

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： IgL受容体の理解に基づく免疫難病の克服

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名

研究代表者

高井 俊行（東北大学加齢医学研究所 教授）

主たる共同研究者

阿相 皓晃（東京都老人総合研究所 部門長 平成 13 年 12 月～平成 15 年 3 月）

3. 研究内容及び成果：

研究代表者は平成 8 年から 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レセプターが中枢的な制御を行っていることを解明してきた。

今回の新たな CREST 研究課題では、代表者らのこれまでの成果を踏まえた上で、免疫グロブリン様受容体分子群 (Ig-like receptor, 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、とりわけ代表者らが世界に先駆けて発見し、その機能を探索してきた Paired IgLR (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。

具体的には、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。

研究成果の概略：

- (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し、これら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、

移植関連免疫病の分子基盤を解明した。

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 $\beta_2$ ミクログロブリン鎖とMHC-I $\alpha$ 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を提唱した。代表者らの最近の研究では、PIRはこの他、自己免疫、癌免疫にも関係している可能性が示唆されている。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。

さらに代表者らは $\alpha V\beta 3$ インテグリンのレセプターとされる抑制性IgLR、gp49Bの欠損マウスを作製し、免疫制御機構におけるgp49Bの役割に関する検討を行った。その結果、T細胞と樹状細胞の相互作用の局面において樹状細胞上のgp49BがT細胞上のインテグリンあるいは未知のリガンドを認識することで抗原提示効率を調節しており、この制御の欠損によりこれもGVHDの重症化につながることを明らかにした。

- (2) IgLRの機能異常が基盤となる「免疫難病」の範疇に、さらに骨形成異常および精神神経疾患をも加え、それらの新たな分子的基盤を見いだした。

代表者らは活性化型IgLRのシグナル伝達アダプター分子であるFcR $\gamma$ およびDAP12の欠損マウスを用い、骨形成機構における活性化型IgLRの重要性を証明するとともに、これまでRANKLとM-CSFさえあれば分化が進行すると考えられていた破骨細胞において、IgLRが分化促進に不可欠の役割を演じていることを示した。さらに、DAP12が欠損するヒトの劣性遺伝病であるNasu-Hakola病では若年性認知症が観察されるが、代表者らはDAP12欠損により中枢オリゴデンドロサイトのミエリン形成機構に障害が生じることを示し、IgLRと中枢神経の発達制御機構との新たな関係についてその分子基盤を解明することができた。

- (3) 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した。

上述の疾患モデルマウスについて、そのまるごとの表現型の解析に留まらず、これらから単離された培養細胞を不死化し、その機能を安定的に解析する手段、あるいは薬効評価系として利用する手段を開発した。SV40ラージT抗原トランスジェニックマウスはその構成細胞を単離すると試験管内で容易に不死化する例が数多く示されていたが、リンパ系細胞、骨髄系細胞においてその例はごくわずかである。代表者らはこのトランスジェニックマウスさらに遺伝子欠損マウスとの交配種から樹状細胞、マスト細胞、NK細胞の不死化に成功し、それらが免疫機能の解析にとりわけ利用価値が高いことを示した。将来的にこれら遺伝子変異

細胞の培養系が免疫難病に対抗する新規薬剤の薬効評価系として利用されるべく、その道筋を示すことができたことになる。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

移植関連免疫病であるGVHDの誘導実験でのPIRとMHC-Iとの相互作用の解析、結合部位の同定、立体構造での解析から、PIR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していることを提唱し、着実に成果を挙げた。最近の成果は以前と比較するとやや物足りなさを感じるが、MHC-IとPIRとの結合の意義に関する今後の進展を期待したい。

これらの研究成果は、論文発表(海外30件)、口頭発表:ポスター発表を含む(海外67件、国内105件)として発表されている。Nature immunol、Nature、Immunityを初め国際的に評価の高い学会誌や国際会議に多くの優れた研究成果を発表している。本CREST期間を通じて得られた成果はその多くの知見をAdv. Immunol.誌のレビューとして発表し、世界に発信された。特許は第1期CRESTおよび本CREST期間で合計13件の特許出願を行った。

下記はその中でも特筆すべきものである。

- 1) PIRはMHC-I分子を認識し、移植関連免疫病であるGVHDの誘導実験から細胞応答を制御している。B細胞、樹状細胞などには、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、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を提唱した。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免疫難病の克服に向かう新しいルートにつながることを期待される。この成果はNature immunolの2報に報告され重要性は特筆に値する。
- 2) 活性化型IgL受容体は、骨形成過程においてRANKLと協同して破骨細胞の分化を誘導することを明らかにした。この成果はGordon Research Conferenceでの招待講演者として発表された。
- 3) PIR-Bがインテグリンやケモカインレセプターのシグナル伝達を抑制することをPereiraらとの共同研究で明らかにした。
- 4) PIR-Bを標的に移植片対宿主病(GVHD)の緩和、予防を図る「移植片対宿主病モデル動物」特許、ならびに培養免疫系細胞の簡便な不死化方法の「不死化マスト細胞株」、「不死化ナチュラルキラー細胞株」、「骨髄由来の不死化樹状細胞株」等の特許は、モデル動物の販売を既に行っており、ベンチャー企業での利用が開始された。

##### 4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

PIR/LILR の自己抗体産生における役割の解明、さらに免疫難病との関連の分子メカニズムの解明などで着実に成果を挙げたと評価される。この成果が CREST 戦略目標への貢献とともに将来的な発展が期待される。

また、PIR-B が自己マーカー分子である MHC クラス I を認識し、多様な免疫機能を調節していることを明らかにした。この研究成果は、移植医療を考えるうえで貴重な成果である。骨髄移植に伴って副反応として発症する移植片対宿主病のコントロールは骨髄移植の成否を握る重要なステップであり、PIR、ヒトの LILR がこの段階を制御していることを指摘した成果として評価される。

T 細胞側の共役制御レセプターは数多く見つかっているが、樹状細胞側を制御するレセプターは極めて少ない。PIR/LILR は樹状細胞の活性をコントロールするユニークな役割を有することを証明している点で評価される。

PIR-B 欠損マウスなどの成果は特許出願しており、移植関連免疫病のモデル動物として PIR/LILR を標的と

した薬剤開発に貢献することが期待される。

#### 4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

PIRがMHCクラスIのレセプターであることを証明し、免疫系において重要な役割を演じていることを明らかにした。しかしまだこのPIRの重要性についてはほんの入り口に過ぎないと考える。免疫応答、免疫疾患におけるPIRをはじめとしたIgL受容体の寄与、その機構については今後の展開を期待したい。

本研究を通じて多くの若手研究者、技術者が育成された。中村はこの第2期CRESTにおいて助手、講師に昇進した。その他、大学院生であった乾、海部らはそれぞれCOEフェロー、当教室助手に昇進した。

#### 受賞:

1)中村 晃(東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野講師)

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」(東北大学医学系研究科)

2)高井俊行(研究代表者:東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野教授)

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」(日本免疫学会)