

3. 細胞内シグナル伝達とアレルギー性疾患

久保 允人*

花粉症を代表とする I 型アレルギー性疾患の発症には、IL-4、IL-5、IL-13 など IgE の産生や好酸球の分化・増殖に関わるサイトカインが深く関与しており、アレルギー特異的に起こる免疫反応においてこれらサイトカインを産生する Th2 細胞の存在は、病態の形成に重要な意味がある。

この Th2 細胞はナイーブ T 細胞より分化してくる機能型 T 細胞の一つであり、この分化過程は T 細胞抗原認識レセプター (TCR) と IL-4 レセプター (R) を介する細胞内シグナル伝達系が協調的に働くことによって制御されている。この 2 つのシグナル伝達系は、Th2 分化のマスター遺伝子として働く転写因子、GATA-3 の発現を制御することにより分化の方向性を決定している。誘導された GATA-3 は、IL-4、IL-5、IL-13 など Th2 が産生するサイトカイン遺伝子が集中する遺伝子座に対しクロマチンレベルで構造変化を引き起こし、T 細胞がこれらサイトカインを産生できる状態に分化させると考えられている。ところが、T 細胞が Th2 に分化するためには GATA-3 が発現しているだけでは不十分であり、そこには時間的拘束性が存在している。すなわち、TCR シグナル導入後、非常に限局した時間軸で GATA-3 が発現した場合にのみ Th2 分化は起こってくるのである。

機能型 T 細胞の分化制御はこのような時間的拘束性に加え、サイトカインネットワークによってさらに厳密に制御されている。従来から Th1 と Th2 分化は相互が産生するサイトカインによって抑制的に制御されることが知られている。その抑制的制御には、サイトカイン抑制シグナル分子 Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS) が関与していることが分かってきている。SOCS5 と SOCS3 は、IL-4 と IL-12、依存的に誘導されるシグナル伝達系を抑制することによりそれぞれ Th2 と Th1 分化を抑制し、アレルギー炎症に対し SOCS5 は沈静化に、SOCS3 は増悪に働くことが明らかにされてきている。よって、これらの分子は症状を知るうえでのマーカーになるだけでなく、疾患治療の有望な分子ターゲットとなることが予想された。そこで、治療のための分子ターゲットとしての可能性について実験例をあげてご紹介していく。

Cytokine signaling and allergic diseases

MASATO KUBO Laboratory for Signal Network, RIKEN Research Center for Allergy and Immunology, RIKEN Yokohama Institute



* 久保 ますと：理化学研究所横浜研究所免疫・アレルギー科学総合研究センターシグナルネットワーク研究チームリーダー。昭和59年東京農業大学農学博士前期課程修了。平成10年東京理科大学生命科学研究科講師。平成12年同助教授。平成15年現職。主研究領域／アレルギー発症の機序。サイトカインの転写制御。サイトカインシグナル。

Key words

Th1/ Th2
サイトカインシグナル
インターロイキン 4
(IL-4)
喘息

はじめに

マウスにおいて末梢の機能型ヘルパー T 細胞は、産生するサイトカインによって I 型ヘルパー T 細胞(Th1)、II 型ヘルパー T 細胞(Th2)に分類される。これら T 細胞は産生するサイトカインの違いを反映して、免疫反応において異なる機能を有し、感染防御や免疫性疾患において重要な働きを持つことが明らかにされている。ヒトの場合でもマウスほど明確ではないが、類似した T 細胞サブセットが存在することが明らかにされており、疾患との深い関連性が数多く報告されている。Th1 細胞は T 細胞の増殖を制御するサイトカイン IL (インターロイキン)2 や炎症反応を制御するインターフェロン γ (IFN- γ)、リンホトキシン(TNF- β)などのサイトカインを産生する。これに対し、Th2 細胞は B 細胞からの抗体産生制御に関するサイトカイン IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13 など を産生する。これらサイトカインは IgE の産生や

好酸球の分化・増殖を制御に関与することから、花粉症を代表とする I 型アレルギー性病態の形成に重要な意味を持っている¹⁾。

Th2 細胞への分化を制御するシグナル伝達系には、T 細胞抗原認識レセプター(TCR)と IL-4 受容体を介する細胞内シグナル伝達系が存在している。この 2 つのシグナル伝達系は、両者が協調することにより分化の方向性を決定する。IL-12, IFN- γ あるいは IL-4 は、それぞれ Th1 および Th2 分化の方向を決定するうえで重要な働きを持つサイトカインであり、それぞれ分化の方向性を制御する転写因子 T-bet と GATA-3 の発現を誘導して分化の方向性を決定すると考えられている^{2,3)} (図 1)。

機能型 T 細胞の分化制御はサイトカインネットワークによってさらに厳密に制御されており、健全体では Th1 と Th2 はお互いが平衡を保つために、お互いが出すサイトカインによりお互いを抑制的に制御している。すなわち、Th1 細胞が産生する IFN- γ は Th2 細胞

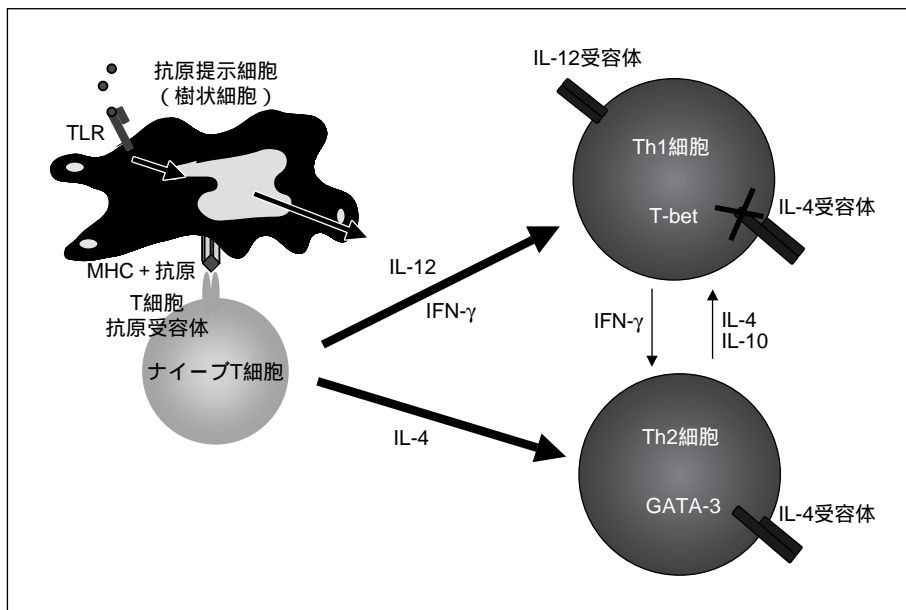


図 1 Th1 と Th2 の分化

の分化を抑制する働きがあり、一方 Th2 細胞より産生される IL-4 や IL-10 はマクロファージや T 細胞に働くことにより、Th1 細胞の分化を抑制して、お互いのバランスを制御している(図 1)。その抑制的制御には、サイトカイン抑制シグナル分子 Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS) が関与していることが分かってきており^{4,5)}、本稿では SOCS 分子のアレルギー治療のための分子ターゲットとしての可能性についてご紹介していく。

1. T 細胞抗原受容体と IL-4 受容体からのシグナルによる Th2 分化の制御

ナイーブ T 細胞が Th2 細胞へと分化していく過程に働く T 細胞抗原受容体と IL-4 受容体からのシグナルを乖離させた系を構築する目的で、IL-4 受容体欠損マウスにヒト IL-4

受容体を発現させた遺伝子改変マウスを作製した。ヒト IL-4 はマウス IL-4 と交差反応を持たないことから、ヒト IL-4 を使うことにより、この 2 つのシグナル伝達系を乖離させた状態で IL-4 シグナルを導入する時間帯を調節しうる実験システムを構築した。その結果、もっとも効率よく Th2 分化を誘導するには、T 細胞抗原受容体の活性化によって引き起こされる初期活性化を起点として、48 時間以内に IL-4 シグナルが導入される必要があった(図 2)。GATA-3 の発現は IL-4 シグナルによって制御されているが、この GATA-3 の発現は Th2 分化においては絶対必要条件ではなく、的確な時間帯で GATA-3 が発現することが、効率よく Th2 分化を起こすためには重要であることが明らかにされた⁶⁾。

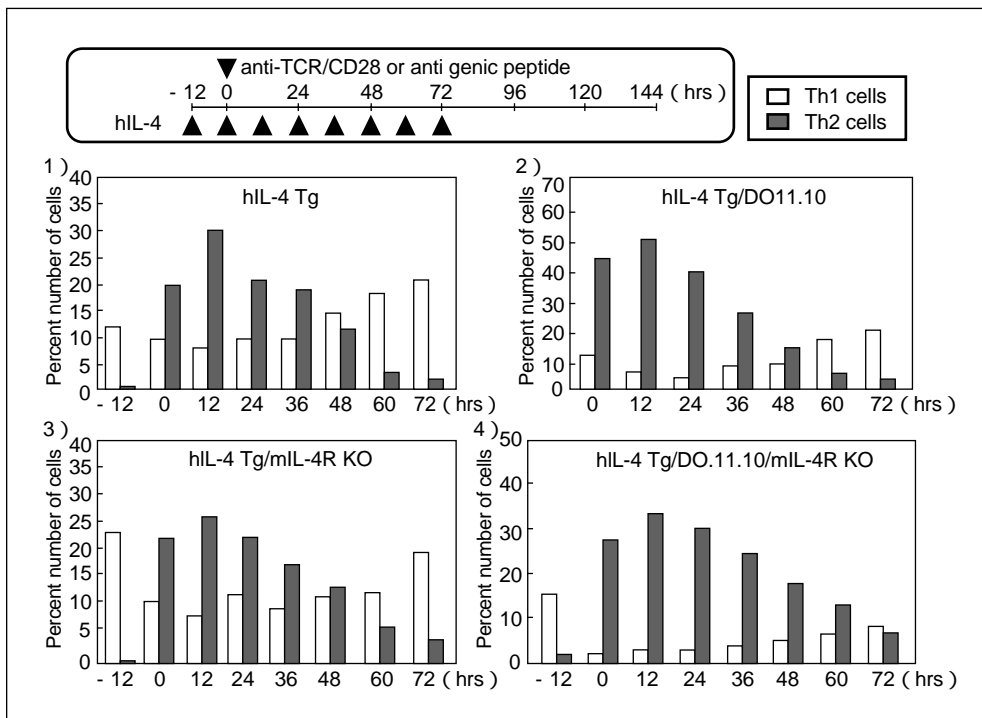


図 2 Th2 分化に必要とされる IL-4 シグナルの時間拘束性

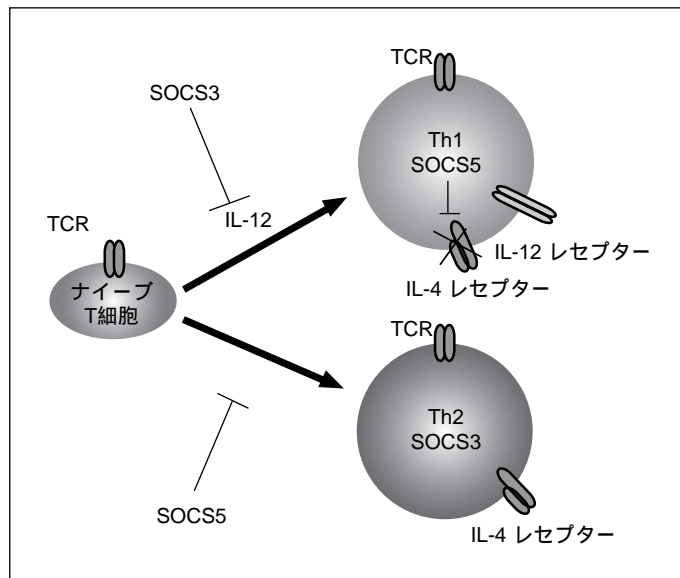


図3 SOCS分子によるヘルパーT細胞分化制御機構

2. SOCSによるアレルギー疾患制御

近年、われわれはサイトカインシグナルを抑制的に制御しているSOCS (Suppressor of Cytokine Signaling) ファミリー分子が、Th1及びTh2分化過程において重要な働きを持つことを明らかにした。この分子はサイトカインにより誘導されるSH2蛋白質群であり、ファミリーを形成して、SH2を介してキナーゼや受容体に結合してサイトカインシグナルを抑制的に調節している^{7,8)}。Th1及びTh2細胞において、SOCS5はIL-4依存的に起こるSTAT (Signals transducers and activators of transcription) 6の活性化を⁹⁾、SOCS3はIL-12依存的に起こるSTAT4の活性化に抑制的に働くことにより¹⁰⁾、Th1あるいはTh2分化をそれぞれ促進していた。SOCSファミリーの中のSOCS5とSOCS3は、分化誘導に必要なサイトカインIL-12とIL-4によって発現がそれぞれ制御され⁹⁻¹¹⁾、これによってヘルパーT細胞の分化の方向性を変化させ、ひ

いては抗原刺激によって誘導された免疫応答全体のサイトカインバランスを修飾している(図3)。そこで、アトピー性皮膚炎および喘息患者におけるSOCSファミリー分子の発現を解析することにより、ヒトにおけるアレルギー性疾患とSOCS分子の発現との関係を検討したところ、SOCS3の発現がアトピー性皮膚炎および喘息の病態の重度と高い相関性を持つことが明らかとなった¹⁰⁾。そこで、これらSOCS5とSOCS3分子の遺伝子改変マウスを用い、アレルギー性疾患発症モデルにおけるこれら分子の役割を遺伝子改変マウスにて解析した。

Lck-eμ-SOCS5 Tgマウスは、これまでの*in vitro*の解析ではTh2反応が抑制されることが示されていたが、喘息モデルの系では予想に反してコントロールマウスに比べ気道内圧の亢進がみられた。また、肺への好酸球・好中球・リンパ球などの浸潤、OVA (卵白アルブミン) 特異的IgE抗体の産生でもコントロール群と差はみられなかった。

Lck-eμ-SOCS3 Tgマウスは、これまでの*in*

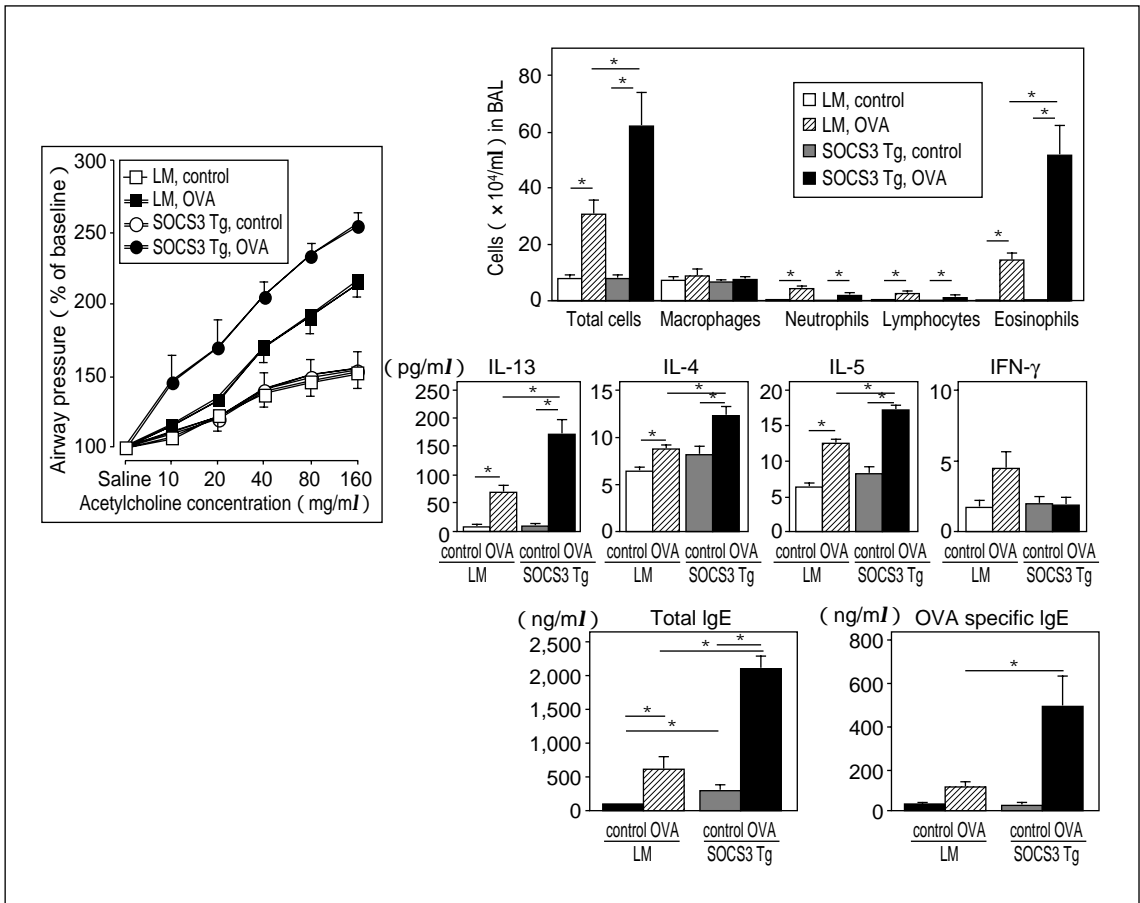


図4 T細胞特異的にSOCS3を発現させたトランスジェニックマウスにおけるOVA特異的気道過敏反応の亢進

in vitro の解析から顕著な Th2 反応の亢進が示されており、喘息モデルの系でもこれをよく反映して、コントロールマウスに比べ顕著な気道内圧の亢進がみられた。また、これに伴い肺への好酸球の浸潤、IL-4、IL-5、IL-13 などの Th2 サイトカインの顕著な産生亢進、血中における全 IgE 抗体価および抗原特異的に反応する IgE 抗体価の上昇が観察された (図 4)。

次に、SOCS3 の発現が正常の半分以下である SOCS3 ヘテロ接合体 (SOCS3 + / -)マウスを用い、T 細胞特異的に SOCS3 の発現を欠失させた SOCS3 f / fXlck-Cre における OVA 誘

導性気道性過敏反応を検討した。これらマウスの OVA 誘導性気道性過敏反応は、コントロールマウスに比べ優位に抑制傾向にあった。肺への好酸球の浸潤、Th2 サイトカイン、IgE 抗体価など、いずれもコントロールに比べ顕著に抑制傾向にあった。ところが、これに対してマクロファージ特異的に SOCS3 の発現を欠失させた SOCS3f / fXlysM-Cre マウスでは、気道過敏反応の抑制は認められず、肺への好酸球の浸潤、Th2 サイトカイン、IgE 抗体価などもコントロールマウス (SOCS3 + / + XlysM-Cre) と比べ大きな変化は認められなかった。次に、Dominant Negative

として働くことが予想される変異型 SOCS 3 F25A 分子を T 細胞特異的に発現させた Lck- μ -SOCS3 F25A Tg において同様の解析を行ったところ, OVA 特異的に誘導される気道過敏反応は, コントロールマウス以下まで抑制されていた.

T 細胞における恒常的 SOCS3 の発現は, OVA 誘導性の気道性過敏反応を亢進する働きがあり, T 細胞における SOCS3 の発現や働きを抑制することにより, その病態を軽減することが可能となる. これに対して, *in vitro* の解析において Th2 反応を抑制する働きを示した SOCS5 を T 細胞特異的に高発現させた Tg マウスでは, 病態の改善は全く認められなかった. 以上のことは, T 細胞における SOCS3 の発現は喘息症状と密接なつながりがあることを強く示唆するものであった. このことから, 喘息病態において SOCS3 の発現や機能を抑制することは, その病態をコントロールするうえで有用な手段となりうると考えられ, Dominant Negative 型 SOCS3 を発現したマウスの結果はこれを裏づけることとなった.

[文献]

- 1) Wills-Karp M : Immunologic basis of antigen-induced airway hyperresponsiveness. *Annu Rev Immunol* 1999 ; 17 : 255 281.
- 2) Murphy KM, Ouyang W, Farrar JD, *et al* : Signaling and transcription in T helper development. *Annu Rev Immunol* 2000 ; 18 : 451 494.
- 3) Murphy KM, Reiner SL : The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol* 2002 ; 2 : 933 944.
- 4) Kubo M, Hanada T, Yoshimura A : Suppressors of cytokine signaling and immunity. *Nat Immunol* 2003 ; 4 : 1169 1176.
- 5) Inoue H, Kubo M : SOCS protein in T helper cell differentiation : implication for allergic disorder. *Expert Rev Mol Med* 2004 (in press)
- 6) Seki N, Miyazaki M, Suzuki W, *et al* : IL-4-induced GATA-3 expression is a time-restricted instruction switch for Th2 cell differentiation. *J Immunol* 2004 ; 172 : 6158 6166.

- 7) Alexander WS : Suppressors of cytokine signalling (SOCS) in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002 ; 2 : 410 416.
- 8) Yasukawa H, Sasaki A, Yoshimura A : Negative regulation of cytokine signaling pathways. *Annu Rev Immunol* 2000 ; 18 : 143 164.
- 9) Seki Y, Hayashi K, Matsumoto A, *et al* : Expression of the suppressor of cytokine signaling-5 (SOCS5) negatively regulates IL-4-dependent STAT6 activation and Th2 differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 13003 13008.
- 10) Seki Y, Inoue H, Nagata N, *et al* : SOCS-3 regulates onset and maintenance of T (H) 2-mediated allergic responses. *Nat Med* 2003 ; 9 : 1047 1054.
- 11) Egwuagu CE, Yu CR, Zhang M, *et al* : Suppressors of cytokine signaling proteins are differentially expressed in Th1 and Th2 cells : implications for Th cell lineage commitment and maintenance. *J Immunol* 2002 ; 168 : 3181 3187.

質 疑 応 答

座長(山本) どうもありがとうございます。
た。

佐野公仁夫(東北大) IL-4 のシグナルが遅れると, Th1 に向かうのでしたね. そうすると, デフォルトが Th1 かと思うのですが, 私たちの実験系で, BALB/c を使うと, 何もサイトカインを入れないと Th2 に向きやすいという経験があります. これはどのように考えればよろしいのでしょうか.

久保 一つの考え方は, initial な IL-4 の supply が BALB/c で高い, そのためにデフォルトでみると Th2 に傾いているように考えます.

善本知広(兵庫医大) 先生のお話では, SOCS3 は IL-4 によって発現が増強するということでした. たとえば total IgE が, 喘息の患者さんと AD の患者さんで SOCS3 が相関するというのは, 単に結果とは考えられませんか.

久保 結果とも考えられますし, 私たちがみているのは, そういう患者さんで Th2 が蓄

積していた結果だと思えます。

善本 SOCS3 の過剰発現したマウス由来の T 細胞を抗原と IL-4 で刺激するとき、そのような T 細胞は Th2 に分化できるのでしょうか。SOCS3 を欠損した T 細胞は Th2 に分化できますか。

久保 SOCS は、おそらく非常に微妙なバランスはコントロールできると思うのです。ただ過剰な状況、たとえば私たちが分化依存

系で IL-4 を入れたり、IL-12 を入れたりというような状態をつくってしまうと、SOCS3 の働きはほとんどキャンセルされてしまうので、隠れてしまうと思います。ですからデフォルトの条件ではみられますが、過酷な条件、過剰な条件ではまずみえないと思います。

座長 非常に面白い分野で、これから創薬の面でも興味のあるところですね。どうもありがとうございました。