

免疫抑制性受容体 PIR-B のリガンド認識様式と免疫調節機構

遠藤 章太, 高井 俊行

1. はじめに

免疫とはリンパ球の活性化に基づく生体防御の応答であるが、この応答に積極的にブレーキをかける一見生体防御には不利益とみられる受容体が生体には存在する。しかし、免疫は生体防御を担う反面、過剰で不適切な応答となった場合にはアレルギーや自己免疫疾患などを起こしてしまうため、生体は抑制性受容体によるブレーキシステムを備えて生体の恒常性を維持している。paired immunoglobulin-like receptor (PIR)-B はこのような免疫抑制性受容体の一つで、MHC クラス I 分子 (MHCI) をリガンドとしている。これまでの研究から PIR-B を欠損するマウスでは移植片対宿主病が野生型マウスに比べて重篤となり¹⁾、さらにはアレルギー応答の亢進²⁾や自己抗体の一種であるリウマチ因子の産生亢進³⁾などが認められている。我々は、腫瘍免疫や移植免疫において、樹状細胞 (dendritic cell : DC) に発現している PIR-B による MHCI 認識が細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte : CTL) の CD8 分子による MHCI 認識を競合的に阻害し、CTL の活性調節に関与することを見いだした。本稿では、PIR-B による MHCI 認識様式に基づいた新規 CTL 活性調節システムと、PIR-B の新規リガンドである neurite outgrowth inhibitor (Nogo) の認識様式とマスト細胞の応答制御について紹介する。

2. PIR の特徴と MHCI 認識

PIR は免疫グロブリン様受容体群に属する I 型膜貫通タンパク質で、活性化型の PIR-A と抑制性の PIR-B で構成されるペア型受容体である⁴⁾(図 1)。PIR は B 細胞とミエロイド系細胞に発現しているが、T 細胞と NK 細胞には発

現していない。PIR-A は約 85 kDa の分子で細胞内領域は 16 アミノ酸と短く、immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM) を有する Fc 受容体 γ 鎖 (FcR γ) ホモ二量体と会合することで細胞内に活性化シグナルを導入する⁵⁾。一方、PIR-B は約 120 kDa の分子で、細胞内領域に immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) を有し、src homology 2 (SH2)-containing tyrosine phosphatase (SHP)-1 などのチロシン脱リン酸化酵素を動員することで抑制性シグナルを伝達している⁶⁾。PIR 遺伝子はマウス第 7 染色体 qA1 領域に存在するが、ヒトの相同遺伝子座に相当する第 19 染色体 q13.4 領域には leukocyte immunoglobulin-like receptor (LILR) 遺伝子群が存在し、構造、遺伝子発現パターン、リガンドの共通性などから PIR と LILR はマウスとヒトとの間の相同分子であると考えられている(図 1)。マウス PIR-B に最も近縁であるヒト LILR 分子は LILRB2 である。構造的には LILRB1 と LILRB3 も近縁ではあるが、LILRB1 はマウス PIR-B が発現していない T 細胞に発現しており、LILRB3 は LILRB1/B2 および PIR-B のように MHCI をリガンドとして認識しない。

PIR および一部の LILR はともに MHCI を認識することが明らかとなっている^{1,7)}。同様に MHCI を認識する T 細胞受容体 (T cell receptor : TCR) や NK 細胞受容体である killer immunoglobulin-like receptor (KIR) が多様性の高い $\alpha 1$, $\alpha 2$ ドメインおよびペプチドを認識するのに対し、PIR は多様性に乏しい $\alpha 3$ および β_2 -microglobulin (β_2m) を認識するため、ペプチドやアリルの違いに関わらず幅広く MHCI 分子を認識する¹⁾。そのため、PIR による MHCI 認識は、細胞間での認識 (トランス認識) もしくは同一細胞表面上での認識 (シス認識) が起こり得ると考えられ、マスト細胞や DC においては PIR-B がシス型で MHCI を恒常的に認識していることが判明している^{2,8)}。

3. PIR-B の MHCI 認識と CTL 活性制御

CTL は TCR と CD8 分子により DC 上の MHCI-ペプチド複合体を認識することで活性化されるが、DC 上の MHCI と PIR-B の間に恒常的なシス結合が存在することから、CTL による MHCI 認識は PIR-B による阻害を受けることが予想された。そこで、*Pirb*^{-/-}マウスおよび野生型マウ

東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野 (〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町 4-1)

Ligand recognition and immune regulation system of inhibitory receptor PIR-B

Shota Endo and Toshiyuki Takai (Department of Experimental Immunology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, 4-1 Seiryō, Sendai, Miyagi 980-8575, Japan)

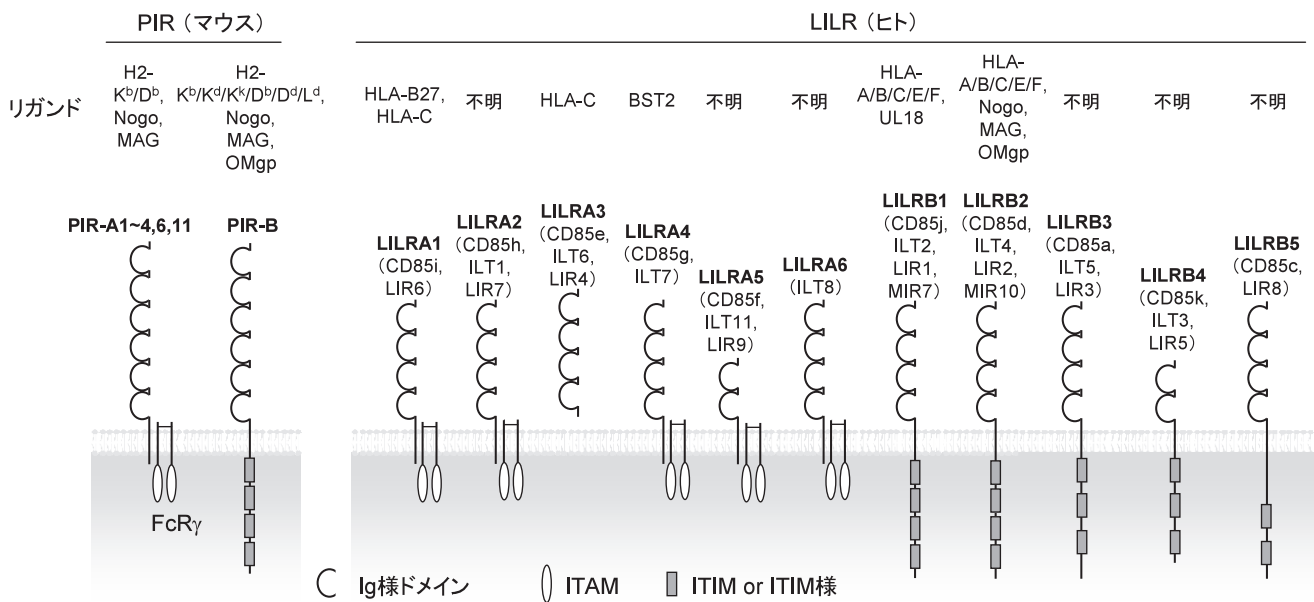


図1 マウス PIR とヒト LILR の分子構造

PIR/LILR は細胞外に複数個の Ig 様ドメインを有し、細胞内に ITIM を有する抑制性の B タイプと ITAM を有する FcR γ 鎖と会合する活性化型の A タイプで構成される。LILRA3 は膜貫通領域がない分泌型である。NCBI (米国立バイオテクノロジー情報センター) のデータベース上ではマウス *Pirb* はヒト *Lilrb3* に相同とされているが、リガンドや機能的な面から *Lilrb2* が相同であると考えられる。

スから骨髄由来 DC (bone marrow-derived DC : BMDC) を調製し、抗原として ovalbumin (OVA) を取り込ませた BMDC と OVA 特異的 CTL (OT-I 細胞) とを共培養したところ、*Pirb*^{-/-} BMDC は野生型 BMDC に比べて有意に高い OT-I 細胞の増殖を誘導した。また、*Pirb*^{-/-} BMDC を移入したマウスは野生型 BMDC を移入したマウスに比べて、CTL の細胞傷害活性が亢進し、腫瘍の定着が効果的に抑えられた⁸⁾。

CTL の活性化を増強する要因としては、DC における共刺激分子の発現上昇、サイトカイン産生の亢進、効率的な抗原の取り込みおよびプロセッシングなどが考えられたが、いずれの要因にも *Pirb*^{-/-} DC による CTL 活性増強を説明しうるものは見つからなかった。したがって、*Pirb*^{-/-} DC の CTL 活性増強は、ほかの分子を介した間接的なものではなく、PIR-B そのものが CTL に直接的に与える抑制作用の欠如によるものであると予測された。我々は、PIR-B と MHCII との結合に着目し、分子モデリングにより MHCII における PIR-B の結合部位の予測を行ったところ、PIR-B は MHCII の $\alpha 3$ ドメインおよび $\beta 2m$ を認識するという結果を得た⁸⁾ (図 2A)。この結合部位は CD8 分子の MHCII 結合部位にきわめて近接しており、一部は重複していたことから、PIR-B と CD8 は同時に MHCII を認識できないと予想された。そこで、リコンビナント PIR-B および CD8 を作製し、MHCII に対する結合を surface plasmon resonance (SPR) により解析したところ、両分子は MHCII 認識において競

合することが判明した⁸⁾ (図 2B)。PIR-B は DC 上においてシス型で MHCII を恒常的に認識していることから、抗原提示における DC と CTL の接触面において PIR-B-MHCII シス結合は CTL の CD8 分子による MHCII 認識を競合的に阻害し、このような PIR-B と CD8 の MHCII 認識をめぐる競合反応が CTL の活性化を阻害すると考えられる。ヒトにおいては、LILRB1 および LILRB2 を発現していないランゲルハンス細胞 (Langerhans cell : LC) が LILRB1 および LILRB2 を発現する CD14 陽性 dermal DC (dDC) に比べて CTL 活性化能が高いが、Banchereau らは可溶性 LILRB2 の添加で LC による CTL 活性化が抑制され、一方、抗 LILRB2 抗体で dDC による CTL 活性化が促進されることを報告しており⁹⁾、マウス PIR-B と同様の CTL 活性化システムを有することが示唆されている。

4. PIR-B の新規リガンド Nogo とマスト細胞の機能制御

また近年 PIR-B の新規リガンドとして神経系細胞に発現する neurite outgrowth inhibitor (Nogo), myelin associated glycoprotein (MAG), oligodendrocyte myelin glycoprotein (OMgp) が報告され¹⁰⁾、PIR-B を介した細胞機能調節はより複雑なシステムである可能性が考えられた。これまでの解析から、Nogo/MAG/OMgp の発現は神経系に限定されるものではなく、免疫系細胞においてもその発現が認めら

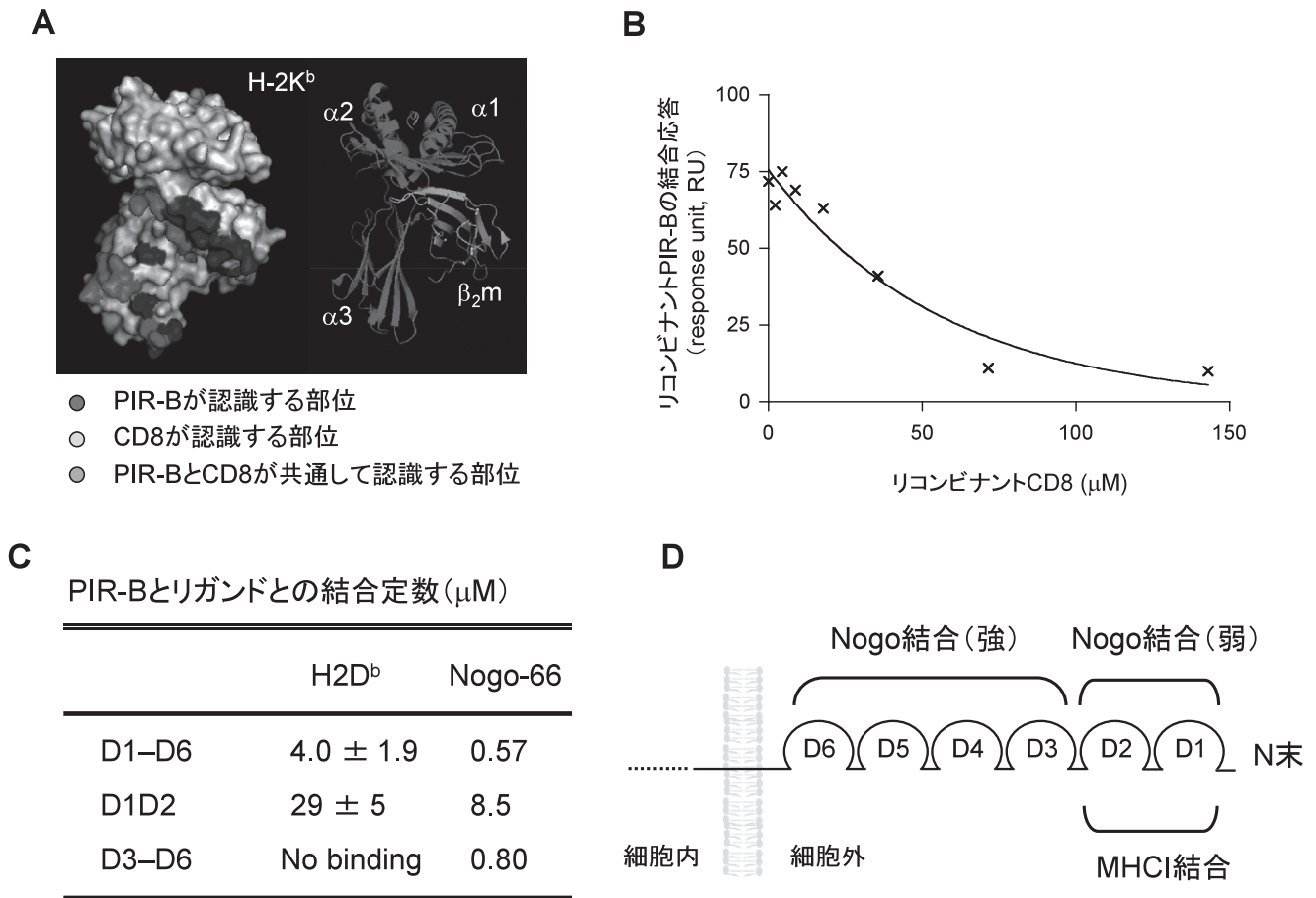


図2 PIR-Bによるリガンド認識様式

(A) LILRB1/HLA-A2複合体結晶構造 (PDB ID: 1P7Q) との相同性比較による分子モデリングの結果、マウス MHC I (H-2K^b) における PIR-B の結合部位は、CD8 の MHC I 結合部位 (PDB ID: 1BQH にもとづく) にきわめて近接していた。左図の H-2K^b 空間充填モデルに PIR-B と CD8 の結合部位を示した。右図のリボンモデルには H-2K^b のドメインを示した。(B) 一定濃度のリコンビナント PIR-B (30.4 μM) の MHC I に対する結合応答を、さまざまな濃度のリコンビナント CD8 の存在下で測定した。CD8 の濃度上昇に伴い PIR-B の結合応答が低下することから両分子が競合していることがわかる。(C) SPR で測定した PIR-B とリガンドとの結合定数。(D) MHC I は PIR-B の細胞外領域 N 末端側 (D1D2) に結合するのに対し、Nogo は細胞外領域 C 末端側 (D3-D6) に強く結合する。

れた¹¹⁾。我々はその中でも PIR-B と同様にミエロイド系細胞で発現が特に高い Nogo に注目して解析を進め、Nogo の発現は神経系ではスプライシングバリエーションの NogoA が優位であるのに対し、免疫系では NogoB が優位であることを見いだした。Nogo の結合様式を SPR で解析したところ、Nogo は PIR-B の細胞外領域 C 末端側に強く結合し、PIR-B の N 末端側に結合する MHC I とは異なる結合様式であった¹¹⁾ (図 2C, D)。また、PIR-B のリガンドである MHC I または Nogo を欠損するマスト細胞は lipopolysaccharide (LPS) 刺激に対し IL-6 産生が野生型マスト細胞に比べて亢進するが、Nogo の細胞外領域 (Nogo-66) の組換えタンパク質存在下で抑制され、その抑制は内在性 Nogo の発現の有無に大きく影響されることを見いだした¹¹⁾。すなわち、PIR-B と Nogo は、同一細胞表面でシス結合していると考えられ、PIR-B は免疫系細胞において

MHC I および Nogo と同時にシス結合し、その抑制シグナル伝達を行っていると考えられる (図 3)。

5. おわりに

PIR-B は細胞内に抑制シグナルを伝達するとともに、細胞外においてシス型で MHC I を認識することで CTL の活性を立体的に抑制するという二つの機能を持ち合わせた分子である (図 3)。マウス PIR-B とヒト LILRB とは遺伝子的に種差の大きな分子であるが、この差は生体防御の要となる免疫のブレーキシステムが高等生物でより多様性を必要としたためであると考えられ、マウス PIR-B の解析はヒト LILRB による免疫制御システムを理解するためには欠かせない。新たなリガンド Nogo が見つかったことで PIR-B による免疫制御システムは複雑性が増したが、その詳細

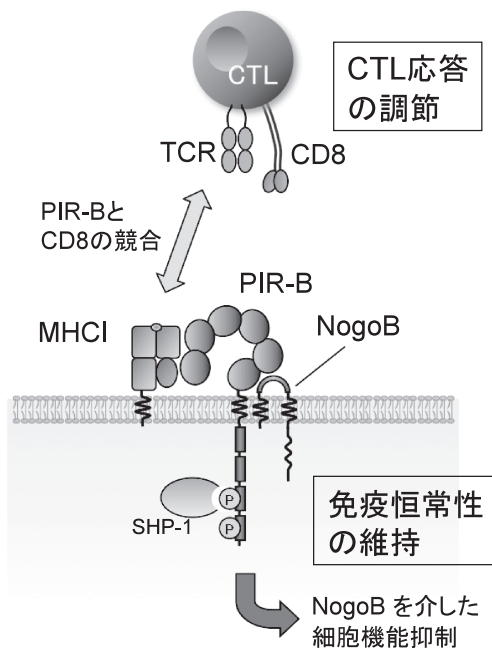


図3 PIR-B, MHCI, Nogoによる免疫応答制御の模式図

PIR-BとMHCIのシス結合はCD8分子との競合によりCTL応答の調節をし、さらにPIR-BはNogoBとシス結合することでマスト細胞などの免疫応答の閾値を制御して免疫恒常性の維持を行っていると考えられる。

を解明することでアレルギーや自己免疫疾患などさまざまな免疫疾患の発症機構の理解が深まることが期待される。

著者寸描

●遠藤章太 (えんどう しょうた)

東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野助教。博士(医学)。

■略歴 1976年宮城県に生る。2000年東北大学理学部化学科卒業。02年同大学院理学研究科化学専攻博士前期課程修了。07年東北大学大学院医学系研究科医科学専攻博士課程修了。07年より現職。

■研究テーマと抱負 樹状細胞による免疫調節機構の解析を主におこなっている。目の前のものを素直にとらえることをモットーとし、既存の概念に捕われずに研究を進めていきたい。

■趣味 釣り、ドライブ。

- 1) Nakamura, A., Kobayashi, E., & Takai, T. (2004) *Nat. Immunol.*, 5, 623-629.
- 2) Masuda, A., Nakamura, A., Maeda, T., Sakamoto, Y., & Takai, T. (2007) *J. Exp. Med.*, 204, 907-920.
- 3) Kubo, T., Uchida, Y., Watanabe, Y., Abe, M., Nakamura, A., Ono, M., Akira, S., & Takai, T. (2009) *J. Exp. Med.*, 206, 1971-1982.
- 4) Hayami, K., Fukuta, D., Nishikawa, Y., Yamashita, Y., Inui, M., Ohyama, Y., Hikida, M., Ohmori, H., & Takai, T. (1997) *J. Biol. Chem.*, 272, 7320-7327.
- 5) Ono, M., Yuasa, T., Ra, C., & Takai, T. (1999) *J. Biol. Chem.*, 274, 30288-30296.
- 6) Maeda, A., Kurosaki, M., Ono, M., Takai, T., & Kurosaki, T. (1998) *J. Exp. Med.*, 187, 1355-1360.
- 7) Brown, D., Trowsdale, J., & Allen, R. (2004) *Tissue Antigens*, 64, 215-225.
- 8) Endo, S., Sakamoto, Y., Kobayashi, E., Nakamura, A., & Takai, T. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 14515-14520.
- 9) Banchereau, J., Zurawski, S., Thompson-Snipes, L., Blanck, J. P., Clayton, S., Munk, A., Cao, Y., Wang, Z., Khandelwal, S., Hu, J., McCoy, W.H. 4th, Palucka, K.A., Reiter, Y., Fremont, D.H., Zurawski, G., Colonna, M., Shaw, A.S., & Klechevsky, E. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 18885-18890.
- 10) Atwal, J.K., Pinkston-Gosse, J., Syken, J., Stawicki, S., Wu, Y., Shatz, C., & Tessier-Lavigne, M. (2008) *Science*, 322, 967-970.
- 11) Matsushita, H., Endo, S., Kobayashi, E., Sakamoto, Y., Kobayashi, K., Kitaguchi, K., Söderhäll, A., Maenaka, K., Nakamura, A., Strittmatter, S.M., & Takai, T. (2012) *J. Biol. Chem.*, 286, 25739-25747.

●高井俊行 (たかい としゆき)

東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野教授。医学博士。

■略歴 1958年岡山県に生る。80年岡山大学薬学部製薬化学科卒業。京都大学大学院医学研究科修了。86年国立循環器病センター研究所研究員。88年岡山大学工学部助手。89年同講師。90年同助教授。92~93年米国スローン・ケタリング研究所客員研究員。97年より現職。

■研究テーマと抱負 免疫系細胞に発現するFcRやPIRなどの制御レセプタータンパク質の解析を通して、自己と非自己の識別機構の解明、アレルギー・自己免疫疾患・移植免疫・がん免疫のコントロールを目指しています。

■ウェブサイト <http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/expimmu/index.html>

■趣味 水泳、自転車、ランニング。