

## 免疫系における T 細胞抗原認識および免疫制御機構の分子生物学的解明

Washington University School of Medicine and Howard Hughes Medical Institute 研究員 伊 勢 渉

免疫系は生体内に侵入してきた病原体を「生体にとって危険なもの」と認識することによりこれを排除しようとする。一方「生体にとって安全なもの」を認識した場合にはそれに反応しない仕組みも備えており、免疫寛容として知られている。自身の生体（自己）、食品タンパク質には通常免疫応答は作動しないが、時として過剰な免疫反応が起きる場合があり、自己免疫疾患や食品アレルギーがその例である。免疫系の細胞の中でも抗原タンパク質の認識に関わる代表的な細胞が T 細胞である。T 細胞はその表面に抗原レセプターを発現し、抗原提示細胞によって提示された抗原タンパク質由来のペプチド断片を認識すると活性化され、サイトカインなどの液性因子を分泌したり細胞表面分子を介して他の免疫細胞を活性化する。つまり免疫応答の方向付け（アレルギーを誘導する、あるいは抑制する、応答しないなど）は T 細胞が抗原を認識する際に決定されるとも言える。筆者らは T 細胞の抗原認識とそれに伴う T 細胞の活性化、およびその抑制の分子機構に興味を持ち研究を進め、いくつかの新しい知見を得ることができた。以下にその概要を紹介する。

### 1. 抗原構造・量の違いが抗原未感作 T 細胞応答に与える影響の解明

生体に侵入し免疫系の認識の対象となるすべての抗原タンパク質がアレルギーを引き起こすわけではない。抗原タンパク質の特徴（構造や量の違い）と免疫応答の質の関係についてはこれまで明らかにされていなかった。そこで筆者らは単純な実験系を用いてこの問題にアプローチした。卵アレルギーである卵白アルブミン（OVA）に特異的な T 細胞レセプター（TCR）を発現するトランスジェニックマウスを用いて、抗原のアミノ酸置換により生じる構造の違いや抗原量の違いが T 細胞応答に与える影響について検討した。抗原と接していない T 細胞（抗原未感作 T 細胞）は抗原の構造・量の違いに応じて異なるサイトカイン産生パターンや転写因子発現パターンを示すことが明らかとなった。低親和性の変異ペプチドや低濃度の抗原ペプチドは T 細胞から IL-4 産生を誘導した。つまりアレルギー誘導に関与する Th2 タイプのサイトカイン産生が優位な応答を誘導した。一方、高親和性のペプチドや高濃度の抗原ペプチドは逆に強い IFN- $\gamma$  産生を誘導した。つまりアレルギー反応

を抑制する Th1 サイトカイン産生を誘導した（図 1）。サイトカイン産生のパターンと Gata-3 や c-maf などの Th1/Th2 サイトカインの転写に重要な転写因子の発現パターンが関連することも明らかにした。このことから抗原と接していない T 細胞応答は抗原のわずかな違いを認識して異なる機能を発揮すること、またそれによりその後の免疫反応の方向づけがなされることが示唆された。この結果はアレルギー特異的な T 細胞が認識する抗原を人為的に修飾することによって免疫応答の制御が可能であることも示唆する。[Ise *et al.*: *FEBS Lett.*, **465**, 28-33 (2000); Ise *et al.*: *J. Immunol.*, **168**, 3242-3250 (2002)].

### 2. 経口免疫寛容を誘導された T 細胞のシグナル伝達機構の解明

抗原の経口投与によって全身性の抗原特異的な免疫抑制状態が誘導される。これは経口免疫寛容として知られており、食物に対する過剰な免疫応答を防ぐための機構の一つであると考えられている。またこの機構を用いて食物アレルギーの治療に役立てることも期待されている。経口免疫寛容においては抗原特異的な T 細胞の応答が抑制状態にあることが明らかにされていたが、その分子機構については明らかにされていなかった。そこで筆者らは抗原の経口投与により誘導される低応答化した T 細胞の TCR シグナル伝達について解析を行った。すなわち OVA 特異的な TCR トランスジェニックマウスに OVA を経口的に投与し、経口免疫寛容を誘導した。その後 OVA 特異的な T 細胞を精製し、TCR を介して誘導されるシグナル伝達について検討した。経口免疫寛容状態にある T 細胞ではシグナル伝達経路のうちの一つ（MAPK 経路）は正常に活性化されるのに対し、もう一つの経路（Ca<sup>2+</sup>-NFAT 経路）が活性化されないことをまず明らかにした。このような不完全な TCR シグナルが生じる原因は T 細胞と抗原提示細胞の相互作用にあるのではないかと考えて、抗原提示細胞との接触について検討を行った。その結果、経口免疫寛容 T 細胞は抗原提示細胞と正常に接触、相互作用することはできるが、その接触面に TCR や PKC- $\theta$  などのシグナル伝達分子を集積できないことが判明した。このことから経口免疫寛容 T 細胞は“免疫シナプス”の形成に障害があることが明らかとなり、これが T 細胞応答の抑

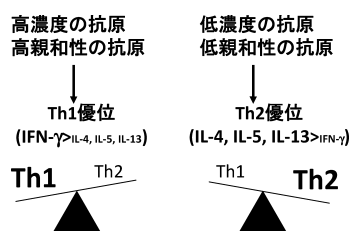


図 1

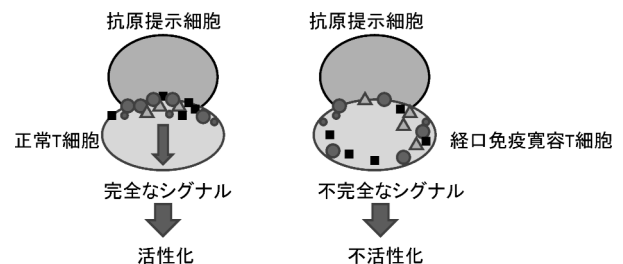


図 2

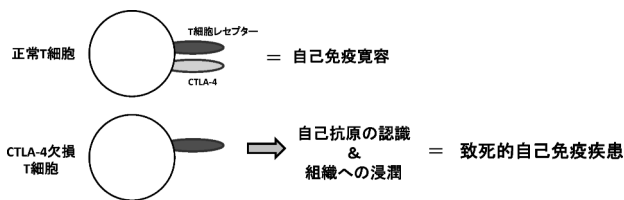


図 3

制を担う要因であることが示唆された (図 2). [Asai *et al.*: *J. Immunol.*, **169**, 4723-4731 (2002); Kaji *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **278**, 27836-27843 (2003); Ise *et al.*: *J. Immunol.*, **175**, 829-838 (2005)].

### 3. 免疫制御に必須な分子 (CTLA-4) を欠損したマウスを用いた T 細胞の抗原特異性と免疫寛容制御の解明

次に筆者は自己免疫寛容の維持に重要な分子に着目した研究を行った. CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4) は活性化 T 細胞上に発現する分子で, T 細胞応答を負に制御する分子である. CTLA-4 欠損マウスは lymph proliferative disease により生後 1 カ月以内に死亡することからこの分子が免疫寛容の維持に必須な分子であることが明らかである. 抗 CTLA-4 を用いた抗腫瘍療法が臨床の場でも行われており, CTLA-4 の免疫抑制の機能を十分に理解することは重要である.

CTLA-4 欠損マウスにおいては異常な T 細胞の増殖・活性化および非免疫組織への浸潤が認められる. しかし CTLA-4 欠損マウスにおいて観察される異常な T 細胞の活性化が自己抗原を認識した結果起こるのか, それとも抗原非依存的に起こるのかについては明らかにされていなかった. 筆者はまずこの

非免疫組織への T 細胞の浸潤の機構を解析し, 組織への T 細胞の浸潤は組織特異的な抗原の認識の結果起こることを示した. また組織に浸潤する T 細胞から TCR cDNA ライブラリーを作製し自己抗原の探索を行った. その結果脾臓に浸潤する CTLA-4 欠損 T 細胞の認識する自己抗原の一つ (Pdia2) を世界で初めて同定することに成功した (図 3). CTLA-4 欠損 Pdia2 特異的 T 細胞は脾臓に浸潤し重篤な脾炎を誘導したことから *in vivo* における病因が確認された. さらにこの Pdia2 特異的 T 細胞により誘導される脾炎は, エフェクター T 細胞 (Pdia2 特異的 T 細胞) あるいは CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 制御性 T 細胞のどちらかに CTLA-4 が発現していると抑制された. すなわち CTLA-4 は cell-intrinsic あるいは cell-extrinsic な機構により自己免疫寛容を維持することが明らかになった [Ise *et al.*: *Nature Immunol.*, **11**(2), 129-135 (2010)].

本研究は筆者が東京大学大学院農学生命科学研究科に大学院生として在籍したときに開始したものです. 本奨励賞にご推薦くださり, 本研究をご支援くださいました東京大学大学院農学生命科学研究科の清水 誠先生に心より御礼申し上げます. 筆者を研究の世界へと導いてくださり今日まで常にご指導くださいました日本大学生物資源科学部の上野川修一先生に深く感謝いたします. 本研究の立案, 遂行にあたり, 多くのご助言をいただきました東京大学の戸塚 護先生, 八村敏志先生に深く感謝いたします. アメリカでの研究を熱くサポートしてくださいました Washington University ならびに Howard Hughes Medical Institute の Kenneth Murphy 先生に感謝いたします. 本研究は東京大学ならびに Washington University の多くの共同研究者のご協力なくしては成り立ちませんでした. この場を借りて厚く御礼申し上げます.