答モデル非ヒト動物

発明者: 高井俊行, 氏家あづさ
出願人: 科学技術振興機構 (生体)
出願日: 2001 年 10 月 29 日
国際出願日: 2002 年 10 月 25 日
特願番号: 2001-331622

6. 発明の名称: 全身性エリテマトーデスモデル非ヒト動物

発明者: 高井俊行, 中村晃, 矢島佳央里
出願人: 科学技術振興機構 (生体)
出願日: 2001 年 10 月 29 日
特願番号: 2001-331621

7. 発明の名称: オリゴデンドロサイト発達障害モデル非ヒト動物

発明者: 高井俊行, 阿相皓晃, 藤原道弘

出願人：科学技術振興機構（生体）
出願日：2001年5月16日
特開番号：2003-18942

8. 発明の名称：リウマチ関節炎高発症モデルマウス
発明者：中村晃，貫和敏博，高井俊行
出願人：科学技術振興機構（生体）
権利者名：科学技術振興事業団
出願日：2004年6月16日付け登録査定
特開番号：2001-178308

9. 発明の名称：不死化マスト細胞株.
発明者：高井俊行，帯刀益夫，兼平雅彦，伊藤梢，伊藤由美
出願人：科学技術振興機構（技術）
出願日：2003年11月

10. 発明の名称：移植片対宿主病モデル動物
発明者：高井俊行，中村 晃
出願人：科学技術振興機構（免疫）
出願日：2004年3月30日
特願番号：2004-100061

11. 発明の名称：大理石骨病モデル非ヒト動物
発明者：高井俊行，高柳 広，乾 匡範，古賀貴子
出願人：科学技術振興機構（免疫）
出願日：2004年3月31日
特願番号：2004-108206

12. 発明の名称：免疫応答の誘導方法
発明者：秋山健一，高井俊行，貫和敏博
出願人：科学技術振興事業団（免疫）
出願日：2002年10月18日
特願番号：2002-305078

13. 発明の名称：不死化ナチュラルキラー細胞株
発明者：高井俊行，飯塚悟，帯刀益夫，伊藤由美，伊藤梢
出願人：科学技術振興事業団（技術）
出願日：2002年10月20日
特願番号：2002-316870

(5)受賞等

①受賞

中村 晃 第1回勾坂記念賞（2005年5月21日）「免疫グロブリン様受容体による免疫疾患の制御機構の解明」

高井俊行 第7回日本免疫学会賞（平成16年12月）「イムノグロブリン様受容体による免疫制御と免疫疾患に関する研究」

②新聞報道

- ・「科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 CREST 研究から」
科学新聞
平成 18 年 2 月 24 日
- ・「骨髄移植 成否握るタンパク質発見」
河北新報/1 面
平成 16 年 5 月 17 日
- ・「骨髄移植 合併症抑制の受容体を発見 東北大グループ」
産経新聞/27 面
平成 16 年 5 月 17 日
- ・「骨髄移植などの不適合反応 抑制遺伝子を発見 東北大」
毎日新聞/3 面
平成 16 年 5 月 17 日
- ・「骨髄移植の拒絶反応和らげるたんぱく質 東北大発見」
日経新聞/21 面
平成 16 年 5 月 17 日
- ・「骨髄移植成功へのカギ 免疫抑制たんぱく質発見 東北大」
読売新聞/34 面
平成 16 年 5 月 17 日

③テレビ報道 (いずれも骨髄移植の成否を握るタンパク質の発見について)

- ・NHK おはよう日本
平成 16 年 5 月 17 日朝放映
- ・NHK 仙台放送局「テレまさむね」
平成 16 年 5 月放映

④その他

特になし

(6) その他特記事項

CREST の成果として得られた遺伝子欠損マウスは企業を通じて一般の販売に供している。
また SV40LT トランスジェニックマウスから得られた株化樹状細胞, NK 細胞, マスト細胞
など不死化免疫系細胞は企業に委託して頒布準備を行っている。

7 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

特になし。

8 結び

研究目標の中でも、主眼を置いた PIR の基礎研究についてはチーム内のメンバーの努力により概ね達成されたと考えているが、細胞移入療法の開発に関しては樹状細胞関連でその端緒を開始できたにせよ、まだ熟慮と期間を要する状況である。

今回の CREST では期せずして研究のターゲットが抗原提示細胞上の PIR-B, gp49B, LILRB などの IgL 受容体群と T 細胞とのコミュニケーションに集中することになってきた。これまでのノックアウトマウスの表現型の解析を中心にした研究から、今後はより時間と場面に焦点を絞った研究および構造学的解析にシフトしていく方向性を考えている。免疫シナプスにおける各 IgL 受容体分子の挙動、構造遷移、シグナル変換機構などが興味を引くポイントである。これらは免疫学のスタートポイントかつ制御ピボットであるため、我々の次なる研究の展開場所と考えている。

CREST をこれまでブランク期間はあったものの合計 2 期務めさせて頂く幸運に恵まれ、さらに多くのチームメイトおよび共同研究者に恵まれ、成果を挙げることができた。とりわけ第 1 期の CREST から参加してもらった技術系職員および大学院生がそれぞれ格段の成長を遂げ、大学教員として、ポスドクとして、そしてすばらしいスキルを発揮する専門的技術員として活躍していただけたのが今回の第 2 期である。5 年間は長いようで短い、今後もこのような人材の成長を大いに促す、人件費を含めた複数年に亘る研究費のサポートを何らかの形で新規に獲得していきたいと思うし、CREST という、人材をじっくり育てる優れた制度には引き続き継続的に発展して行って頂きたい。

本 CREST において私自身が学んだこと、および研究統括・アドバイザーの諸先生から頂いた貴重な数々の助言により成長しえた事は、物事を徹底的に掘り下げた研究姿勢であろうか。限られた課題に取り組んでいた大学院生の時代から年数が経ち、チームメイトが増えてきたのをおいこと、得てして手広く浅く研究を進め勝ちであった自分を見つめ直すとともに、エネルギーを一点に集中することを学ばせて頂いたことに感謝申し上げたい。

最後に、チームメイト、およびいつも遺伝子改変マウスの管理で多大なお世話を頂いている加齢医学研究所実験動物管理室の皆さんと 2005 年冬に撮ったスナップを紹介して報告を終えたい。皆様の長い間のご指導、ご鞭撻、ありがとうございました。

