

T 細胞補助刺激レセプターが構築する分子複合体と自己免疫疾患制御

宗 孝紀

東北大学大学院医学系研究科 病理病態学講座 免疫学分野

【研究の背景】

OX40 による補助刺激シグナルは、過剰になることで様々な炎症性・自己免疫疾患の増悪因子となる。申請者は、OX40 がシグナル複合体を形成することで NF- κ B や PI3K-PKB 経路を開始する分子機構について研究してきた(文献 1、2)。この過程で、IQGAP1 と呼ばれる足場タンパク質が OX40 リガンド(OX40L) の刺激に応じて OX40 と会合することを発見した。OX40 補助刺激シグナルは NFAT 活性化に関与するが(文献 3)、この結合が転写因子 NFAT の活性化に対して抑制的にはたらくことがわかった。

【目 的】

本研究では、OX40 と IQGAP1 の結合がどのような分子間相互作用で生じるかについて、また CD4⁺ T 細胞の活性化における IQGAP1 の機能について、さらに実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)発症における IQGAP1 の役割について明らかにする。

【方 法】

IQGAP1 の欠失変異体を作成し、1,657 アミノ酸からなる IQGAP1 のどの部分を介して OX40 との結合が起こるかを免疫沈降実験により調べる。OX40 は TRAF2 と直接結合できるが、OX40 と IQGAP1 との結合を TRAF2 が媒介するかどうかについて調べる。ナイーブ CD4⁺ T 細胞を野生型あるいは *Iqgap1*^{-/-} C57BL/6 マウスから精製し、*in vitro* で抗 CD3 抗体、抗 CD28 抗体、サイトカインで刺激することで分化させ、再刺激により産生されるサイトカイン量を定量することで Th1、T17 各サブセット細胞への分化能を評価する。野生型あるいは *Iqgap1*^{-/-} マウスから精製した CD4⁺ T 細胞を、放射線照射した野生型 C57BL/6 マウスに養子移入した後、レシピエントマウスに EAE を誘導することで、ドナー T 細胞に発現する IQGAP1 が EAE に及ぼす影響を評価する。

【結 果】

IQGAP1 に関する各種欠失変異体の OX40 への結合能を調べた結果、N 末端を含む IQGAP1 (1-735) でなく、C 末端を含む IQGAP1 (736-1657) にその結合活性を検出した。TRAF2 をノックダウンした T 細胞で OX40 を免疫沈降したところ、IQGAP1 の共沈量が減少したことから、TRAF2 を介して両者の結合が起こることがわかった。IQGAP1 は、TCR シグナルにおける NFAT の活性化を負に制御することがわかっているが(Gorman et al., J Immunol 2012)、OX40 補助刺激シグナルがこれにどう関与するかが良くわかっていない。野生型 CD4⁺ T 細胞において、OX40 補助刺激シグナルの入力により Th1 や Th17 分化が亢進したが、IQGAP1 の欠損によりこれらサブセットへの分化がさらに亢進することがわかった。すなわち、IQGAP1 は OX40 補助刺激シグナルの阻害因子として NFAT 依存的なサイトカイン遺伝子発現の制御に関与することが示唆された。*Iqgap1*^{-/-} ドナー CD4⁺ T 細胞を移入したマウスでは、野生型ドナー CD4⁺ T 細胞を移入したマウスに比較してより増悪した EAE 病態が観察された。以上の結果から、IQGAP1 は CD4⁺ T 細胞内で TCR や OX40 シグナルによる NFAT 依

存的な炎症性サイトカイン産生を抑制し、これにより自己反応性 CD4⁺ T 細胞による疾患病態が制限されることが強く示唆された。

【考 察】

TCR に依存的な IL-2 mRNA の発現は、IQGAP1 の欠損で増強し、N 末端 IQGAP1 (1-735) の遺伝子導入により元のレベルへ回復する (Gorman et al., J Immunol 2012)。すなわち、IQGAP1 (1-735) の部分に TCR-NFAT シグナル依存的な IL-2 転写を抑制する活性が存在する。OX40 へ結合する部位がこの IQGAP1 (1-735) でなく、C 末端の IQGAP1 (736-1657) に存在するという申請者らの結果は、TCR と OX40 が個別の分子機構で NFAT の制御に関与することを示唆する。今後、IQGAP1 (736-1657) の遺伝子導入により OX40 補助刺激シグナルがどう影響を受けるかについて調べる予定である。

CD4⁺ T 細胞に発現する IQGAP1 が、自己反応性 T 細胞の病原性を規定するという結果は、新たな疾患制御機構の存在を示唆する。今後、OX40 シグナルの関与についてさらに検討を進めたい。また、CD4⁺ T 細胞の病原性が IQGAP1 の欠損によりどのように増強するかについて、NFAT の関与のみならず、中枢神経組織への病原性 T 細胞の浸潤が亢進する機構からも検討を進めたい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

OX40 補助刺激シグナルにおける IQGAP1 の制御機構の特異性を明らかにすることにより、自己反応性 T 細胞をターゲットとする新たな薬剤の開発が可能と思われる。

【参考・引用文献】

1. So Takanori, Soroosh Pejman, Eun So-Young, Altman Amnon, Croft Michael・Antigen-independent signalosome of CARMA1, PKCtheta, and TNF receptor-associated factor 2 (TRAF2) determines NF- κ B signaling in T cells・Proc Natl Acad Sci USA・108・2903-2908・2011.
2. So Takanori, Choi Heonsik, Croft Michael・OX40 complexes with phosphoinositide 3-kinase and protein kinase B (PKB) to augment TCR-dependent PKB signaling・J Immunol・186・3547-3555・2011.
3. So Takanori, Song Jianxun, Sugie Katsuji, Altman Amnon, Croft Michael・Signals from OX40 regulate nuclear factor of activated T cells c1 and T cell helper 2 lineage commitment・Proc Natl Acad Sci USA・103・3740-3745・2006.