

感 染 ネ ッ ト ワ ー ク 研 究 セ ン タ ー
Research Center for Infectious Diseases

感染制御学分野

Division of Host Defense

教授：吉開 泰信

Professor : Yasunobu Yoshikai, M.D., Ph.D.

生体防御機構とは、外から侵入する微生物やアレルゲンなどの異物や死細胞などの自己老廃物や腫瘍細胞を処理し、個体の独立性、恒常性を維持する仕組みをいう。微生物の侵入に際して、あらかじめ備わった自然免疫とリンパ球の免疫応答によって獲得される獲得免疫でこの異物を撃退する。自然免疫を担う細胞性因子の代表として、好中球やマクロファージなどの食細胞が挙げられる。これらの細胞は、細菌由来のくり返しパターン、病原体関連分子パターン pathogen-associated molecular pattern (PAMP) を認識するパターン認識受容体 pattern recognition receptor (PRR) で、迅速に貪食、排除を行う。自然免疫リンパ球 (innate lymphocytes) と呼ばれるナチュラルキラー (natural killer ; NK) 細胞、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞や NK T 細胞は細菌の感染細胞の発現する微生物由来または自己細胞由来の成分を認識して活性化され、感染細胞を傷害する一方で、サイトカインを産生して獲得免疫を方向づける自然免疫と獲得免疫との橋渡しの役割を担う。獲得免疫を担う T 細胞および B 細胞は細菌由来の抗原で活性化され、直接的に細胞傷害活性で感染細胞を排除し、サイトカインや抗体を産生して自然免疫と共同で、効率よく微生物の排除を行う。微生物が完全に排除され、戦いが終了するとほとんどの活性化リンパ球はアポトーシスで細胞死を起し、免疫反応が終息する。一部のリンパ球は記憶細胞となり、再感染時には迅速に応答して感染防御を行う。結核などの慢性感染症では抗原刺激が持続して獲得免疫が疲弊 (exhausted) に陥る。これは過剰な免疫応答で正常組織の傷害を防ぐためと考えられる。当研究分野では病原微生物などの異物から宿主を防御する生体防御機構を解明し、その分子基盤に基づいて生体防御機構を再構築することによって、難治性疾患 (感染症, 癌, 自己免疫, アレルギー病) の先端的治療法の開発をめざしている。

人事面では、平成 27 年 4 月から野口直人が大学院博士課程に入学した。平成 27 年 5 月柴田健輔助教が分子免疫学分野に配置換えとなった。平成 27 年 8 月に山田久方准教授が退職した。平成 27 年 8 月松村友美子助教が赴任した。平成 27 年 8 月から栗崎賀子技能補佐員が参加した。

A. 新規 IFN- γ 産生 $\gamma\delta$ T 細胞サブセットの解析

我々はこれまでに *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin (BCG)、*Listeria monocytogenes*、*Escherichia coli*、*Candida albicans* の感染マウスモデルを用いた研究により、感染早期に $\gamma\delta$ 型 T 細胞から産生されるインターロイキン (IL)-17A やインターフェロン (IFN) - γ が感染防御に寄与することを明らかにしている。 $\gamma\delta$ 型 T 細胞は外来抗原に暴露される前の胎生期に胸腺にて IL-17A や IFN- γ 産生能を獲得する自然リンパ球であり、近年同定された innate lymphoid cells (ILC) もその集団に属する。しかし ILC と異なり $\gamma\delta$ 型 T 細胞は V-D-J 遺伝子の再編成によって多様な抗原特異性が生み出される $\gamma\delta$ 型 T 細胞受容体 ($\gamma\delta$ 型 TCR) を発現する特

徴を有するが、機能制御における役割は不明である。我々は $\gamma\delta$ 型T細胞の胎児胸腺における機能分化機構を解析する過程で、新たなIFN- γ 産生 $\gamma\delta$ 型T細胞サブセット(DN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞)の存在を明らかにした。そこで本研究ではDN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞の末梢組織における局在と機能制御における $\gamma\delta$ 型TCRシグナルの役割を検討することを目的とした。 $\gamma\delta$ 型T細胞サブセットでDN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞のみが分化可能なBcl11b cKO マウスはBcl11b flox/flox マウス(新潟大学小南凌先生より供与)とRag-1-Cre マウスを掛け合わせることで作製した。Bcl11b cKO マウスを用いた解析で、DN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞はCD5陰性NK1.1陽性CD122陽性の表現型を示した。DN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞のIFN- γ 産生における $\gamma\delta$ 型TCRシグナルの役割を調べるため、Bcl11b cKO マウスより胸腺細胞を回収しin vitroにて $\gamma\delta$ TCR刺激後Ca²⁺の細胞内流入とIFN- γ 産生を調べた。WTマウス由来の $\gamma\delta$ 型T細胞は $\gamma\delta$ 型TCR刺激直後に顕著なCa²⁺の細胞内流入を認めたがBcl11b cKO マウス由来のDN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞においては著明に減少していた。一方 $\gamma\delta$ 型TCR刺激3日間後のIFN- γ 産生はDN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞からも誘導された。DN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞数の組織における局在や個体発生に伴う経時的变化を調べたところ、幼年期マウス(3週齢)の肝臓に特に多かった。そこで3週齢のBcl11b cKO マウスに*L. monocytogenes* (EGD株)を経静脈的に 1×10^5 (cfu/mouse)感染させ、DN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞からのIFN- γ 産生能を細胞内染色法にて調べた。その結果、感染1日目の肝臓におけるDN2a- $\gamma\delta$ 型T細胞はIFN- γ を産生した。本研究において同定した新たなIFN- γ 産生 $\gamma\delta$ 型T細胞サブセットは幼年期の肝臓に豊富に存在し、*Listeria*感染早期にIFN- γ 産生能を有していることが明らかとなった。

B. IL-7 または IL-21 による記憶T細胞／疲弊T細胞の選択的活性化

Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guérin (BCG) ワクチンは、成人の慢性結核症の防御に対しては不完全であり、それゆえ、BCGの代わる結核ワクチンの開発が早急に必要とされている。その原因の一つに結核感染防御を担う記憶T細胞が疲弊(exhausted)し、その機能の維持が難しいことがあげられる。Common gamma chain (γ c) receptor を共有するサイトカインファミリーは記憶T細胞の産生維持に深く関わっている。IL-7は記憶T細胞の増殖と維持に、IL-21は疲弊T細胞の再活性化に働く。本研究ではBCGワクチン接種後の記憶T細胞、疲弊T細胞の産生維持機構におけるIL-7とIL-21の役割を遺伝子操作マウスで検討し、結核菌由来の防御抗原であるAg85Bとこれらサイトカイン(IL-7 IL-21)の融合蛋白質を分泌するレコンビナント(r)BCGワクチンを作成して、結核感染に対する防御効果を検討し、新規結核感染制御法の開発を行った。

卵白アルブミン(OVA)発現 *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin (BCG-OVA)をインターロイキン21レセプター(IL-21R)ノックアウト(KO)マウスの気道内に感染させて、肺に存在する抗原特異的CD8T細胞をフローサイトメーターにて経時的に観察したところ、感染21日目の肺で抗原特異的IFN- γ 産生CD8T細胞の数がIL-21RKOマウスでwild type(WT)マウスに比べて有意に減少していた。IL-7R α (CD127)、CD122(β cR)、CD62、CCR6で染色したところ、エフェクター／メモリータイプが選択的に減少していることがわかった。しかしながら疲弊 exhausted T細胞はIL21RKOマウスとWTマウスに差を認められなかった。

IL-7R α KOマウスにTCR γ 鎖トランスジェニックマウスとかけあわせて分化してきた $\gamma\delta$ 型T

細胞の機能を末梢組織で検討したところ、肺で IFN- γ 産生 γ δ T 細胞が検出できたが、IL-17A 産生 γ δ 型 T 細胞は検出できなかった。Rosa26-loxP-stop-loxP-ICN1-IRES-GFP x MX1-Cre マウスで Notch シグナルを末梢で強制的に IL-7R 誘導したマウスを作成した。

IL-7, IL-21/Ag85B 融合蛋白質産生レコンビナント BCG (rBCG-IL-7, rBCG-IL-21) を作成してウェスタン法で Ag85B 融合 IL-7 および IL-21 蛋白質産生を確認した。

C. 関節リウマチにおける CD4T 細胞サブセットの包括的解析

関節リウマチ (RA) の病因 CD4T 細胞サブセットについては、今だ議論が分かれるところである。一時有力視された Th17 細胞についても、乾癬皮膚病変には極めて有効な IL-17 標的療法が、RA を含む関節炎にはあまり有効ではないことが明らかになった。また各サブセット間の可塑性や重複、新たなサブセットの存在も報告されている。そこで本研究では、RA 患者の末梢血と関節内の CD4T 細胞を包括的に比較解析することで、関節炎病態に関与するサブセット群を同定することを目的とする。RA 患者の末梢血、関節液、および関節滑膜組織からリンパ球を分離し、PMA とイオノマイシンでの短時間刺激後に産生されたサイトカインの細胞内染色を行った。最大 8 種類の蛍光色素を検出可能なフローサイトメーターを使用することで、CD4T 細胞サブセットの包括的な解析を行なった。末梢血、関節内いずれにおいても IFN- γ 産生細胞が最も多く、特に関節内に豊富に存在していた。末梢血ではこれに次いで GM-CSF を産生する独立した CD4T 細胞サブセットが多く存在し、その数は IL-17 や IL-4 の産生細胞を上回っていた。関節内でも GM-CSF 産生 CD4T 細胞を多く認めたが、それらのほとんどは IFN- γ も産生していた。RA 患者において、GM-CSF 産生 CD4T 細胞が関節にも比較的多く存在することがわかった。既に抗 GM-CSF 抗体の臨床試験もすすめられており、注目すべき細胞群と考えられた。

D. CD30 は中枢神経自己免疫疾患の新たな治療標的となる

CD30 は Th1 及び Th17 細胞分化に重要な役割を果たしている。しかし、中枢神経の自己免疫疾患の病態における役割は未だ不明であった。本研究で我々は、CD30 欠損 (KO) マウスが実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) に抵抗性を示し、抗原特異的 Th17 細胞が大きく減少していることを見出した。骨髓キメラマウスの解析によると、CD4 T 細胞の CD30 が EAE 発症に特に重要であり、CD30L/CD30 シグナルは、EAE 導入期とエフェクター期の両方において抗原特異的 CD4 T 細胞応答に関わっていることが明らかとなり、この CD30 が中枢神経自己免疫疾患の新たな治療標的となる可能性が示された。次に CD30L/CD30 遺伝子欠損マウスを用いて、IL-17A 産生 α β T 細胞の末梢組織で機能分化における CD30L/CD30 シグナルの役割について検討を行った。CD30L または CD30 KO マウスの末梢組織で抗原特異的 IL-17A 産生 CD4T 細胞の産生が有意に減少した。骨髓キメラマウスの解析によると、骨髓由来細胞の CD30L が特に重要であり、CD4 T 細胞の CD30L 逆方向性シグナルは Th17 細胞分化に必要なではなかった。以上より、CD30L/CD30 シグナルは、抗原特異的 CD4 Th17 細胞応答に関わっていることが明らかとなり、この CD30L/CD30 シグナルが Th17 細胞関与する炎症性疾患の新たな治療標的となる可能性が示された。

業績目録

原著論文

1. Hatano S., Hirose Y., Yamamoto Y., Murosaki S. and Yoshikai Y. 2015.
Scavenger receptor for lipoteichoic acid is involved in the potent ability of *Lactobacillus plantarum* strain L-137 to stimulate production of interleukin-12p40.
International Immunopharmacol. 25:321-331.
2. Shinoda K., Sun X., Oyamada A., Yamada H., Muta H., Podack E.R., Kira J., and Yoshikai Y. 2015.
CD30 ligand is a new therapeutic target for central nervous system autoimmunity.
J.Autoimmunity. 57:14-23.
3. Nakamura M., Shibata K., Hatano S., Sato T., Ohkawa Y., Yamada H., Ikuta K., and Yoshikai Y. 2015.
A genome-wide analysis identifies a notch-RBP-J κ -IL-7R α axis that controls IL-17-producing $\gamma\delta$ T cell homeostasis in mice.
J.Immunol. 194:243-51.
4. Izumi K., Mine K., Inoue Y., Teshima M., Ogawa S., Kai Y., Kurafuji T., Hirakawa K., Miyakawa D., Ikeda H., Inada A., Hara M., Yamada H., Akashi K., Niho Y., Ina K., Kobayashi T., Yoshikai Y., Anzai K., Yamashita T., Minagawa H., Fujimoto S., Kurisaki H., Shimoda K., Katsuta H. and Nagafuchi S. 2015.
Reduced Tyk2 gene expression in β -cells due to natural mutation determines susceptibility to virus-induced diabetes.
Nature Communication. 6:6748.
5. Takeuchi A., Eto M., Tatsugami K., Yamada H., Yokomizo A., Shiota M., Itsumi M., Inokuchi J., Kiyoshima K., Dejima T., Imada K., Naito S., Yoshikai Y. 2015.
Renal cancer treatment with recipient lymphocyte infusion enhanced the antitumor effect of nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation.
Transpl. Immunol. 32:131-9.
6. Sakuraba K., Fujimura K., Miyahara H., Esaki Y., Nakashima Y., Okazaki K., Fukushi J., Oishi M., Tashiro Y., Oyamada A., Iwamoto Y., Yoshikai Y., and Yamada H. 2015.
Air-liquid interface culture of rheumatoid synovium maintains its inflammatory characteristics.
Arthritis & Rheumatology. 67:887-92.
7. Nakamizo S., Egawa G., Tomura M., Sakai S., Tsuchiya S., Kitoh A., Honda T., Otsuka A., Nakajima S., Dainichi T., Tanizaki H., Mitsuyama M., Sugimoto Y., Kawai K., Yoshikai Y., Miyachi Y. and Kabashima K. 2015.
Dermal V γ 4 $^{+}$ $\gamma\delta$ T cells possess a migratory potency to the draining lymph nodes and modulate CD8 $^{+}$ T cell activity through TNF- α production.
J. Invest. Dermatology. 135:1007-15.
8. Abe, A., Tani-ichi, S., Shitara, S., Cui, G., Yamada, H., Miyachi, H., Kitano, S., Hara, T., Abe, R., Yoshikai, Y., and Ikuta, K. 2015.
An enhancer of the IL-7 receptor alpha-chain locus controls IL-7 receptor expression and maintenance of

- peripheral T cells.
J. Immunol., 195:3129-38.
9. Akitsu, A., Ishigame, H., Kakuta, S., Chung SH, Ikeda, S., Shimizu, K., Kubo, S., Liu, Y., Umemura, M., Matsuzaki, G., Yoshikai, Y., Saijo, S., and Iwakura Y., 2015.
IL-1 receptor antagonist-deficient mice develop autoimmune arthritis due to intrinsic activation of IL-17-producing CCR2+V γ 6+ γ δ T cells.
Nature Communication ;6:7464.
 10. Nakashima Y, Ohishi M, Okazaki K, Fukushi JI, Oyamada A, Hara D, Doi T, Akasaki Y, Yamada H, Iwamoto Y. 2015.
Delayed diagnosis of ankylosing spondylitis in a Japanese population.
Mod Rheumatol. 19:1-5.
 11. Akiyama M, Mawatari T, Nakashima Y, Miyahara H, Yamada H, Okazaki K, Fukushi J, Kondo M, Kishimoto J, Hashimura C, Iwamoto Y. 2015.
Prevalence of dyslipidemia in Japanese patients with rheumatoid arthritis and effects of atorvastatin treatment.
Clin Rheumatol. 34:1867-75.
 12. Shinoda K. Sun X., Oyamada A., Yamada H., Kira J., and Yoshikai Y. 2016.
Requirement of CD30 expression on CD4 T cells in the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis.
J.Neuroimmunol. 291:39-45.
 13. Fukushi J, Nakashima Y, Okazaki K, Yamada H, Mawatari T, Ohishi M, Oyamada A, Akasaki Y, Iwamoto Y. 2016.
Outcome of Joint-Preserving Arthroplasty for Rheumatoid Forefoot Deformities.
Foot Ankle Int. 37:262-8.
 14. Ohta Y., Niuro H., ota S., Ueki N. Tsuzuki H., Nakayama T., Mishima K., Higashioka K., jabbarzadeh-Tabrizi S., Mitoma H., Akahoshi M., Arinobu Y., Kukita A., Yamda H. Tsukamoto H. Akashi K. 2016.
Generation mechanism of RANKL+ effector memory B cells: its relevance to the pathogenesis of rheumatoid arthritis
Arthritis Research & Therapy 18(1):67
 15. Takeuchi A, Eto M, Tatsugami K, Shiota M, Yamada H, Kamiryo Y, Dejima T, Kashiwagi E, Kiyoshima K, Inokuchi J, Takahashi R, Yokomizo A, Ohara N, Yoshikai Y. 2016.
Antitumor activity of recombinant Bacille Calmette-Guérin secreting interleukin-15-Ag85B fusion protein against bladder cancer.
Int Immunopharmacol. 16;35:327-331.
 16. Hatanoa S. , Tamura T. Umemura M., Matsuzaki G., Ohara N., and Yoshikai Y. 2016.
Recombinant *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin expressing IL-7-Ag85B fusion protein enhances IL-17A-producing innate $\gamma\delta$ T Cells.
Vaccine in press.

総説

1. 吉開 泰信. 2015.
「 γ δ 型 T 細胞と細菌感染防御」, 化学療法領域, 31(7)1547- 1552
2. 吉開 泰信. 2015.
感染防御免疫
南山堂辞典, 南山堂

学会発表

1. 畑野晋也、柴田健輔、山田久方、吉開泰信 (2015, 7/10- 7/12)
マウスにおける新規 IFN- γ 産生 γ δ T細胞サブセットの解析
第 26 回日本生体防御学会学術総会、東京都
2. Shinya Hatano, Tesiin Murakami, Hisakata Yamada, and Yasunobu Yoshikai (2015, 9/4- 9/5)
Newly identified DN2- γ δ T cells developing in Bcl11b-independent manner.
第 68 回日本細菌学会九州支部総会、大分 (若手奨励賞)
3. 山田久方、岸裕幸、小澤龍彦、津田玲奈、村口篤、吉開泰信 (2015,10/22-24)
抗 CCP 抗体遺伝子導入マウスの B 細胞分化機能解析
第 43 回日本臨床免疫学会総会、東京都
4. Tesshin Murakami (2015,11/13)
Two types of IL-17A-producing γ δ T cells play critical roles in protection against pulmonary infection with *Klebsiella pneumoniae* in different activation manner.
The 25th Hot Spring Harbor international Symposium、福岡
5. Shinya Hatano, Tesiin Murakami, Hisakata Yamada, and Yasunobu Yoshikai (2015, 11/18- 11/20).
Analysis of a novel subset of IFN- γ -producing DN2a γ δ T cells in the periphery of mice.
第 44 回日本免疫学会学術集会、札幌 (ベストプレゼンテーション賞)
6. Tesshin Murakami, Shinya Hatano, Naoto Noguchi, Yasunobu Yoshikai (2015, 11/18- 11/20)
Two types of IL-17A-producing γ δ T cells play critical roles in protection against pulmonary infection with *Klebsiella pneumoniae* in different activation manners.
第 44 回日本免疫学会学術集会、札幌
7. 畑野晋也、村上哲晋、松村友美子、山田久方、吉開泰信 (2016, 3/23- 3/25).
Newly identified BCL11b-independent γ δ T cell subset in the periphery in mice.
第 89 回日本細菌学会総会、大阪
8. 村上哲晋、畑野晋也、山田久方、岩倉洋一郎、吉開泰信(2016, 3/23- 3/25)
Two types of IL-17A-producing γ δ T cells play critical roles against *Klebsiella pneumoniae*.
第 89 回日本細菌学会総会、大阪 (ポスター優秀賞)

免疫制御学分野（分子免疫学分野）

Division of Molecular and Cellular Immunology

教授：山崎 晶

Professor : Sho Yamasaki, Ph.D.

本分野では、免疫受容体を介する外界の適切な認識と免疫応答の制御機構の解明に注力して研究を行っている。生体は常に自己・非自己に起因する危機に曝されているが、我々の免疫系はこれを様々な免疫受容体で察知し、多様な細胞応答を惹起して個体の恒常性を維持している。当分野では、免疫受容体を介する自己・非自己の認識機構の分子基盤の解明を通して、感染性疾患、自己免疫疾患に対する有効な治療法の確立に寄与したいと考えている。

平成 27 年 4 月より卒業研究の研究室配属で医学部生命科学科 4 年の渡邊美幸が、修士課程大学院生として鳥越祥太が参加した。8 月まで短期留学生として研究を行っていた Zakaria Omahdi が、来年度博士課程進学までの間、技術補佐員として参加した。陸修遠は大学院修士課程を修了し、博士課程に進学し、岩井寛が学術研究員として参加した。平成 28 年 1 月から 4 月まで、ニュージーランドから短期留学生として Amy Foster が参加した。平成 28 年 3 月に土居梨映子が修士課程を修了した。また、学振特別研究員の豊永憲司が平成 28 年 4 月より鹿児島大学医学部に異動した。

現在、免疫受容体が自己・非自己・損傷自己を識別する戦略と普遍原理の解明を目指して、以下に掲げるテーマに関して研究を行っている。

A. C 型レクチンレセプターによる自己・非自己の認識と意義

a. C 型レクチン Mincle が認識する内因性リガンドの同定

C 型レクチン Mincle (macrophage inducible C-type lectin, Clec4e) はストレスに伴って発現が誘導され、炎症性サイトカイン産生等を促す活性化レセプターである。我々はこれまで、Mincle が生体の危機を感知して、炎症を促すセンサーとして機能することを見出しており、そのリガンドとして、結核菌由来のトレハロースジミコール酸 (TDM; trehalose-6,6'-dimycolate) をはじめ、病原性真菌由来の糖脂質を同定してきている。これらに加えて、新たな病原性細菌 2 種類から、新たな糖脂質リガンドを同定した。また、Mincle が損傷自己組織をも認識することから、新たな DAMPs (damage-associated molecular patterns) としての内因性リガンドの探索を行ったところ、2 種類の内因性脂質リガンドの同定に成功した。これらは慢性炎症疾患との関わりも深い脂質成分であり、こうした疾患への新たな治療の方法論を提供すると期待され

る。

b. 新規結核菌受容体の発見

これまで、C型レクチン受容体に属する Mincle, MCL, Dectin-2 が、同一の染色体上でクラスターを形成し、いずれも結核菌特有の糖脂質を認識する活性化受容体として機能していることを示してきた。近年、この領域に存在する新たなC型レクチン受容体が結核菌を直接認識することを見出した。この受容体は他のファミリーと異なり、単球由来炎症性マクロファージに局限して発現しており、そのリガンドはこれまでアジュバント活性が知られていた結核菌特有の糖脂質であった。

c. 新規抑制性C型レクチンの自己・非自己リガンドの同定

C型レクチンには未だリガンド不明の orphan receptor が数多く残されている。レポーター細胞を用いて、これら機能未知のレクチンレセプターの自己・非自己リガンドの探索を実施したところ、新たに病原性真菌を認識する受容体、結核菌を認識する受容体、未知の自己成分を認識する抑制性受容体 MICL を見出した。現在リガンドの同定、またその認識の生理的意義解明に注力した研究を推進している。

B. T細胞抗原受容体を介する自己の識別とT細胞分化の制御機構

a. positive/negative selection の分子機構

$\alpha\beta$ TCR を発現する未熟T細胞は、胸腺において認識する抗原の親和性に応じて生存、死の運命が決定される (positive/negative selection) と考えられている。ところが、TCR がどのような分子機構でリガンドの質的差異を識別し、異なる細胞応答を惹起しているのかは未だに不明である。近年我々は、positive selection に伴って強くリン酸化されるセリン・スレオニンキナーゼ protein kinase D (PKD) を見出し、PKD 欠損マウスを樹立したところ、CD4⁺ T細胞のみが特異的に消失することを見出した。また、プロテオミクスを用いて胸腺細胞における PKD の特異的な基質を同定した。当該マウスの解析を通して、受容体が抗原の微弱な質的違いを感知し、異なった細胞応答に振り分ける機構の普遍原理を明らかにすることを目指している。

b. 成熟T細胞の活性化と維持を担う分子機構の解明

成熟T細胞は、強い親和性のペプチドを認識して活性化される一方、弱い自己抗原を認識することによって末梢で維持されていると考えられている。ところが、TCR を介する末梢T細胞の維持機構は適切な実験系がなく、これまで不明であった。そこで、末梢T細胞特異的に Cre を発現するマウスを樹立し、細胞増殖・分化に重要な Erk1/2 を成

熟 T 細胞でのみ特異的に欠損するマウスを作成して解析したところ, 強さの異なるそれぞれの抗原に対する T 細胞応答における寄与に差異が見出された。

業績目録

原著論文

1. B. Kerscher, I.M. Dambuza, M. Christofi, D.M. Reid, S. Yamasaki, J.A. Willment, G.D. Brown. 2016.
Signalling through MyD88 drives surface expression of the mycobacterial receptors MCL (Clec4d) and Mincle (Clec4e) following microbial stimulation.
Microbes Infect. in press
2. B. Kerscher, G.J. Wilson, D.M. Reid, D. Mori, J.A. Taylor, G.S. Besra, S. Yamasaki, J.A. Willment, G.D. Brown. 2016.
The mycobacterial receptor, Clec4d (CLECSF8, MCL) is coregulated with Mincle and upregulated on mouse myeloid cells following microbial challenge.
Eur. J. Immunol. 46, 381-389.
3. M.B. Richardson, S. Torigoe, S. Yamasaki, S.J. Williams. 2015.
Mycobacterium tuberculosis β -gentiobiosyl diacylglycerides signal through the pattern recognition receptor Mincle: total synthesis and structure activity relationships.
Chem. Commun (Camb). 51, 15027-15030.
4. R. Kiyotake, M. Oh-Hora, E. Ishikawa, T. Miyamoto, T. Ishibashi, S. Yamasaki. 2015.
Human Mincle Binds to Cholesterol Crystals and Triggers Innate Immune Responses.
J. Biol. Chem. 290, 25322-25332.
5. Y. Miyake, M. Oh-Hora, S. Yamasaki. 2015.
C-Type Lectin Receptor MCL Facilitates Mincle Expression and Signaling through Complex Formation.
J. Immunol. 194, 5366-5374.
6. Y. Motomura, S. Kanno, K. Asano, M. Tanaka, Y. Hasegawa, H. Katagiri, T. Saito, H. Hara, H. Nishio, T. Hara, S. Yamasaki. 2015.
Identification of Pathogenic Cardiac CD11c⁺ Macrophages in Nod1-Mediated Acute Coronary Arteritis.
Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 35, 1423-1433.

総説

1. 清武良子、石川絵里、山崎晶. 2016.

- C 型レクチン受容体ヒト Mincle によるコレステロール結晶の認識.
生体の科学, 67, in press.
2. 塩川萌、山崎晶. 2016.
免疫系による異物認識機構.
膠原病・リウマチ・アレルギー研修ノート, in press.
 3. 本村良知、山崎晶. 2016.
川崎病の新しいマウスモデルにおける CD11c+マクロファージの意義.
臨床免疫・アレルギー科, 65, in press.
 4. 永田雅大、山崎晶. 2016.
C 型レクチン Mincle による死細胞の認識.
実験医学増刊「細胞死」, 34, 93-97.
 5. 柴田健輔. 2015.
 $\gamma\delta$ T 細胞の機能制御と疾患.
炎症と免疫, 23, 381-387.
 6. 森大輝、山崎晶. 2015.
死細胞を認識する C 型レクチン受容体.
臨床免疫・アレルギー科, 63, 425-430.
 7. 森大輝、山崎晶. 2015.
結核感染時の免疫応答における Mincle, Dectin-2 の役割について.
感染炎症免疫, 45, 63-64.

著書

1. Masahiro Nagata, Zakaria Omahdi, Sho Yamasaki. 2016.
Pathogen-Sensing by Mincle: Function and Molecular Aspects.
C-Type Lectin Receptors in Immunity, p15-34, Springer.
2. Sho Yamasaki. 2016.
C-Type Lectin Receptors in Immunity.
Editor Sho Yamasaki, Springer.

学会発表

1. Sho Yamasaki (2015, 4/16).
Recognition of glycolipids through C-type lectin receptors and immune responses.
Victoria University of Wellington Seminar, Wellington, New Zealand.
2. 大洞将嗣, 陸修遠, 山崎晶 (2015, 5/15-16).
Deficiency of Stim-dependent Ca^{2+} entry in T cells promotes IL-4-producing follicular helper T cell

differentiation and causes chronic inflammation.

第 25 回 Kyoto T cell Conference, 京都.

3. 石川絵里, 齊藤隆, 山崎晶 (2015, 5/15-16).

T 細胞分化における PKD の基質及び下流分子の同定.

第 25 回 Kyoto T cell Conference, 京都.

4. 山崎晶 (2015, 5/27).

レクチン受容体を介した病原体認識と免疫応答.

東大医科研学会セミナー, 東京.

5. 山崎晶 (2015, 5/28-29).

C 型レクチン受容体による糖脂質認識と免疫応答.

第 57 回日本脂質生化学会, 東京.

6. Sho Yamasaki (2015, 6/7-12).

Immune Responses to Mycobacterial components through C-type Lectin Receptors.

FASEB Science Research Conferences “Signal Transduction in the Immune System”, Big Sky, USA.

7. Masahiro Nagata, Rieko Doi, Eri Ishikawa, Tomofumi Miyamoto, Sho Yamasaki (2015, 6/7-6/12).

Role of C-type lectin receptor Mincle in immune responses to *Helicobacter pylori*.

FASEB Science Research Conferences “Signal Transduction in the Immune System”, Big Sky, USA.

8. 山崎晶 (2015, 7/11-12).

死細胞認識受容体 Mincle が認識する内因性糖脂質の探索.

第 24 回日本 Cell Death 学会学術集会, 大阪.

9. 山崎晶 (2015, 7/21-24).

レクチン受容体を介する免疫応答.

第 17 回免疫サマースクール 2015, 淡路.

10. Masatsugu Oh-hora, Xiuyuan Lu, Sho Yamasaki (2015, 7/23-24).

Role of STIM-mediated calcium signaling in immune system.

The 10th International Symposium of the Institute Network, 札幌.

11. 山崎晶 (2015, 7/31).

レクチン受容体を介する結核菌認識と免疫応答.

沖縄感染免疫シンポジウム 2015, 沖縄.

12. 山崎晶 (2015, 8/19-20).

レクチン受容体による糖脂質認識と免疫応答.

糖鎖免疫研究会 Glyco-immunology 2015, 東京.

13. Sho Yamasaki, Yoshitomo Motomura (2015, 9/19-21).

Identification of Pathogenic Cardiac CD11c⁺ Macrophages in Coronary Arteritis Similar to Kawasaki Disease.

- The 4th CSI/JSI/KAI Joint Symposium on Immunology, Suzhou, China.
14. Sho Yamasaki (2015, 10/21-23).
Recognition of damaged self through Mincle.
Japan Australia Meeting on Cell Death, Melbourne, Australia.
 15. Sho Yamasaki (2015, 11/5).
Recognition of Mycobacterial Adjuvants through C-type Lectin Receptors.
International Meeting of the Federation of Korean Microbiological Societies, Ilsan, Korea.
 16. Sho Yamasaki (2015, 11/6).
Immune responses to mycobacteria through C-type lectin receptors.
Seminar at Chungnam National University, Daejeon, Korea.
 17. Masatsugu Oh-hora, Xiuyuan Lu, Sho Yamasaki (2015, 11/18-20).
T-cell specific loss of store-operated calcium entry causes Th2-type chronic inflammation.
第44回日本免疫学会学術集会, 札幌.
 18. 柴田健輔, Surenchimeg Mondo, 山崎晶, 吉開泰信 (2015, 11/18-20).
Helper T cell-independent development of fatal autoimmune pancreatitis.
第44回日本免疫学会学術集会, 札幌.
 19. Ishikawa Eri, Saito Takashi, Yamasaki Sho (2015, 11/18-20).
Search for substrates of Protein kinase D during thymocyte development.
第44回日本免疫学会学術集会, 札幌.
 20. Shiokawa Moe, Ishikawa Eri, Ogata Masato, Saito Takashi, Yamasaki Sho (2015, 11/18-20).
Engagement of TCR with foreign and self antigens trigger distinct signaling pathways to generate different T cell responses.
第44回日本免疫学会学術集会, 札幌.
 21. 今井崇史, 永田雅大, 山崎晶 (2015, 11/18-20).
Identification of Mincle ligands in *Streptococcus pyogenes* and its function on the pathogenesis.
第44回日本免疫学会学術集会, 札幌.
 22. Torigoe Shota, Mori Daiki, Yamasaki Sho (2015, 11/18-20).
Recognition of mycobacteria through human inhibitory C-type lectin receptor.
第44回日本免疫学会学術集会, 札幌.
 23. 永田雅大, 土居梨映子, 宮本智文, 石川絵里, 山崎晶 (2015, 11/23-11/25).
C型レクチン Mincle による *Helicobacter pylori* 認識機構と免疫応答.
第9回細菌学若手コロッセウム, 鹿児島.
 24. 山崎晶 (2015, 12/1-4).
レクチン受容体による糖脂質認識と免疫応答.
第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会合同大会, 神戸.

25. 山崎晶 (2015, 12/18).
結核菌アジュバント認識機構と免疫応答.
基盤研セミナー, 大阪.
26. 山崎晶 (2016, 1/5).
C 型レクチン受容体を介する免疫応答.
Advanced Seminar, 大阪.
27. Moe Shiokawa, Eri Ishikawa, Masato Ogata, Takashi Saito, ShoYamasaki (2016, 1/17-1/22).
Engagement of TCR with Foreign and Self Antigens Trigger Distinct Signaling Pathways to Generate Different T Cell Responses.
The 5th NIF Winter School on Advanced Immunology, 淡路.
28. 山崎晶 (2016, 1/19).
結核菌アジュバント認識機構と免疫応答.
第 9 回次世代アジュバント研究会, 大阪.
29. 鳥越祥太, 山崎晶 (2016, 1/19).
Optimization of glycolipid adjuvant for C-type lectin receptor, Mincle.
第 9 回次世代アジュバント研究会, 大阪.
30. 森大輝, 山崎晶 (2016, 1/26-28).
C 型レクチン受容体 Dectin-2 の新規内在性リガンドの探索.
酸素生物学・ダイニングコード若手合同会議, 千葉.
31. 山崎晶 (2016, 3/2).
Recognition of damaged self through C-type lectin receptors.
Environment controlling normal and diseased hematopoietic and immune systems, 横浜.
32. 山崎晶 (2016, 3/3).
C 型レクチンを介するアジュバント認識と免疫応答.
岡山免疫懇話会, 岡山.
33. 山崎晶 (2016, 3/9-11).
Recognition of mycobacteria through C-type lectin receptors.
第 89 回日本薬理学会年会, 横浜.
34. 山崎晶 (2016, 3/17).
結核菌認識受容体と免疫応答.
感染免疫ミニシンポジウム, 東京.

分子免疫学分野

Division of Molecular Immunology

I. 准教授：大洞 将嗣 Associate Professor : Masatsugu Oh-hora, Ph.D.

本分野では、生体内イオンによる免疫応答の制御機構の解明に注力して研究を行っている。生体内には、カルシウム、マグネシウム、カリウムなど様々なイオンが存在し、それぞれ様々な組織や細胞で重要な機能を持つ。免疫細胞も、免疫受容体刺激によって細胞内と細胞外でイオンの流出入が生じ、多様な細胞応答を惹起して免疫システムの恒常性を維持している。当分野では、免疫細胞におけるカルシウムシグナルの活性化機構と標的分子による機能発現の解析することによって、免疫細胞の分化、感染防御、自己免疫疾患発症の分子基盤を解明し、新規免疫療法の確立に貢献したいと考えています。

A. カルシウムシグナルによる免疫細胞の制御機構

a. カルシウムによる「アゴニスト選択」／「正の選択」の制御機構の解明

これまでの研究から、STIM1 や STIM2 によって制御されるストア作動性カルシウム流入は、制御性 T 細胞などの「アゴニスト選択」される T 細胞の分化を制御していることが明らかとなった。その分子メカニズムを説明する候補の 1 つとして、ストア作動性カルシウム流入で活性化されるカルシウムシグナルが、エピジェネティックな変化を制御する分子の発現を制御していることを見いだしており、現在これらの分子の発現制御機構を解析中である。また、それらの T 細胞特異的な遺伝子欠損マウスを作製中である。

一方、ストア作動性カルシウム流入は、「正の選択」には必須ではないことも明らかとなった。カルシウム依存性脱リン酸化酵素カルシニューリンが、「正の選択」を制御していることが明らかにされている。しかし、カルシニューリンを活性化させるカルシウム流入機構は依然として不明であるため、どのようなチャネルがカルシニューリンによる「正の選択」を支持しているのかを解析中である。現在までに、阻害剤を用いた実験から、複数のカルシウム透過性チャネルを候補として同定した。また現在、「正の選択」におけるカルシニューリンの標的分子の同定を、リン酸化プロテームや RNA シーケンスなどを駆使して行っている。

b. 樹状細胞におけるカルシウム流入の制御機構とその意義の解明

免疫応答における樹状細胞のシグナル伝達経路は、NF- κ B 経路を中心に解析が行われており、カルシウムシグナル経路の役割はほとんど明らかにされていない。これまでの

研究から, ITAM モチーフを有する C 型レクチン受容体, ITAM モチーフを有する FcR γ と結合する受容体は, ホスホリパーゼ C γ の活性化を介して, ストア作動性カルシウム流入も活性化することがわかっている. 現在, 樹状細胞におけるカルシウムシグナルの活性化機構とその下流の標的分子の同定, 炎症応答や感染防御といった個体レベルの解析を行っており, カルシウムシグナルを欠損した樹状細胞をもつマウス個体において有意な表現型を認めている.

c. ストア作動性カルシウム流入の異常による疾患発症メカニズムの解析

これまでの研究から, 制御分子 STIM1 とチャネル ORAI1 で制御されるストア作動性カルシウム流入を欠損することによって, 重症複合免疫不全症候群と自己免疫疾患を同時に発症することを明らかにしている. この自己免疫疾患の特徴として, 特定の T 細胞が IL-4 を産生することによって胚中心 B 細胞の増加, それに伴う血清中の抗体量の増加であることを明らかにしている. 現在, さらなる自己免疫疾患発症の分子制御機構の解析を行っている.

業績目録

原著論文

1. Miyake Y, Oh-hora M, Yamasaki S. 2015.
C-type lectin receptor MCL facilitates Mincle expression and signaling through complex formation.
J Immunol. 94, 5366-5374.
2. Garcia-Alvarez G, Shetty MS, Lu B, Yap KA, Oh-hora M, Sajikumar S, Bichler Z, Fivaz M. 2015.
Impaired spatial memory and enhanced long-term potentiation in mice with forebrain-specific ablation of the Stim genes.
Front Behav Neurosci. 9, Article 180.
3. Kiyotake R, Oh-hora M, Ishikawa E, Miyamoto T, Ishibashi T, Yamasaki S. 2015.
Human Mincle binds to cholesterol crystals and triggers innate immune responses.
J Biol Chem. 290, 25322-25332.
4. McDonald BD, Bunker JJ, Erickson SA, Oh-hora M, Bendelac A. 2015.
Crossreactive $\alpha\beta$ T cell receptors are the predominant targets of thymocyte negative selection.
Immunity. 43, 859-869.

学会発表

1. 大洞将嗣, 陸修遠, 山崎晶 (2015, 5/15-5/16)
Deficiency of Stim-dependent Ca²⁺ entry in T cells promotes IL-4-producing follicular helper T cell differentiation and causes chronic inflammation.
Kyoto T cell Conference, 京都.

2. Masatsugu Oh-hora, Xiuyuan Lu, Sho Yamasaki (2015, 7/23-7/24)
Role of STIM-mediated calcium signaling in immune system.
The 10th International Symposium of the Institute Network, 札幌.
3. Soichiro Yoshikawa, Masatsugu Oh-hora, Kensuke Miyake, Lihua Li, Takuya Ohta, Kayo Horiguchi, Yoshinori Yamanishi, Hajime Karasuyama (2015, 6/4-6/5)
Endoplasmic reticulum calcium sensors, Stim1 and Stim2, control dendritic cell functions.
NIPS International Workshop, TRPs and SOC_s, 岡崎.
4. Masatsugu Oh-hora, Xiuyuan Lu, Sho Yamasaki (2015, 11/18-11/20)
T-cell specific loss of store-operated calcium entry causes Th2-type chronic inflammation.
第44回日本免疫学会学術集会, 札幌.