

研究課題別評価

1.研究課題名 :免疫グロブリン受容体を介した生体防御機構

2.研究者氏名 渋谷 彰

グループメンバー 張 華(研究期間 H14.5.1.~H15.9.30.)

亀山 東光恵(研究期間 H13.11.1.~H14.12.31.)

本多 伸一郎(研究期間 H12.12.1.~H14.3.31.)

田原 聡子(研究期間 H13.4.1.~H14.3.31.)

3.研究の狙い:

高等動物であるヒトは病原微生物に対する生体防御機構としてきわめて精緻な免疫システムを築き上げてきた。ヒトの進化と生存は感染症との戦いにおける勝利の歴史であったとも言える。しかし、感染症は現代にいたってもなお人類にとっての最大の脅威である。これは免疫システムの異常や破綻、加齢による質的、量的脆弱化によってもたらされる。一方で、免疫システムの異常は自己免疫病やアレルギーといったきわめて今日的な難治疾患の本質的病因ともなっている。これらの疾病の本質的な制御法を開発するためには、免疫システムの成り立ちを解明し、その生理と病理を理解することが必須である。

ヒトなどの高等動物では、病原微生物などの侵入を補体や喰細胞などによる非特異的な認識機構で排除する自然免疫に加えて、初めて侵入した病原微生物(抗原)をリンパ球が特異的に認識し、記憶することによって、再感染時にこれを強力に排除する特異免疫機構を獲得する。この特異免疫反応による生体防御機構においては、Bリンパ球より分泌される免疫グロブリン(抗体)がTリンパ球とともに中心的な役割をはたしている。免疫グロブリンは抗原と結合して免疫複合体を形成しその病原性を中和する一方で、形成された免疫複合体がリンパ球や顆粒球など種々のエフェクター細胞と免疫グロブリン受容体を介して結合することにより、エフェクター細胞の活性化を制御している。これまでIgGやIgEなどの免疫グロブリンに対する受容体が同定されており、病原微生物の貪食や炎症、アレルギー反応などの病態に重要な役割をになっていることが明らかにされてきた。

IgM抗体は病原微生物の初回感染後にナイーブBリンパ球から分泌される免疫グロブリンであるが、これまでIgMに対する免疫グロブリン受容体が同定されていなかったため、IgM抗体の生理的役割は未だ十分に解明されていなかった。一方、IgA抗体は粘膜面から分泌され粘膜からの感染防御に働いているが、IgA抗体による病原体排除機構については不明の点が多い。本研究では、本研究者が世界に先駆けて同定したIgMおよびIgAに対する免疫グロブリン受容体(Fc μ R)の機能解析を行うことによって、IgMおよびIgA抗体の生体防御機構における役割を明らかにする。さらに新たな免疫グロブリン受容体類似分子の同定も積極的に試み、高次生命調節機構としての免疫システムの成立の理解とワクチンなどを含む免疫制御法の開発のための分子基盤を築くことを狙いとした。

4.研究結果:

(1)Fc μ Rの機能解析

(発表関連論文 1, 3, 4, 7, 11, 19, 20, 24)

A) 抗原提示機能の証明

卵白アルブミン (OVA) を抗原として用いて、OVA に対する IgM や IgA 抗体との免疫複合体が Fc / μ R を介して腹腔マクロファージ抗原提示細胞に取り込まれることを明らかにした。さらに OVA 抗原がプロセッシングを受け抗原提示され、ヘルパーT 細胞の活性化をトリガーすることを *in vitro* の系で証明し、Fc / μ レセプターが自然免疫から獲得免疫への連携に重要な役割を担っていることを明らかにすることができた。

B) Fc / μ R の発現の解析

ヒトおよびマウスの Fc / μ R に対するモノクローナル抗体を作製しその発現を解析したところ、抗原提示細胞などの免疫系細胞のみならず、腎臓や小腸などにも多量に発現することを明らかにした。

C) Fc / μ R の遺伝子欠損マウスおよびトランスジェニックマウスの樹立

個体レベルでの Fc / μ R の生体内機能解析をするために、Fc / μ R の遺伝子欠損マウスおよびトランスジェニックマウスを樹立することができ、現在その解析をおこなっている。

(2) 新しいペア型免疫グロブリン様受容体ファミリー (MAIR) の同定と機能解析

(発表関連論文 14, 23, 25, 27)

抗原の非特異的なパターン認識により免疫応答が誘導される自然免疫システムでは、自己の組織傷害の危険が常に存在する。したがって自然免疫システムでは免疫細胞の活性化の厳密なコントロールによるホメオスタシス維持機構がなければならない。抑制性受容体は活性化受容体と対をなし、免疫応答のホメオスタシス維持に重要な役割を担っている。本領域の研究でマクロファージ、顆粒球、肥満細胞、樹状細胞、B細胞などに発現する新しい免疫グロブリン様受容体分子であるMAIR-I およびMAIR-IIを同定した (J Exp Med 2003)。これらは細胞外領域が互いに高度に保存されるが、細胞内領域が異なるためにMAIR-I は細胞の活性化を抑制するシグナルを伝え、MAIR-IIは活性化を促すシグナルを伝えるペア型受容体であった。さらにMAIR-IIは SHIP と会合して抑制性シグナルを伝え、IgE受容体刺激による肥満細胞からの脱顆粒を抑制した。一方MAIR-IIIはアダプター分子であるDAP12と会合し、マクロファージからの炎症性サイトカインやケモカインの分泌を亢進させることを明らかにした。これらの結果より、MAIRは、自然免疫に関与する免疫細胞の活性化を誘導したり、その活性化を収束したりするファミリー分子群であることがわかり、これらから自然免疫による生体防御と自己寛容の両立の制御機構の理解に新しい概念が展開されることが期待される。

(3) リンパ球接着分子DNAM-1(CD226)のリガンドの同定と機能解析

(発表関連論文 6, 8, 9, 15, 17, 18, 28)

DNAM-1は本研究者が同定した免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜受容体分子である (Shibuya, et al. Immunity 1996)。DNAM-1はT、NK、マクロファージなどに発現する接着分子であるが、そのリガンドは不明であるため免疫応答における役割は充分解明されていない。リガンドを同定するためにDNAM-1分子の細胞外ドメインとヒト免疫グロブリンFc部分とのキメラ蛋白を作製しこれをプローブとして発現クローニングを行った結果、poliovirus receptor ファミリーのメンバーである CD155 (poliovirus receptor/PVR) とCD112(Nectin-2/PRR-2)の2つがDNAM-1のリガンドであることを明らかにした (Int Immunol, in press)。

一方、DNAM-1 は免疫系細胞のみならず、血小板や巨核球などにも発現することを見いだした。DNAM-1のリガンドが血管内皮細胞に発現しており DNAM-1 とそのリガンドとの相互作用が血小板や巨核球の血管内皮細胞への接着に関与する事を示し、血栓、止血機構において DNAM-1 が

重要な役割を担っていることを示唆した (J Biol Chem, 2003)。

さらに DNAM-1 はもう一つのリンパ球接着分子 LFA-1 と会合し、LFA-1 による T 細胞への副シグナルに重要な役割をになうことを明らかにした (J Exp Med, 2003)。

5. 自己評価 :

本領域での研究の中心は IgM/IgA 免疫グロブリン受容体である Fc / μ R の生体内での機能を明らかにすることであり、そのためにノックアウトマウスの樹立とその解析が主たる研究内容となる予定だった。しかしノックアウトマウスの樹立に予想外の時間がとられ、最終年までかかってしまったことから、研究期間内にその十分な解析ができなかったことは残念であった。しかしこれと併行しておこなってきた Fc / μ R の機能解析から、1) Fc / μ R が抗原提示機能に関与するという当初の仮説を証明する結果に加え、2) Fc / μ R が免疫系細胞のみではなく、腎臓や小腸など免疫系細胞以外にも発現を認め、これらの臓器における生体防御機構を調節している可能性が明らかになったことは興味深く、今後の研究の発展に直接つながる基盤的成果と考えている。また、現在までのノックアウトマウスの解析から Fc / μ R が個体レベルで免疫応答に重要な役割を担っていることを示唆する結果が得られており、今後新しい重要な展開がもたらされるものと考えている。一方、Fc / μ R の解析のみにとどまらず、新しい免疫グロブリン様受容体である MAIR ファミリーを同定し、その *in vitro* での機能を明らかにしたこと、および以前に我々が同定した免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜分子である DNAM-1(CD226)のリガンドと DNAM-1 の LFA-1 シグナルにおける役割を明らかにし、いずれも国際一流誌に報告できたことは満足できるものと考えている。

6. 研究総括の見解 :

免疫学において、IgM 抗体を中心とする免疫機構の解明が後まわしにされてきたことは否定できない。渋谷研究者は、この IgM 抗体に対する受容体の同定に世界で初めて成功した。それに基づく免疫機能の制御に取り組み生体防御機構解明に新生面を拓いたことは高く評価し得る。

7. 主な論文等 :

主な論文 著書

1. Shibuya A, Sakamoto N, Shimizu Y, Shibuya K, Osawa M, Hiroyama T, Eyre HJ, Sutherland GR, Endo Y, Fujita T, Miyabayashi T, Sakano S, Tsuji T, Nakayama E, Phillips JH, Lanier LL, Nakauchi H. Fc alpha/mu receptor mediates endocytosis of IgM-coated microbes. *Nature Immunol.* 1:441-446, 2000
2. Motohashi T, Nakamura Y, Osawa M, Hiroyama T, Iwama A, Shibuya A, Nakauchi H. Increased cell surface expression of C-terminal truncated erythropoietin receptors in polycythemia. *Eur J Haematol.* 67:88-93, 2001
3. Sakamoto N, Shibuya K, Shimizu Y, Yotsumoto K, Miyabayashi T, Sakano S, Tsuji T, Nakayama E, Nakauchi H, Shibuya A. A novel Fc receptor for IgA and IgM is expressed on both hematopoietic and non-hematopoietic tissues. *Eur J Immunol.* 31:1310-1316, 2001
4. Shimizu Y, Honda S, Yotsumoto K, Tahara-Hanaoka S, Eyre HJ, Sutherland GR, Endo Y, Shibuya K, Koyama A, Nakauchi H, Shibuya A. Fc(alpha)/mu receptor is a single gene-family member closely related to polymeric immunoglobulin receptor encoded on Chromosome 1.

- Immunogenetics. 53:709-711, 2001
5. Tokoro Y, Shibuya K, Osawa M, Tahara-Hanaoka S, Iwama A, Kitamura T, Nakauchi H, Shibuya A. Molecular cloning and characterization of mouse Tspan-3, a novel member of the tetraspanin superfamily, expressed on resting dendritic cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 288:178-183, 2001
 6. Yamada O, Ichikawa M, Okamoto T, Park C, Motoji T, Mizoguchi H, Shibuya A. Killer T-cell induction in patients with blastic natural killer cell lymphoma/leukaemia: implications for successful treatment and possible therapeutic strategies. *Br J Haematol.* 113:153-160, 2001
 7. Shibuya A, Shibuya K., Shimizu Y., Yotsumoto K., Nakauchi H. Identification of Fc γ / μ receptor expressed on B lymphocytes and macrophages. in Cooper M.D., Takai T., Ravetch J. V. (Eds) *Activating and inhibitory immunoglobulin-like receptors.* Springer-Verlag Press, 2001, pp79-84
 8. Shibuya A., Shibuya K., Yotsumoto K., Nakauchi H. DNAM-1 is a leukocyte adhesion molecule associated with LFA-1. in Mason D., et al (Eds) *Leukocyte Typing VII.* Oxford University Press, 2002, pp686-688
 9. Lanier L.L., Shibuya A., Burns G. CD226 (DNAM-1, PTA1, Tlisa). in Mason D., et al (Eds) *Leukocyte Typing VII.* Oxford University Press, 2002, pp921-922
 10. Iwama A, Osawa M, Hirasawa R, Uchiyama N, Kaneko S, Onodera M, Shibuya K, Shibuya A, Vinson C, Tenen DG, Nakauchi H. Reciprocal roles for CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) and PU.1 transcription factors in Langerhans cell commitment. *J Exp Med.* 195:547-558, 2002
 11. Nakahara J, Seiwa C, Shibuya A, Aiso S, Asou H. Expression of Fc receptor for immunoglobulin M in oligodendrocytes and myelin of mouse central nervous system. *Neurosci Lett,* 2003;337:73-76
 12. Fujiki Y, Fukawa K, Kameyama K, Kudo O, Onodera M, Nakamura Y, Yagami K, Shiina Y, Hamada H, Shibuya A, Nakauchi H. Successful multilineage engraftment of human cord blood cells in pigs after in utero transplantation. *Transplantation* 75:916-922, 2003
 13. Shibuya A. The development and functions of natural killer cells. *Int J Hematol,* 78:1-6, 2003
 14. Yotsumoto K, Okoshi Y., Shibuya K., Yamazaki S., Tahara-Hanaoka S., Honda S., Osawa M., Kuroiwa A., Matsuda Y., Tennen D. G., Iwama A., Nakauchi H., Shibuya A. Paired activating and inhibitory immunoglobulin-like receptors, MAIR - I and MAIR - II, regulate mast cell and macrophage activation. *J. Exp. Med.* 198:223-233, 2003
 15. Kojima H., Kanada H., Shimizu S., Kasama E., Shibuya K., Nakauchi H., Nagasawa T., Shibuya A. CD226 mediates platelet and megakaryocytic cell adhesion to vascular endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 278:36748-53, 2003
 16. Yoh K., Shibuya K., Morito N., Nakano T., Ishizaki K., Shimohata H., Nose M., Izui S., Shibuya A., Koyama A., Engel JD., Yamamoto M., Takahashi S. Transgenic Overexpression of GATA-3 in T Lymphocytes Improves Autoimmune Glomerulonephritis in BXSB/MpJ-Yaa Genetic Background Mice. *J. Am Soc Nephrol,* 14:2494-2502, 2003
 17. Shibuya K., Shirakawa J., Kameyama T., Honda S-I, Tahara-Hanaoka S., Miyamoto A., Onodera M., Sumida T., Nakauchi H., Miyoshi H. and Shibuya A. CD226 (DNAM-1) is involved in LFA-1

costimulatory signal for naive T cell differentiation and proliferation. J Exp Med 198:1829-1839, 2003

18. Tahara-Hanaoka S., Shibuya K., Onoda Y., Zhang H., Yamazaki S., Miyamoto A., Honda S-I, Lanier LL., Shibuya A. Functional characterization of DNAM-1 (CD226) interaction with its ligands PVR (CD155) and Nectin-2 (PRR-2/CD112). Int Immunol, in press

和文総説

19. 渋谷 彰 IgM に対する免疫グロブリン受容体の発見 細胞工学 20:24-25, 2001
20. 渋谷 彰 IgM, IgA に対する免疫グロブリン受容体 感染、炎症、免疫 31:65, 2001
21. 渋谷 彰 NK 細胞とNKT 細胞レセプターと機能、序. 炎症と免疫 9:499-500, 2001
22. 渋谷 彰 NK 細胞機能と病態 Ann Review 免疫 2002 76-82, 2001
23. 四本克己、大越 靖、渋谷 彰 骨髄球系細胞の活性化制御を担う新しい paired receptor; MAIR 免疫 2003 (Molecular medicine)14-20, 2002
24. 本多伸一郎、渋谷 彰 IgM および IgA Fc 受容体の発現と機能 Ann Review 免疫 2003 1-8, 2002
25. 四本克己、渋谷 彰 新しい正と負の自然免疫制御レセプターMAIR ファミリー。蛋白質 核酸 酵素 47: 2123-2126, 2002
26. 大越 靖、渋谷 彰 KIR. 分子細胞治療. 2:105-106, 2003
27. 大越 靖、四本克己、渋谷 彰 MAIR ファミリー分子と正と負の自然免疫制御 Ann Review 免疫 2004 93-102, 2003
28. 渋谷和子、三好浩之、渋谷 彰 レンチウイルスベクターを用いた静止期免疫細胞への安定的遺伝子導入法とその応用 細胞工学 22:1232-1239, 2003

口頭発表

海外 6 件

国内 34 件

招待講演

国際会議・シンポジウム等 5 件

国内会議・シンポジウム等 5 件