

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590541

研究課題名（和文） CD28, ICOSを介する補助シグナルとT細胞免疫応答

研究課題名（英文） The co-stimulatory effect of CD28 and ICOS on T cell response

研究代表者

安部 良 (ABE RYO)

東京理科大学・生命科学研究所・教授

研究者番号：20159453

研究成果の概要（和文）：T細胞の活性化や機能発現に非常に重要な役割を果たす補助シグナル分子において、特に活性化を促進するCD28およびICOSの機能的役割について、細胞内領域に変異を導入したトランスジェニックマウスを用いて研究を行った。

研究成果の概要（英文）：In this study, we examined the functional role of CD28 and ICOS-mediated costimulation in T cell responses using mutant CD28 and ICOS transgenic mice.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成21年度	1,400,000	420,000	1,820,000
平成22年度	1,300,000	390,000	1,690,000
平成23年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学、免疫学

キーワード：獲得免疫

1. 研究開始当初の背景

T細胞は免疫応答の制御において中心的な役割を果たしており、T細胞の活性化や分化の違いにより炎症反応の程度やB細胞の機能は大きく影響を受ける。T細胞の活性化・機能発現には抗原特異的なシグナルに加えて、補助シグナル分子を介するシグナルが非常に重要であり、その中でも、CD28ファミリー分子は初期の活性化やサイトカイン産生、エフェクター細胞の機能発現において最も重要である。これまでCD28ファミリー分子の機能解析は精力的に行われてきたが、T細胞株を用いたシグナル伝達経路の解析と、ノックアウトマウスや阻害抗体を用いた生体内の解析とが別々に行われることがほとんどであった。

2. 研究の目的

CD28ファミリー分子を介するシグナル伝達経路の解析と生体内でのT細胞の反応におけるCD28ファミリー分子の役割を同時に解析する方法として、CD28及びICOSの細胞内領域に変異を持つ変異補助シグナル分子を発現するトランスジェニックマウス(Tg)を作製した。のTgマウスを用いて、生体内のT細胞の反応におけるCD28ファミリー分子の役割を細胞内シグナル伝達経路のレベルまで掘り下げて解析することを目的とする。

3. 研究の方法

変異CD28Tg及び変異ICOSTgマウスのT細胞の増殖・サイトカイン産生・アポトーシス

抑制能を検討する。

T細胞を刺激した際の、MAPK, Akt, NF- κ B, NF-AT など細胞内シグナル伝達経路の活性化状況を検討する。これら分子の細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡で測定する。

各変異 CD28Tg 及び変異 ICOSTg マウスを用いて個体レベルの動物モデル実験を行い、補助シグナルの役割を検討する。

4. 研究成果

CD28 及び ICOS は細胞内領域に酵素活性を持っておらず、細胞内領域に様々な分子をリクルートすることによりシグナルを伝達することが明らかとなっている。CD28 細胞内領域の各種変異 Tg マウスの T 細胞を抗 CD28 抗体で刺激したところ、YMNМモチーフの Y を F に置換した場合、CD28 のチロシンリン酸化がほとんど見られなくなり、ERK や Akt のリン酸化誘導が減弱した。この結果から CD28 細胞内領域にはチロシン残基は 4 つ存在しているが、YMNМモチーフの Y がチロシンのリン酸化に必須であることが明らかとなった。また、この YF 変異 CD28 を発現する T 細胞は、抗 TCR 抗体と抗 CD28 抗体で刺激した際の増殖や IL-2 産生が野生型 CD28 を発現する T 細胞と比較し減弱することが明らかとなった。一方、Lck が結合し CD28 のチロシンリン酸化に重要であるとされていた C 末側の PxxP モチーフに変異を導入した場合、チロシンのリン酸化には変化が見られなかったものの、T 細胞の増殖や IL-2 産生は減弱した。従って、CD28 の補助シグナルには CD28 のチロシンリン酸化に依存する経路とそうでない経路があることが示唆され、それぞれ、YMNМモチーフと C 末側 PxxP モチーフが重要な役割を果たしていることが示唆された。

CD28 補助シグナルは、T 細胞増殖因子である IL-2 の産生を強力に促進する。一方、ICOS の IL-2 産生誘導能は弱い。そこで ICOS 細胞内領域の機能的モチーフである YMFМモチーフを CD28 が有する YMNМモチーフに置換した、ICOS YMNМ-Tg マウスの T 細胞を TCR と ICOS に刺激をしたところ、CD28 刺激とは異なり、強い IL-2 産生は誘導されなかった。さらに、ICOS 分子の細胞内領域を CD28 の細胞内領域に置換した、ICOS-CD28 chimera-Tg マウスの T 細胞でも強い IL-2 産生は誘導されなかった。以上から、CD28 の強い IL-2 産生誘導能には、細胞内領域のみならず、細胞膜貫通領域や細胞外領域も関与している可能性が示唆された。

変異 CD28 を発現する Tg マウスをドナーとし、急性 GVH 病の動物モデルを誘導したところ、WT CD28 を発現するマウス以外は急性 GVH 病が発症しなかったことから、CD28 細胞内領域の変異を導入したいずれのモチーフも急性 GVH 病の誘導に重要であ

ることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

Watanabe M, Nakajima S, Kazunobu O, Ogawa S, Yamashita M, Nakayama T, Murakami Y, Tanabe K, Abe R.

The transcription factor AP-1 is involved in ICOS gene expression downstream of TCR/CD28 signaling and cytokine receptor signaling. 査読有

Eur J Immunol. 2012 May 14. doi: 10.1002/eji.201141897.

Iida S, Omoto K, Kanemitsu I, Setoguchi K, Ishida H, Tanabe K, Suzuki T, Tashiro Y, Kishimoto H, Abe R

Amelioration of cardiac allograft deterioration by interleukin-6 receptor signaling disruption in mice. 査読有
Experimental and Clinical transplantation, 2012, accepted

Yamano T, Watanabe S, Hasegawa H, Suzuki T, Abe R, Tahara H, Nitta T, Ishimaru N, Sprent J, Kishimoto H.

Ex vivo-expanded DCs induce donor-specific central and peripheral tolerance and prolong the acceptance of donor skin grafts. 査読有
Blood. 2011 Mar 3;117(9):2640-8.

Setoguchi K, Kishimoto H, Kobayashi S, Shimmura H, Ishida H, Toki D, Suzuki T, Ohnuki K, Tate Y, Fujioka S, Abe R, Tanabe K.

Potential role of host effector memory CD8+ T cells in marrow rejection after mixed chimerism induction in cynomolgus monkeys. 査読有

Transpl Immunol. 2010 Aug;23(4):194-203.

Watanabe S, Ohnuki K, Hara Y, Ishida Y, Ikarashi Y, Ogawa S, Kishimoto H, Tanabe K, Abe R.

Suppression of Con A-induced hepatitis induction in ICOS-deficient mice. 査読有
Immunol Lett. 2009 Nov 12.

[学会発表] (計 53 件)

Ogawa S., Sakurai Y., Katayama A., Shigeta M., Yoshida N., Horibe C., Gamoh S., Ohtsuka S., Maruyama H., Iida M., Hiruta T., and Abe R. The functional relationship

between CD28 YNM and PxxP motifs in CD28-mediated costimulation. 第40回 日本免疫学会総会 2011年11月27日～11月29日

Ogawa S., Watanabe S., Inutake Y., Sakurai Y., Katayama A., and Abe R. Different requirements for induction of the CD28-mediated signal transduction pathway in naïve vs activated T cells. 14th International Congress of Immunology. 2010年8月23日～8月27日

Ogawa S., Inutake Y., Sakurai Y., Miura Y., Katayama A., Higo K., Watanabe S., Kishimoto H., Abe R. The effect of CD28 mediated costimulation in response of naïve and memory T cells. 第39回日本免疫学会総会 2009年12月2日～12月4日 他

〔図書〕(計1件)

安部 良 監修、大越郷子 著、(株)西東社、免疫力アップジュース、2011

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.rs.noda.sut.ac.jp/~immunol/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安部 良 (ABE RYO)
東京理科大学・生命医科学研究所・教授
研究者番号：20159453

(2) 研究分担者

小川 修平 (OGAWA SHUHEI)
東京理科大学・生命医科学研究所・助教
研究者番号：20385553

(3) 連携研究者

()

研究者番号：