

総 説

リンパ球分化の分子制御機構解明へ向けた、20 年間の歩み

近藤 元就

東邦大学医学部免疫学講座教授

要約：筆者の大学院入学時に interleukin 2 receptor gamma (IL-2R γ) 鎖 cDNA がクローニングされた。その後、IL-2R γ 鎖遺伝子異常により、T, natural killer (NK) 細胞欠損を特徴とする先天性免疫不全症、X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID あるいは SCIDX1) が発症することが明らかになった。IL-2R γ 鎖は複数のサイトカイン受容体サブユニットとして共有されていることがこれまでに明らかとなり、現在 common γ (γ_c) 鎖と称されている。 γ_c 鎖ファミリーサイトカインがなぜリンパ球分化に必要であるか、明らかになりつつある。また、T 細胞を形作る転写因子ネットワークの解明に向けた取り組みが盛んに行われている。本稿ではリンパ球分化の分子制御機構解析のこれまでの知見とこれからの取り組みを概説する。

東邦医学会誌 62(1) : 30-34, 2015

索引用語：リンパ球分化, サイトカイン, 転写因子ネットワーク

サイトカインは細胞の増殖, 分化, あるいは細胞死の抑制作用等の生理活性を持つ, 液性因子である。それぞれのサイトカインは固有の受容体に結合し, 細胞内シグナル伝達経路が活性化されることにより生物活性を発揮する。サイトカイン受容体は複数のサブユニットにより構成されるタンパク複合体である。例えば, T 細胞増殖因子として同定されたインターロイキン 2 (interleukin 2 : IL-2) の受容体は α , β , γ 鎖から構成される三量体である¹⁾。サイトカイン受容体サブユニットの多くには, その細胞外ドメインにトリプトファン (tryptophan : W), セリン (serine : S), 任意のアミノ酸 (X) という, いわゆる WS モチーフという特徴的な構造が存在する。IL-2 受容体 (IL-2 receptor : IL-2R) の 3 つ目のサブユニット IL-2R γ 鎖 cDNA のクローニングが 1992 年に報告された後, IL-2R γ 鎖遺伝子は X 遺伝子上の Xq13.1 にマップされることが分かった^{2,3)}。この遺伝子座は T, natural killer (NK) 細胞の欠損を特徴とする X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID あるいは SCIDX1) の責任遺伝子座と一致した。実際, X-SCID 患者の IL-2R γ 鎖に遺伝子変異が見られた³⁾。また, その変異により IL-2R γ 鎖の機能不全の生

じることが明らかになった^{3,4)}。これらのことにより, IL-2R γ 鎖遺伝子異常が X-SCID の原因となること, そして, IL-2R γ 鎖は T 細胞, NK 細胞の分化に必須であることが分かった。しかしながら, IL-2 欠損マウスには T 細胞や NK 細胞の欠損は認められないことから, IL-2R 欠損によりなぜリンパ球分化異常が起こるのかは謎であった。この X-SCID パラドクスは, IL-2R γ 鎖が IL-2R のみならず, 複数のサイトカイン受容体のサブユニットとして共有されていることにより解決された。現在, IL-2R γ 鎖は IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21 受容体のサブユニットとして使われていることが明らかになっており, common γ (γ_c) 鎖と称されている⁵⁾。また, X-SCID 患者における T 細胞欠損は IL-7/IL-7R 系機能欠損, NK 細胞欠損は IL-15/IL-15R 系機能欠損によることが分かっている。

ヒトとマウスの IL-7 欠損による B 細胞欠損の違いと early B-cell factor 1 (EBF1) の発現不全

ヒトと実験モデルとして汎用されるマウスとの間ではサイトカインやサイトカイン受容体の使われ方に違いがある。例えば, IL-7 欠損によりヒトでは T 細胞の分化異常

が起こるが、マウスでは T 細胞のみならず、B 細胞の欠損が生じる⁵⁾。IL-7 機能欠損による T 細胞欠損は抗アポトーシス作用を持つ B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) を強制発現することにより回復するが、B 細胞分化異常には効果がない⁶⁾。このことは IL-7 刺激がマウス T、B 細胞分化に必須であるが、その要求される機能に違いのあることを示している。IL-7 機能欠損マウスでは B 細胞分化はごく初期の pre-proB 細胞期で停止しており、これは B 細胞分化に必要な転写因子である early B-cell factor 1 (EBF1) の発現不全によるためであることが現在分かっている⁷⁾。従ってヒトでは EBF1 遺伝子発現制御がマウスとは異なっていることが想定される。他方、マウスの場合にも胎仔 B 細胞前駆細胞では、EBF1 の発現は IL-7 非依存性である⁸⁾。マウスにおける EBF1 の発現制御の詳細な解析により、ヒト B 細胞分化の分子制御機構の解明につながる知見が得られるかもしれない。

造血幹細胞から T 前駆細胞への分化

リンパ球を含むすべての血球細胞は造血幹細胞由来である。造血幹細胞はリンパ球へ分化する過程で、段階的に赤血球や骨髄細胞系への分化能を消失していき、リンパ球系へ完全に commitment した、common lymphoid progenitor (CLP) へと至る⁹⁾。造血幹細胞は自己複製能を失い、かつ多分化能を保持している、CLP よりも未熟な段階を multipotent progenitor (MPP) と呼び、骨髄球系統とリンパ球系統への枝分かれをする段階と考えられてきた。MPP 分画はさらに fms-like tyrosine kinase 3 (Flt3) や vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) の発現により細分化できる⁹⁾。その結果、マクロファージなどの骨髄細胞系への分化能を保持し、かつ、リンパ球系統の分化を開始している細胞の存在が明らかになり、この細胞分画を lymphoid primed multipotent progenitor (LMPP) と呼んでいる¹⁰⁾。この LMPP 分画の中にケモカイン受容体 CCR9 を発現する細胞が少数含まれる。骨髄中のこの CCR9 陽性 LMPP が血流に乗り胸腺へホーミングした後、T 細胞分化が始まる¹¹⁾。胸腺へ移行した CCR9 陽性 LMPP は胸腺内で最も未熟な細胞として同定されている early T cell progenitor (ETP) と同一と考えられている。

T 細胞分化を制御する転写因子ネットワーク

胸腺内 T 細胞分化は T 細胞への commitment が完成し、T cell receptor (TCR) 遺伝子の再構成、ポジティブセレクション、ネガティブセレクションなどの数々のチェックポイントを経て、T 細胞が形作られる過程である。T 細胞を形作っている遺伝子群は多くの細胞に共通して発現している遺伝子群と、T 細胞に特徴的な遺伝子群で構成されている。細胞特異的な遺伝子発現は、その細胞種特異

的転写因子により制御されている。また、複数の細胞種特異的転写因子がヒエラルキーを持って、あるいは並列な関係を持ってネットワークを形成している。B 細胞を形作る転写因子ネットワークは実験的に、あるいはコンピューターによるシミュレーションにより詳細な解析が行われている。T 細胞を形作る転写因子ネットワークの解明も最近進んでいる¹²⁾。ETP は膜表面に発現している Notch1 が胸腺ストローマ細胞の発現する delta like-4 (DLL4) と結合することにより、T 細胞系への specification および commitment が誘導される。従って、T 細胞特異的転写因子ネットワークは Notch シグナルにより発現誘導、あるいは発現抑制される遺伝子群をベースにしていると想定される。また、B cell leukemia/lymphoma 11B (Bcl11b) などの転写因子が T 細胞 commitment に重要な役割を担うことが示されている¹²⁾。しかし、B 細胞で示されているようなネットワークが T 細胞特異的転写因子では十分には示されていない。また、T 細胞には $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NKT 細胞、あるいは CD8 $\alpha\alpha$ を発現することを特徴とし、腸管内に局在する intraepithelial lymphocyte (IEL) があるが、それらがどのように ETP から発達するのか、十分に解明されてはいない。CD8 $\alpha\alpha$ IEL の前駆細胞は conventional T 細胞のポジティブセレクションに相当する agonist selection を受けた後の細胞群であるが、CD103 をマーカーに加えることにより、より純度の高い CD8 $\alpha\alpha$ IEL 前駆細胞群を胸腺細胞内に同定することが可能である¹³⁾。さまざまな発達段階の細胞群をより純度を高く単離することが可能になれば、より詳細な T 細胞を形作る転写因子ネットワークが明らかになるものと期待される。

エピジェネティクスと T 細胞分化

エピジェネティクスは種々の遺伝子の発現をグローバルに制御し、その細胞に特徴的な遺伝子発現パターンを形成する上で重要である。われわれは T 細胞分化に必要な遺伝子群を明らかにすることを目的として、エピジェネティクス、あるいはクロモゾーム構造を調整する役割を持つ核タンパク、special AT-rich binding protein-1 (SATB1) に着目し、その役割の解明を進めている¹⁴⁾。SATB1 の発現は血液細胞では T 細胞に特異的であるが、その発現は実際には造血幹細胞から見られる。SATB1 は造血幹細胞の自己複製能維持に必要であることが示されている¹⁵⁾。また、SATB1 が発現することにより、造血幹細胞からリンパ球への specification や commitment を促進する役割を担うことが報告されている¹⁶⁾。さらに SATB1 欠損マウスでは T 細胞の分化異常が見られた¹⁷⁾。このことから、SATB1 は T 細胞分化、あるいは T 細胞を形成する転写因子ネットワークに関わる核タンパクであることが示唆された。しかし、SATB1 は血球細胞以外、例えば神経細胞にも発現

があるため、SATB1 欠損マウスは生後3週以内に死んでしまう。そのためにSATB1 欠損マウスにおけるT細胞機能、あるいはT細胞分化の詳細を解析することはできない。そこでわれわれは現在、Cre-loxP systemを用いたSATB1 conditional knock out (SATB1cKO) マウスを作製し、血球特異的、あるいはT細胞特異的にSATB1を欠損したマウスの胸腺細胞やT細胞の解析を行っている。SATB1 欠損マウスで示唆されたポジティブセレクションの障害はSATB1cKOマウスにも同様に見られる(未発表データ)。また、SATB1cKOマウスにはネガティブセレクションの異常も存在することが示唆されており、さらなる解析を進めているところである。

IL-7 受容体シグナル伝達の新規知見

また、T、Bリンパ球の分化に必須であるIL-7受容体からのシグナル伝達経路を解析している中で、シグナル分子のチロシンリン酸化と同様に、IL-7刺激直後にアセチル化が起こることが分かった(未発表データ)。細胞質内、あるいは細胞膜直下でサイトカイン刺激依存的に起こるアセチル化の意義は明らかになっていない。この現象の生物学的意義の解明に現在取り組んでいるところである。リンパ球分化の分子制御機構を解明することにより、免疫不全症や自己免疫疾患発症機構の理解が進むことを期待している。

文 献

- 1) Sugamura K, Asao H, Kondo M, et al: The interleukin-2 receptor γ chain: Its role in the multiple cytokine receptor complexes and T cell development in XSCID. *Annu Rev Immunol* **14**: 179-205, 1996
- 2) Takeshita T, Aso H, Ohtani K, et al: Cloning of the gamma chain of the human IL-2 receptor. *Science* **257**: 379-382, 1992
- 3) Noguchi M, Yi H, Rosenblatt HM, et al: Interleukin-2 receptor γ chain mutation results in X-linked severe combined immunodeficiency in humans. *Cell* **73**: 147-157, 1993
- 4) Ishii N, Asao H, Kimura Y, et al: Impairment of ligand binding and growth signaling of mutant IL-2 receptor γ -chains in patients with X-linked severe combined immunodeficiency. *J Immunol* **153**: 1310-1317, 1994
- 5) Kovanen PE, Leonard WJ: Cytokines and immunodeficiency diseases: Critical roles of the γ -dependent cytokines interleukins 2, 4, 7, 9, 15, and 21, and their signaling pathways. *Immunol Rev* **202**: 67-83, 2004
- 6) Kondo M, Akashi K, Domen J, et al: Bcl-2 rescues T lymphopoiesis, but not B or NK cell development, in common γ chain-deficient mice. *Immunity* **7**: 155-162, 1997
- 7) Kikuchi K, Lai AY, Hsu CL, et al: IL-7 receptor signaling is necessary for stage transition in adult B cell development through up-regulation of EBF. *J Exp Med* **201**: 1197-1203, 2005
- 8) Kikuchi K, Kondo M: Developmental switch of mouse hematopoietic stem cells from fetal to adult type occurs in bone marrow after birth. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**: 17852-17857, 2006
- 9) Lai AY, Kondo M: T and B lymphocyte differentiation from hematopoietic stem cell. *Semin Immunol* **20**: 207-212, 2008
- 10) Adolfsson J, Månsson R, Buza-Vidas N, et al: Identification of Flt 3⁺ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential: A revised road map for adult blood lineage commitment. *Cell* **121**: 295-306, 2005
- 11) Lai AY, Kondo M: Identification of a bone marrow precursor of the earliest thymocytes in adult mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**: 6311-6316, 2007
- 12) Rothenberg EV: Transcriptional control of early T and B cell developmental choices. *Annu Rev Immunol* **32**: 283-321, 2014
- 13) Guo X, Tanaka Y, Kondo M: Thymic precursors of TCR $\alpha\beta$ ⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ intraepithelial lymphocytes are negative for CD103. *Immunol Lett* **163**: 40-48, 2015
- 14) Yasui D, Miyano M, Cai S, et al: SATB1 targets chromatin remodelling to regulate genes over long distances. *Nature* **419**: 641-645, 2002
- 15) Will B, Vogler TO, Bartholdy B, et al: Satb1 regulates the self-renewal of hematopoietic stem cells by promoting quiescence and repressing differentiation commitment. *Nat Immunol* **14**: 437-445, 2013
- 16) Satoh Y, Yokota T, Sudo T, et al: The Satb1 protein directs hematopoietic stem cell differentiation toward lymphoid lineages. *Immunity* **38**: 1105-1115, 2013
- 17) Alvarez JD, Yasui DH, Niida H, et al: The MAR-binding protein SATB1 orchestrates temporal and spatial expression of multiple genes during T-cell development. *Genes Dev* **14**: 521-535, 2000

Advances During the Past 20 Years in Clarifying Molecular Regulation of Lymphocyte Development

Motonari Kondo

Professor, Department of Molecular Immunology, School of Medicine,
Faculty of Medicine, Toho University

ABSTRACT: The cDNA of the interleukin 2 receptor gamma (IL-2R γ) chain was cloned in 1992, when the present author entered graduate school. Later, it was found that a defect in this chain was the cause of X-linked severe combined immunodeficiency, which is characterized by a lack of T and natural killer (NK) cells. The IL-2R γ chain is used as a component of functional receptor complexes in numerous cytokines, such as IL-7 receptors. Therefore, the IL-2R γ chain is now known as the common γ (γ_c) chain. The roles of γ_c family cytokines in lymphocyte development are well understood. In this article, I summarize advances in our understanding of molecular regulation in lymphocyte development made during the past 20 years and discuss avenues for future research on this subject.

J Med Soc Toho 62 (1): 30-34, 2015

KEYWORDS: lymphocyte development, cytokine, transcription factor network

近藤元就教授 ご略歴

- 1992年 3月 東北大学医学部卒業
4月 東北大学大学院医学研究科博士課程入学
1995年 3月 同 修了, 博士 (医学)
1995~2001年 Stanford University School of Medicine, postdoctoral fellow
2002年 Duke University Medical Center, Assistant Professor of Immunology
2009年 Duke University Medical Center, Associate Professor of Immunology
2010年 6月 東邦大学医学部免疫学講座教授
現在に至る
-