

研究課題名：『サイトカイン機能不全の分子機構と遺伝子治療』  
研究代表者：菅村 和夫

「サイトカイン機能異常と免疫疾患」  
東北大学医学研究科免疫学分野 菅村 和夫

1. OX40L-KO マウスにおける抗原提示機能障害と OX40L-Tg マウスにおける自己免疫様病変

TNF ファミリー分子の1つである OX40 リガンド (OX40L) は、今日、T細胞-抗原提示細胞 (APC) 間の副刺激に関わるサイトカインとして注目されている。OX40L 遺伝子は我々が HTLV-I-Tax の転写標的遺伝子として同定単離した *gp34* である。我々は、OX40L 欠損 (OX40L-KO) マウスが APC 機能不全を示すこと、また、OX40L トランスジェニック (OX40L-Tg) マウスが免疫寛容機構の破綻を伴い、自己免疫様病変を示すことを明らかにした。

OX40 は活性化T細胞上に一過性に発現し、抗原提示細胞 (APC) 上に発現する OX40L と結合することにより、T細胞に副刺激を与える。我々は OX40L-KO マウスを樹立することにより、OX40L が T細胞-APC 相互作用を介して CD4 陽性T細胞の活性化および CD4 陽性記憶T細胞産生に重要な機能を有することを明らかにした。また、我々はT細胞上に OX40L を恒常的に発現する OX40L-Tg マウスを樹立した。同マウスにおいて CD4 陽性記憶T細胞の機能が著しく亢進しており、さらに可溶性蛋白抗原投与により野生型マウスで誘導される免疫寛容が OX40L-Tg マウスでは全く誘導できないことが分かった。これら OX40L 遺伝子改変マウスにおいて実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の誘導を試みたところ、OX40L-KO マウスでは発症が抑制され、OX40L-Tg マウスでは重症化した。さらに、最近、OX40L-Tg マウスが自己免疫機序と考えられる間質性肺炎と炎症性腸疾患を自然発症することが分かった。以上の結果より、OX40L - OX40 系が T細胞-APC 相互作用に関与する重要な免疫制御系であり、それらの異常が免疫疾患に関わることが明らかになった。

2. STAM1、STAM2 ダブル欠損マウスにおけるT細胞障害

免疫系細胞、中でもT細胞の発生・分化・増殖・活性化が障害されると重症複合免疫不全症 (SCID) が発症する。サイトカイン共通受容体「 $\gamma$ c 鎖」は、T細胞を始めとする種々のリンパ球の発生・分化・増殖に必須なサイトカインの受容体サブユニットであり、X連鎖 SCID の原因遺伝子として知られている。我々は  $\gamma$ c 鎖/Jak3 チロシンキナーゼを介するシグナル伝達経路を解析中で、複数の新規分子 (STAM1、STAM2、Hgs/Hrs、AMSH、AMSH-LP、Grf40/Gads) を単離した。これら分子の中で、STAM1、2 および Grf40/Gads が T細胞の分化・成熟・生存において重要な役割を担っていることを明らかにした。

STAM1、STAM2 は共に IL-2 を始めとする種々のサイトカイン、増殖因子、TCR

刺激によって、チロシンリン酸化を受けると共に、Jak3 ならびに Jak2 に直接会合する分子である。いずれも分子内に SH3 領域、ITAM、VPS ドメイン、NPF モチーフ、UIM (ユビキチン会合モチーフ) を有している。我々は、STAM1、STAM2 の *in vivo* での機能を解析するために、それぞれの遺伝子欠損マウスを樹立した。STAM1 欠損マウスは正常に出生するものの発育障害を認め、24 週齢までに全例死亡した。T 細胞、B 細胞等の分化・成熟に異常は認められず、また、T 細胞の IL-2 ならびに抗原刺激に対する増殖反応も正常であった。しかし、病理組織学的解析の結果、大脳海馬 CA3 領域の錐体細胞層の脱落が認められた。さらに、STAM1 欠損初代培養神経細胞において、神経細胞死の感受性が亢進していた。STAM1 は神経系において重要な機能を担う分子であり、特に海馬 CA3 錐体細胞の生存・維持に必須の分子であることが示唆された。他方、STAM2<sup>-/-</sup>マウスは正常に出生し、表現型において野生型マウスと明らかな差異は示さなかった。STAM1<sup>-/-</sup>STAM2<sup>-/-</sup> マウスは胎生 8.5 日以降の発生が遅れ、胎生 11 日目にすべて死亡した。STAM1<sup>-/-</sup>STAM2<sup>-/-</sup>マウスは胎生 8.5 日で起こる体軸の回転が起こらず、腹側形態形成の異常が認められた。以上の表現型から STAM ファミリー分子も腹側形態形成に必須であることが解った。

さらに、T 細胞における STAM ファミリー分子の役割を明らかにするために Cre/loxP システムを利用し T 細胞特異的 STAM1<sup>-/-</sup>STAM2<sup>-/-</sup> マウスを樹立した。この欠損マウスにおいて、胸腺細胞数、特に、single positive 胸腺細胞数の有意な減少と末梢 T 細胞の著明な減少を認めた。また、T 細胞受容体刺激及び IL-2、IL-7 に対する胸腺細胞の増殖反応が著しく低下していた。このことから、STAM ファミリー分子は T 細胞の分化・成熟・生存において重要な役割を担っていることが示唆された。

## 「サイトカインによる血球の発生・増殖・分化の制御」

東京大学分子細胞生物学研究所 宮島 篤

全ての血液細胞は成人の骨髄中に存在する造血幹細胞に由来する。しかし、個体の発生過程では、まず卵黄嚢での胎児型赤血球とマクロファージの産生を中心とした一次造血に始まり、成体型赤血球、リンパ球、顆粒球、マクロファージなどの成体型血液細胞とそれらを産生する長期造血再構成能をもつ成体型造血幹細胞は胎児内の大動脈/生殖隆起/中腎 (AGM: Aorta/Gonad/Mesonephros) 領域で発生する。胎生中期に前腸から形成された肝臓は、血液細胞を受け入れ、骨髄での造血が開始される出生時期まで最も主要な造血器官として機能する。一方、胎生肝臓には成体肝臓のもつ種々の代謝機能がなく、造血器官として機能しながら、代謝器官へと変化する。すなわち胎生後期から出生時にかけて、肝臓は機能的に大きく変化を遂げる。

我々はマウス AGM 細胞の初代培養系を確立し、IL-6 ファミリーのサイトカインであるオンコスタチン M (OSM) が血球産生および血管内皮細胞の増殖を促進することをみいだした。血球と血管内皮細胞とが共通の前駆細胞 (hemangioblast) に由来する