

TNF スーパーファミリーの分子進化と T 細胞シグナル制御

はじめに

T細胞は、抗原受容体(T-cell receptor, TCR)であらゆる無数の抗原と対峙し、免疫系の司令塔として働く使命をもつ。この細胞集団が体内で適切に増殖、分化、生存することで、安定した自己と非自己の識別機構が維持される。T細胞による免疫制御機構は、進化の過程でいつ、どのように脊椎動物に備わり、最適化されたのだろうか? T細胞によって担われる獲得免疫の原型は、およそ5億年前に有顎類の祖先に誕生したと考えられている。生物進化の発展途上でT細胞の機能調節に関わる遺伝子群が遺伝子重複によって生成してきたことが、近年のゲノム解析から実証されつつある^{1,2)}。本稿では、T細胞の機能を制御するために発展を遂げたと考えられる、tumor necrosis factor スーパーファミリー(TNFSF)とその受容体(TNFRSF)の役割、意義について概説する。

1. TNFSF-TNFRSF の分子進化

TNFSFのC末端側に存在するTNF homology domain (THD) は、10個のβ構造からなる"jellyroll"と呼ばれる特徴的な高次構造を保持し、三量体を形成することでそれぞれに特異的なTNFRSFと相互作用する。THDは、補体のCq1ファミリーのglobular domainとの構造上の高い相同性が認められ、共通の遺伝子を源にして共に発展を遂げたことが示唆されている。現在、ヒトでは19種のTNFSFと29種のTNFRSF遺伝子が同定されている。これらのヒトでの機能は多彩であり、器官形成、炎症、細胞死、リンパ球の恒常性維持などに関与する。脊椎動物より以前に、TNFとその受容体の原型となる遺伝子が存在したことが推定されており、節足動物のショウジョウバエに

認められる Eiger と Wengen がこれにあたる. このような 無脊椎動物の先祖遺伝子が重複することにより, 脊椎動物 の TNFSF と TNFRSF 遺伝子として進化を遂げた可能性が 高い 1 .

ヒト TNFSF に関して、19種のうちその11種が四つのMHC (主要組織適合遺伝子複合体) のパラロガス染色体領域^[1] (第1番染色体に OX40L, FASL, GITR; 第6番染色体に TNFα, LTα, LTβ; 第9番染色体に CD30L, TL1A; 第19番染色体に CD70, 4-1BBL, LIGHT) にコードされている (表1)^{2,4}. これらは、2回の大規模な染色体重複に

表1 T細胞の寿命制御に関わる TNF 受容体スーパーファミリーとそのリガンドのペア

	TNF 受容体 (TNFRSF)		,	ΓΝF リガンド (TNFSF)	
一般 名称	別名	染色体 位 置	一般名称	別名	染色体 位 置
OX40	TNFRSF4, CD134, ACT35	1p36	OX40L	TNFSF4, CD252, gp34	1q25
GITR	TNFRSF18, CD357, AITR	1p36.3	GITRL	TNFSF18, AITRL TL6	1q23
TNFR2	TNFRSF1B, CD120b,	1p36.22	TNFα	TNFSF2 TNFA	6p21.3
	p75		LTα	TNFSF1, TNFB LTα3	6p21.3
DR3	TNFRSF25, TRAMP	1p36. 2	TL1A	TNFSF15,	9q32
CD30	TNFRSF8 KI-1	1p36	CD30L	TNFSF8, CD153	9q33
HVEM	TNFRSF14, CD270, ATAR	1p36. 32	LIGHT	TNFSF14 CD258 LTg	19p13.3
			LTα	同上	同上
4-1BB	TNFRSF9, CD137	1p36	4-1BBL	TNFSF9	19p13.3
CD27	TNFRSF7	12p13	CD70	TNFSF7	19p13
EACH (TNIEGES CD170) 14 OVANI & CITEDI & & 1 答 第 1					

FASL(TNFSF6, CD178)は、OX40LとGITRLとともに第1番染色体 (1q23) にコードされ、その受容体の FAS (TNFRSF6, CD95)は、主として T 細胞のアポトーシスに関与する. LTβ (TNFSF3, LT α 1β2)は、TNF α とLT α とともに第6番染色体 (6p21.3)にコードされ、その受容体のLT β R(TNFRSF3)は、リンパ球に発現せず、ストロマ及び骨髄系細胞に発現し、リンパ器官形成や樹状細胞の恒常性維持などに関与する.

2012年 2月〕 103

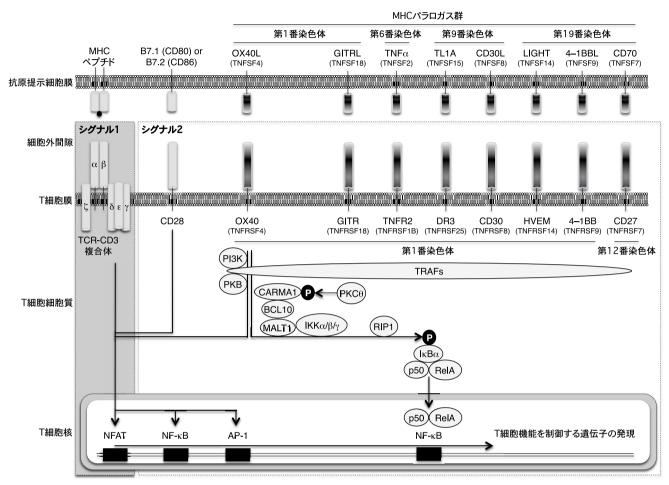


図1 TNFSF-TNFRSF 相互作用による T 細胞サバイバルの制御

抗原提示細胞に発現する TNF リガンドと,T 細胞に発現する TNF 受容体とが相互作用することで,T 細胞側にシグナルが入力される.TNF 受容体が TCR からのシグナル 1 と協調して働く場合,シグナル 2 として機能し,TCR からのシグナルを量的,質的に調節する.TNF 受容体は,TCR シグナル非依存的にシグナルを入力することができ,TRAF-1,-2, -3, -5 を介して NF-кB 経路等を活性化する.OX40 で認められる,PKB や NF-кB 経路の活性化機構が他の TNF 受容体でも同様に成立するかについて今後の検討が望まれる.

油)パラロガス染色体領域

ある生物種において、遺伝子重複により生じ、配列の相同性が高い遺伝子のことをパラロガス遺伝子と呼ぶ. MHC 遺伝子は、遺伝子重複相同性(パラロジー)を示す遺伝子の典型例であり、ヒト第6番染色体上に4×10⁶ 塩基以上の範囲にわたって200種類以上の遺伝子がコードされている. MHC パラロガス染色体領域はヒト染色体上の4カ所(第1,6,9,19番染色体)に同定され、一つの祖先となる染色体領域が二回におよぶ全ゲノム重複(Two-round-whole genome duplication、2R-WGD;1970年に大野乾によって提唱された仮説)の結果生じたことが示唆されている。2R-WGDは、有顎脊椎動物の祖先が尾索動物(ホヤなど)と分岐した後の時期、5.25-8.75億年前に起こったことが推定されている。

よって生成したことが示唆されている². TNFSF だけでなく、TNFRSFも遺伝子重複や転座によって多様化し、リガンドと受容体のペアで共進化を遂げたと推定されている¹. 興味深いことに、第 1 番染色体には、七つの受容体 TNFR2、OX40、CD30、4-1BB、DR3、HVEM、GITR がコードされている⁴. これらはすべて、T細胞の機能調節に関わり、特にT細胞の寿命維持に重要な役割を果たす(図 1). 硬骨魚類のゲノム解析が行われた結果、TNFSFのうち OX40L、CD70、CD30L、GITRL に関する配列は検出されなかった⁵. これから、魚類より後の進化の途上で新しい TNFSF-TNFRSF のペアが出現し、それらがT細胞の制御システムへ組み込まれた可能性が示唆される。T細

胞の膜表面に発現する TNFRSF は、獲得免疫にどのように重要なのだろうか?

2. T細胞補助刺激シグナル

抗原に未感作のナイーブ CD4⁺及び CD8⁺ T細胞は、造 血幹細胞から胸腺を経て分化し、血管やリンパ管を介して 二次リンパ性器官, その他の臓器, 組織に広く分布する. 抗原特異的な刺激を受けると、クローン増殖を起こして、 エフェクターT細胞やメモリーT細胞へ分化する. この 抗原特異的な T細胞の活性化とその後の細胞の生存には、 少なくとも二つのシグナルが必要となる. 第一に, 抗原ペ プチド-MHC 複合体によって TCR から入力されるシグナ ル1, 第二に, 補助刺激シグナルあるいはシグナル2と呼 ばれるシグナルが必要になる (図1). T細胞に発現す る CD28 は、抗原提示細胞側の B7.1 (CD80) 及び B7.2 (CD86) と相互作用することで、特にナイーブ T 細胞への シグナル2の入力に重要となる. 硬骨魚類において、機能 的な CD28-B7 のペアが既に存在することから、これらの 分子が古くからT細胞の制御に重要な役割を果たしてき たことが推察される.

近年,CD28以外のシグナル2を入力できる TNFRSF の役割がクローズアップされている。すなわち,8種の TNFR2,OX40,CD27,CD30,4-1BB,DR3,HVEM,GITR である(表 1,図 1) $^{6.7}$. これらの分子は,CD28 がもつ機能を増強し,あるいは新規の機能を補填することで T 細胞を介した免疫制御に重要な役割を果たす。それぞれの受容体の T 細胞サブセットにおける発現パターン,発現時期は異なるが,特にエフェクター T 細胞やメモリー T 細胞の分化,生存,機能を制御することで安定した獲得免疫の確立に寄与する $^{6-91}$.

例えば先に述べたように、OX40L遺伝子は魚類に認められないことから、進化上新しく脊椎動物に定着し、哺乳類のT細胞機能を調節する分子として適応進化を遂げた可能性がある。OX40は、ナイーブT細胞には発現せず、刺激依存的にT細胞上に発現する膜結合型受容体である。OX40Lは、自然免疫系の活性化により抗原提示細胞上に発現する(図1)。これらの分子相互作用を阻害すると、エフェクターT細胞やメモリーT細胞の生成に著しい障害が認められる^{8.9}。その理由は、OX40がNF-кBやPKB(Protein kinase B、別名 AKT)経路のシグナル入力に重大な寄与をするためである。より具体的には、OX40のもつシグナル強度を持続させる機能(シグナルの遷延化機能)によって、両経路の下流で働く、抗アポトーシス制御因子

(Bcl-2, Bcl-xL, Bfl-1) や細胞周期制御因子 (Survivin, Aurora B) の発現量が増大する (図1)⁸. 同様の制御機構が、他の TNFSF-TNFRSF にも存在することが示唆されている^{6.7}.

OX40は、形質膜近傍でどのような分子反応をもとに NF-κB や PKB 経路の活性化を開始するのだろうか? 筆 者らは、OX40 に特異的な免疫沈降システムを開発し、こ の問題にアプローチした. OX40 を含む TNFRSF は、細胞 内領域に TNF receptor-associated factor (TRAF) をリクルー トすることで下流のシグナルを活性化する.6種類あ る TRAF 分子のうち、TRAF2/3/5 が OX40 の細胞内領域 のアミノ酸配列 (OEE) に結合する⁸. OX40L と相互作用 した OX40 の免疫沈降物には、TRAF2 をはじめ、IKKα/ β/γ (IKK 複合体), PKCθ, PI3K, PKB, RIP1, CARMA1/ BCL10/MALT1 (CBM 複合体) が含まれていた (図 1, 図 2)^{10,11)}. この結果から, OX40 が NF-κB や PKB 経路の活性 化に関わるキナーゼ群をリクルートすることでシグナロ ソーム注(図2)を形成し、これによって、形質膜下にお ける安定したキナーゼ活性の供給を可能にし、T細胞の活 性化状態を維持する機構が明らかになった. またこのよう なシグナル反応が、脂質ラフト (raft nanodomain) で起こ ることも合わせて判明した (図 2)^{10,11)}. "microcluster" や "island"と呼ばれる細胞膜上でタンパク質により形成さ れる構造体が、時空間的にT細胞のシグナル強度を調節 することが最近の研究から明らかになっている12. 三量体 のOX40がT細胞膜上でさらに集合し、多量体化するこ とで安定した構造体が形成される可能性が高い。OX40 に よるシグナロソームは、TCR、CD28、サイトカイン受容 体などの構成ユニットと流動的に形質膜上で相互作用しな がらT細胞活性化シグナルの遷延化に重要な寄与をする と考えられる (図2).

3. TNFSF-TNFRSF による免疫制御

CD25⁺Foxp3⁺CD4⁺調節性 T 細胞(Treg)は、ヒト末梢血の CD4⁺T 細胞の数%を占める細胞集団である。ヒト及びマウスにおいて、その master regulator として機能する Foxp3 を欠損した個体は、Treg の機能低下が起こり、自己

注2)シグナロソーム

細胞内シグナル伝達に必要な、異なる機能を持ったタンパク質の複合体. その形成により、質的、量的なタンパク質間相互作用が促進されることで、リン酸化、ユビキチン修飾反応などの翻訳後修飾が亢進し、シグナル伝達の効率化に寄与する.

2012年 2月〕 105

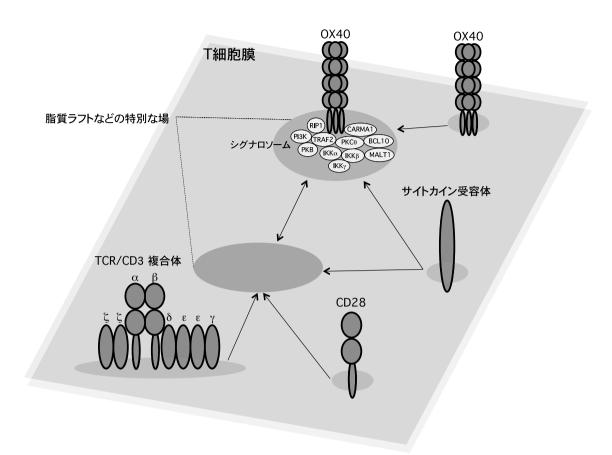


図2 T細胞形質膜下で形成される OX40 シグナロシームと他の受容体との流動的な協調性 形質膜上の OX40 は、OX40L と結合した後、脂質ラフトへ移行することでシグナル反応を開始する.OX40 は、細胞内領域に NF-kB や PKB 経路の活性化に関わるキナーゼ群をリクルートし、複合体(シグナロソーム)を形成することで下流にシグナルを伝達する.抗原活性化 T細胞上に発現する TCR/CD3 複合体,CD28,サイトカイン受容体 (IL-2 受容体など) などは、それぞれのシグナル反応を通して T細胞の反応性を制御する.OX40 は、膜上での位置を変化させながら他の受容体と協調することで,T細胞活性化に関わるシグナルを持続させる機能をもつことが示唆されている.

反応性 T 細胞が暴走することで致死的な組織障害が誘導され、死に至る¹³⁾. TNFRSF は Treg に特に高く発現し、Treg の機能制御、すなわち、生存シグナル、抑制機能、Foxp3 の発現を制御することが知られている^{8.14)}. 興味深いことに、Foxp3、OX40、CD30 の 3 分子を同時に欠損したマウスを作成すると、マウスは正常に成長し、自己免疫疾患による個体死を回避できることが判明した¹⁵⁾. この結果は、OX40 や CD30 などの TNFRSF に由来する多重のシグナルが、直接的に自己反応性 T 細胞の増殖、分化、病原性に関与することを示唆する. これと合わせて、正常な個体内では、自己反応性 T 細胞の活性化やこれによる組織障害が起こらないように Treg が常にこれらを抑制していると考えられる。「諸刃の剣」に例えられるように、獲得免疫という未知の異物に対応できる精巧な制御システム

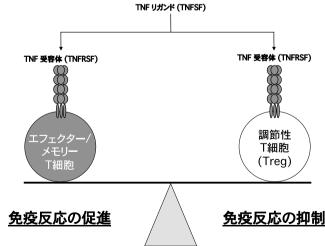


図3 エフェクター/メモリー T 細胞と調節性 T 細胞の適切な バランスによって免疫系の恒常性が維持される

を手にした脊椎動物は、自己に対する攻撃性を同時に制御する必要性に迫られてきた. T細胞の制御においても、促進系と抑制系のペアで進化せざるを得なかったと考えられる. TNFSF-TNFRSFを、エフェクター/メモリー T細胞(促進系)と Treg(抑制系)の両側に配置することで両者間のバランスを保つような仕組みが出来上がったのだろう(図3).

おわりに

T細胞を制御するために、なぜこのように多くの TNFSF-TNFRSFのペアが産み出されてきたのか? それ ぞれの作用には冗長性があり、一見無駄なように思える. T細胞は、入力されるシグナル強度によって、様々な免疫 学的な機能を出力する細胞集団である. それぞれの TNFRSF から入力されたシグナルは、時空間的に制御さ れ、個別の受容体からのシグナルが協調することで、量 的,質的なシグナル制御が可能となる.すなわち,体内の 様々な場所で、低域から高域の幅のあるシグナル制御や組 合せによって生じる特別なシグナル制御が行われており, これらによって緻密な遺伝子発現の制御が可能になると考 えられる. 免疫学的な自己は, 後天的に, 外環境との相互 作用によって柔軟に決定される. 自己を攻撃せず、かつ生 体に有害な非自己の記憶を長期間維持するために、T細胞 は TNFSF-TNFRSF による制御機構を発展させたのかもし れない、ヒトの獲得免疫の本質に迫るため、ヒトの疾患を 治療するために、 さらなる研究の進展が望まれる.

謝辞

本研究は、ラホヤアレルギー免疫研究所の Michael Croft 博士の研究室で行ったものであり、Amnon Altman 博士、Carl Ware 博士をはじめとする共同研究者の方々に感謝の意を表する。

- Collette, Y., Gilles, A., Pontarotti, P., & Olive, D. (2003) *Trends Immunol.*, 24, 387–394.
- 2) Kasahara, M. (2010) Prog. Mol. Biol. Transl. Sci., 92, 7-36.
- Kishore, U., Gaboriaud, C., Waters, P., Shrive, A.K., Greenhough, T.J., Reid, K.B., Sim, R.B., & Arlaud, G.J. (2004) Trends Immunol., 25, 551–561.
- 4) Ware, C.F. (2008) Cytokine Growth Factor Rev., 19, 183-186.
- 5) Glenney, G.W. & Wiens, G.D. (2007) *J. Immunol.*, 178, 7955–7973.
- 6) Watts, T.H. (2005) Annu. Rev. Immunol., 23, 23-68.
- 7) Croft, M. (2009) Nat. Rev. Immunol., 9, 271–285.
- 8) Croft, M., So, T., Duan, W., & Soroosh, P. (2009) *Immunol.* Rev., 229, 173–191.

 Ishii, N., Takahashi, T., Soroosh, P., & Sugamura, K. (2010) *Adv. Immunol.*, 105, 63–98.

- 10) So, T., Soroosh, P., Eun, S.Y., Altman, A., & Croft, M. (2011) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108, 2903–2908.
- So, T., Choi, H., & Croft, M. (2011) J. Immunol., 186, 3547– 3555.
- Saito, T., Yokosuka, T., & Hashimoto-Tane, A. (2010) FEBS Lett., 584, 4865–4871.
- Sakaguchi, S., Miyara, M., Costantino, C.M., & Hafler, D.A.
 (2010) Nat. Rev. Immunol., 10, 490–500.
- 14) So, T., Lee, S.W., & Croft, M. (2008) Cytokine Growth Factor Rev., 19, 253–262.
- 15) Gaspal, F.M., Withers, D., Saini, M., Bekiaris, V., McConnell, F.M., White, A., Khan, M., Yagita, H., Walker, L.S., Anderson, G., & Lane, P.J. (2011) J. Exp. Med., 208, 1579–1584.

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)

Regulation of T-lymphocyte signaling by TNF superfamily members: an evolutionary perspective

Takanori So (Department of Microbiology and Immunology, Tohoku University Graduate School of Medicine, 2–1 Seiryo-machi, Aobaku, Sendai 980–8575, Japan)

BDNF の分泌制御と脳神経回路の形成 ~CAPS2 による BDNF 分泌促進とその機 能的役割~

1. は じ め に

脳由来神経栄養因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)は,成熟脳に強く発現する神経栄養因子ファミリータンパク質の一つとして1982年に Barde らによって豚の脳から単離された分泌性タンパク質である.BDNF は主にグルタミン酸作動性ニューロンにおいて前駆体(pro-BDNF)として発現し,小胞体-ゴルジ経路を経て有芯小胞に包含後,分泌部位に輸送され,分泌前あるいは分泌後にプロセシングを経て成熟体となる¹⁾.分泌された BDNF は,受容体型チロシンキナーゼである TrkB 受容体に結合して,遺伝子発現の誘導に至るシグナル伝達経路を活性化し,神経細胞の分化と成熟,樹状突起の分枝,シナプス新生や可塑性といった,神経回路の発達と機能の根源的な現象に強く関与していることが知られている²⁾.最近では,BDNF の発現量や分泌量が,統合失調症・うつ病・発達障害.及びアルツハイマー病やパーキンソン病など,様々な