

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19059013

研究課題名（和文）自己識別と活性化制御

研究課題名（英文）Self recognition and regulation of lymphocyte activation

研究代表者

斉藤 隆 (Saito Takashi)

独立行政法人理化学研究所・免疫シグナル研究グループ・グループディレクター

研究者番号：50205655

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：リンパ球活性化、自己認識、トニックシグナル、ミクロクラスター、副刺激、カルシウムシグナル

## 1. 研究計画の概要

免疫系における自己識別・反応性を担うシグナル伝達と制御機構を明らかにするため、T細胞とB細胞における非自己抗原と自己抗原の認識から活性化制御に至るシグナル制御の機構を明らかにすることを旨とし、T細胞ではTCRミクロクラスターの形成制御を中心に、B細胞では生存シグナルに関する分子群の遺伝解析を中心に解析する。

## 2. 研究の進捗状況

### (1) T細胞の活性化制御

①T細胞活性化への自己ペプチドの役割：自己抗原認識のT細胞の活性化への影響を調べるために、外来抗原および数種の自己抗原ペプチドを、I-E $\beta$ 鎖に直接結合させた単一ペプチド・MHC分子をGPI結合型として作製・単離した。これらの単一分子のT細胞による認識・活性化能を解析し、正常に活性のあることが判明した。非自己・自己ペプチドを結合させたMHCを持つplanar膜で解析した結果、アゴニストペプチドで形成されるミクロクラスターには自己ペプチドは共存しなかったが、強アゴニストと弱アゴニストとは同一クラスターに共存した。CD4+T細胞では自己ペプチドがT細胞活性化の制御への関与は否定的で、ミクロクラスターのレベルで自己非自己の識別がされている可能性が示唆された。

② ミクロクラスターと副刺激の解析：T細胞活性化に不可欠なCD28を介する副刺激とTCRミクロクラスターとの動態の関係を解析し、CD28もTCRミクロクラスターに集まりPKC $\theta$ をリクルート会合し、免疫シナプス形成後は、cSMACにCD28-PKC $\theta$ が集結して、副刺激の活性化維持に貢献することが明らかになった。

一方、負の副刺激を担うCTLA-4もこの特異的な場所としてのsignaling cSMACに集積して、リガンド結合を競合してCD28-PKC $\theta$ が集積するのを阻害することが解り、正と負の副刺激の制御がcSMACでダイナミックに行われていることが判明した。

### (2) B細胞の活性化制御

①BCR トニックシグナルの解析：BCRを介するトニックシグナルは末梢Bリンパ球の生存に必須であり、BCRシグナル分子群、PLC $\gamma$ -2, STIM1, Rukの関与を、これらの分子欠損マウスとトニックシグナル供与モデルレセプターLMP2-Tgマウスを交配して調べた。PLC $\gamma$ -2欠損マウスではB細胞分化が初期段階で阻害され、PLC $\gamma$ -2がトニックシグナルに必須であることが判明した。更にPLC $\gamma$ -2の下流として、Ras経路の機能獲得変異によって回復することより、PLC $\gamma$ -2 $\rightarrow$ Rasの経路の重要性が示唆された。

②記憶B細胞の形成維持の解析：免疫反応が進行中にPLC $\gamma$ 2を欠損させると、免疫記憶反応がほとんど消失した。細胞レベルでの詳細な解析より、PLC $\gamma$ 2がメモリーB細胞の産生および、一旦生成されたメモリーB細胞の生体内での維持に重要であることが判明した。

③B細胞分化活性化におけるCaシグナルの役割：STIMは多くの免疫細胞においてカルシウムシグナルの開始に必須の分子と考えられ、事実、STIM1, STIM2両分子をB細胞特異的に欠損させると、BCRシグナルによるCaシグナルはほとんど消失した。当初、CaシグナルはB細胞分化に必須と考えられてきたが、そうではないことが判明した。しかしB細胞におけるCaシグナルは、免疫抑制に重要であることが判明した。

### 3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。  
研究目的としての自己識別・反応性を担うシグナル解析として、T細胞では、活性化における自己ペプチド認識の関与をマイクロクラスターのレベルで解析でき、B細胞では自己認識によるトニックシグナルに関与する分子の遺伝解析に成功した。

### 4. 今後の研究の推進方策

#### (1) T細胞活性化の制御

①自己認識によるT細胞活性化制御:CD4+T細胞と異なり、CD8+細胞では自己ペプチドによる制御が示唆されていることから、OVAペプチド/OT-I CD8+T細胞に系を変えてplanar膜を用いた機能解析を行う。

② in vivoでのT細胞活性化の自己認識シグナル解析として、樹状細胞からのトニックシグナルを解析する。

#### (2) B細胞活性化の制御

研究分担者の黒崎が平成22年度より班より外れたために、B細胞解析は終了する。

### 5. 代表的な研究成果

(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59件)

- (1.) Hikida M, Casola S, Takahashi N, Kaji T, Takemori T, Rajewsky K, Kurosaki T: PLC- $\gamma$ 2 is essential for formation and maintenance of memory B cells. *J. Exp. Med.* 206:681-9, 2009. (査読有)
- (2.) Yamasaki S, Ishikawa E, Sakuma M, Hara H, Ogata K and Saito T: Mincle is an ITAM-coupled activating receptor that senses damaged cells. *Nat. Immunol.* 9: 1179-1188, 2008. (査読有)
- (3.) Yokosuka T, Kobayashi W, Sakata-Sogawa K, Takamatsu M, Hashimoto-Tane A, Dustin ML, Tokunaga M and Saito T: Spatiotemporal regulation of T cell costimulation by TCR-CD28 microclusters through protein kinase C  $\theta$  translocation. *Immunity.* 29: 589-601, 2008. (査読有)

[学会発表] (計85件)

Saito, T. Dynamic regulation of T cell activation through TCR microclusters, 13<sup>th</sup> International Congress of Immunology, 8.21-25, 2007, Rio de Janeiro, Brazil,

[図書] (計2件)

- (1) Kurosaki T, Shinohara H and Baba Y: B cell signaling and fate decision. *Ann. Rev. Immunol.* 28:21-55, 2010
- (2) Yokosuka T and Saito T: The

immunological synapse, TCR microclusters, and T cell activation. In: *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* T. Saito and F. D. Batista (eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 340: 81-107, 2010.

[産業財産権]

○出願状況 (計4件)

名称: 糖鎖認識受容体の新規用途

発明者: 山崎晶、斎藤隆

権利者: (独) 理化学研究所

種類: 特許

番号: 特願 2008-186570

出願年月日: 2008. 7. 17.

国内外の別: 国内、国外

名称: 糖鎖認識受容体の新規用途

発明者: 山崎晶、斎藤隆

権利者: (独) 理化学研究所

種類: 特許

番号: 特願 2008-285948

出願年月日: 2008. 11. 6.

国内外の別: 国内

名称: 肥満細胞の脱顆粒抑制剤

発明者: 黒崎知博、馬場義裕

権利者: (独) 理化学研究所

種類: 特許

番号: 特願 2007-273055

出願年月日: 2007.10.19.

国内外の別: 国内

名称: T細胞受容体機能調節剤及びそのスクリーニング方法

発明者: 黒崎知博、篠原久明

権利者: (独) 理化学研究所

種類: 特許

番号: 特願 2009-053968

出願年月日: 2009.3.6.

国内外の別: 国内

[その他]

- (1) 「炎症もたらす仕組みを解明-理研、米誌に論文」(2008. 9. 8. 日本経済新聞他6紙)
- (2) 「皮膚にすむカビたんぱく質が認識 理研など 炎症治療へ応用も」(2009. 1. 20. 日本経済新聞他3紙)
- (3) (独) 理化学研究所科学講演会「免疫が未来を開拓する。」(2008. 2. 2.)
- (4) 日本免疫学会「免疫ふしぎ未来」「なんでも認識できる免疫のしくみ」(東京, 2009. 5. 2-3.)
- (5) HP:<http://www.rcai.riken.jp/group/signaling/index.html>