

研究課題別評価

1 研究課題: サイトカイン受容体による初期 Th1 誘導機構の解明

2 研究者氏名: 吉田 裕樹

グループメンバー: 山中 篤志(研究期間: H14.4.1～H15.3.31)

宮崎 義之(研究期間: H15.4.1～H16.4.30)

王 森(研究期間: H16.7.2～H17.3.31)

3 研究の狙い:

サイトカインは、免疫反応を制御する重要な分子群である。このなかで、インターロイキン(IL)-12は、細胞内寄生性病原体の排除に重要な役割を果たすTh1反応の誘導に必須のサイトカインである。近年、IL-12に類似したサイトカイン、IL-23およびIL-27が同定された。研究者はリガンド不明のサイトカイン受容体「WSX-1」のノックアウトマウスの解析により、この受容体がTh1反応の誘導に必須の役割を果たしている事を明らかにしており、このWSX-1のリガンドがIL-27であることが示唆されるようになった。そこで、本研究ではWSX-1ノックアウトマウスの解析を中心に、この分子の生体内における役割を解明し、またWSX-1のリガンドの同定やシグナル伝達経路の解析を行うことを目的とした。さらにこの経路を恣意的に制御することによる新規疾患治療法の開発を目指した。具体的には、以下の4つの項目を目標として設定した。

1. WSX-1のリガンドの同定、副受容体の同定、および下流のシグナル伝達経路の解明。
2. 種々の病原体に対する、サイトカインを介した感染防御機構におけるWSX-1の役割の解析
3. サイトカイン産生異常や過剰な免疫反応により引き起こされる自己免疫疾患の病態形成におけるWSX-1の役割の解明
4. 1-3により得られた知見に基づき、抗体やサイトカイン投与によるWSX-1シグナル制御法の確立と疾患治療への応用

4 研究成果:

1) WSX-1のシグナル伝達機構の解明に関しては、そのTh1反応誘導能に注目し、シグナル伝達因子の結合・活性化に注目して実験を行った。WSX-1の下流では、Jak1/STAT1が活性化する事を確認し、このSTAT1の活性化を介してTh1細胞特異的転写因子T-betの発現が誘導されることを明らかにした。またIL-27がWSX-1の生理的リガンドである事を明らかにした。一連の実験結果から、IL-27/WSX-1が、IL-12よりも早期にTh1細胞分化を決定付ける重要な因子であることを示した。このことは、WSX-1が感染早期のTh1反応の誘導に重要であるという研究者の報告を裏付けるものであった。副受容体に関しては、IL-6受容体のシグナル伝達因子gp130がその候補であると考えられるが、以下に述べる、「WSX-1シグナルによる炎症反応の抑制」、という観点からの詳細な確認が必要である。

2) WSX-1欠損マウスでは、Th1反応の障害により原虫*Leishmania major*感染に対する抵抗性が減弱するという知見に基づき、さまざまな感染実験を行ったところ、WSX-1の新しい役割が浮かび上がってきた。腸管内寄生性線虫*Trichuris muris*感染では、ノックアウトマウスにおいて予想通りTh1反応の減弱とそれに伴うTh2反応の亢進により虫体の排除能が高まっていた。しかしながら、細胞内寄生性原虫*Trypanosoma cruzi*や*Toxoplasma gondii*感染においては、ノックアウトマウスにおいて予想に反してTh1関連サイトカインに加えさまざまな炎症性サイトカインの過剰産生が生じ、マウスが炎症による肝障害などで死亡することが明らかになった。最も興味深い例は、結核菌感染実験のもので、ノックアウトマウスにおいて、防御に関するサイトカインが過剰に産生され

るために感染後の菌数自体は減少するもののこの過剰なサイトカイン産生により個体は炎症により死亡してしまう、という結果が得られている。これらの結果から、免疫反応が病原体を排除する反応と自己に対する障害の抑制という微細なバランスの上に成り立っていることが推察された。

3) WSX-1 を欠損するマウスでは、自己抗原により引き起こされる Th1 サイトカイン依存性実験的ぶどう膜炎に対する抵抗性が認められた。また、ヒト SLE に類似した病態を示すマウスと交配した WSX-1 欠損マウスにおいては、糸球体腎炎の病態変化が認められ、病態解明、および治療薬の開発という点から新しい糸球体腎炎のモデルマウスが得られた。WSX-1 欠損マウスでは、サイトカインによる実験的炎症性腸炎の症状が軽減しており、ヒトの炎症性腸炎にも IL-27/WSX-1 の関与が示唆された。マウスにおけるアレルギー性喘息のモデル実験では、WSX-1 ノックアウトマウスは炎症性サイトカインの過剰産生のため病状・組織像の悪化を示した。

4) シグナル伝達阻止型の抗 WSX-1 受容体抗体作成を試みたが、抗原性の低さのため有効な抗体を得られていない。リコンビナント IL-27 や IL-27 発現プラスミドは一部の感染に対して Th1 反応誘導により防御能を亢進させる働きが確認できた。

5 自己評価:

当初の目的であった、Th1 反応の誘導における WSX-1 の役割、という観点からは、1) WSX-1 の下流におけるシグナル伝達経路の解明、リガンドの同定、副受容体(候補分子)の同定、2) いくつかの感染実験において WSX-1 欠損により Th1 反応の減弱と感染抵抗性の減弱が認められたこと、3) ある種の自己免疫疾患の病態形成における IL-27/WSX-1 の役割が明らかにできたこと、4) IL-27 により感染防御能の亢進効果が認められたこと、などから一定の成果が得られたものと考えている。

IL-27/WSX-1 に炎症・免疫反応抑制効果があるという知見は予想外であったが、この IL-27/WSX-1 の新しい役割の発見は、IL-23 も含めて「IL-12 関連サイトカインによる炎症制御」という新しい研究分野の確立につながった。本研究の対象ではない IL-23 に炎症惹起作用があることが明らかにされたこととあわせて、IL-12 サイトカインファミリーによる、Th1/2 という概念とは異なるあたらしいパラダイムの確立が予感される。また実際面でも IL-27/23 シグナルの制御によるさまざまな炎症性疾患の治療法が期待されている。しかしながら、IL-27 による炎症抑制機構の詳細は明らかではなく、本研究でも感染実験においてこの抑制作用が明らかになった後、その分子メカニズムの解明を目指したが、研究期間内にはその全貌を示すことはできなかった。今後、本研究において得られた結果をもとに、免疫反応の誘導と抑制の使い分けのメカニズムが明らかにできるものと考えている。

IL-27/WSX-1 シグナル制御による疾患治療法の確立、という目標に関しては、リガンド投与による Th1 反応の誘導、あるいは WSX-1 シグナル抑制による Th1 型自己免疫疾患の予防・治療に対する実験的レベルにおける道筋が得られたものと考えている。しかしながら、同じ IL-27/WSX-1 が炎症反応を抑制する働きも有することが示されたことから、単純にリガンドや阻止抗体などを投与すると期待と逆の効果が得られる可能性が浮かび上がってきた。したがって、IL-27/WSX-1 のシグナル伝達系—Th1 誘導能、および炎症抑制能の両面に関して一の解明、そしてさまざまな病態におけるそれぞれの機能の使い分けのメカニズムを解明することが必須であり、この理解をもって初めて WSX-1 シグナル制御の治療応用が可能になるものと考えられた。

総体的には、研究開始当初に掲げた目標はおおむね達成できたものと考えているが、研究の過程で得られた WSX-1 の役割に関する新しい知見に関しては、現象面の解析が多くなり、抗体作製がうまく行かなかったことなどのため、その分子レベルでの解明が進まなかったことが残念である。しかし、新しい研究分野、あるいは概念を確立できたことは一定の評価に値するものと考えており、引き続き分子レベルでの解析、およびさまざまな病態における IL-27/WSX-1 の役割の解析を行い、最終的には治療応用を目指した研究を続けて行きたい。

6 研究総括の見解:

リガンド不明のサイトカイン受容体 WSX-1 の生体内における役割を解明し、WSX-1 のリガンドを同定し、シグナル伝達経路を解析することを目的とした研究である。WSX-1 のリガンドが IL-27 であることを示し、WSX-1 が Th1 反応の減弱と感染抵抗性の減弱に関与することを証明した。IL-27/WSX-1 が炎症反応を抑制することを明らかにしたことは、今後、新しい研究展開があるものと期待される。

7 主な論文等:

著書および総説

1. Yoshida, H., Hamano, S. & Miyazaki, Y. The role of WSX-1 (IL-27R) as an initiator and attenuator of immune responses and inflammation. *Recent Res Devel Immunology* **6**, 123-134, 2004.
2. Yoshida, H., Hamano, S. & Miyazaki, Y. Double identity of WSX-1 (IL-27R) as an initiator and attenuator of immune responses: Regulation by WSX-1 of pro-inflammatory cytokine production in the liver. *Mucosal Immunology Update* **12**, 7-9, 2004.
3. Yoshida, H., Hamano, S. & Miyazaki, Y. The Double Identity of WSX-1 (IL-27R) as an Initiator and Attenuator of Immune Responses. *Current Immunology Reviews* **1**, 55-60, 2005.
4. 吉田裕樹: Th1 分化と新規 IL-12 ファミリーメンバー. *Molecular Medicine* **40**:1296-1301, 2003.
5. 吉田裕樹: T 細胞系サイトカインとシグナル. *分子細胞治療* **3**:229-232, 2004.
6. 吉田裕樹, 濱野真二郎: IL-27 受容体(WSX-1)による Th1 誘導と炎症性サイトカインの産生制御. *臨床免疫* **42**: 485-489, 2004.
7. 吉田裕樹, 濱野真二郎: IL-27 受容体(WSX-1)による Th1 誘導と炎症性サイトカイン産生抑制. *Molecular Medicine 臨時増刊号* **41**:137-143, 2004.

原著論文

1. Takayanagi, H., Kim, S., Koga, T., Nishina, H., Isshiki, M., Yoshida, H., Saiura, A., Isobe, M., Yokochi, T., Inoue, J., Wagner, E. F., Mak, T. W., Kodama, T., and Taniguchi, T.: Induction and Activation of the Transcription Factor NFATc1 (NFAT2) Integrate RANKL Signaling in Terminal Differentiation of Osteoclasts. *Dev Cell* **3** (6): 889-901, 2002.
2. Takeda, A., Hamano, S., Yamanaka, A., Hanada, T., Ishibashi, T., Mak, T. W., Yoshimura, A., and Yoshida, H.: Cutting Edge: Role of IL-27/WSX-1 Signaling for Induction of T-Bet Through Activation of STAT1 During Initial Th1 Commitment. *J Immunol* **170** (10): 4886-4890, 2003.
3. Hanada, T., Yoshida, H., Kato, S., Tanaka, K., Masutani, K., Tsukada, J., Nomura, Y., Mimata, H., Kubo, M., and Yoshimura, A.: Suppressor of cytokine signaling-1 is essential for suppressing dendritic cell activation and systemic autoimmunity. *Immunity* **19** (3): 437-50, 2003.
4. Villarino, A., Hibbert, L., Lieberman, L., Wilson, E., Mak, T., Yoshida, H., Kastelein, R. A., Saris, C., and Hunter, C. A.: The IL-27R (WSX-1) Is Required to Suppress T Cell Hyperactivity during Infection. *Immunity* **19** (5): 645-655, 2003.
5. Hamano, S., Himeno, K., Miyazaki, Y., Ishii, K., Yamanaka, A., Takeda, A., Zhang, M., Hisaeda, H., Mak, T. W., Yoshimura, A., and Yoshida, H.: WSX-1 Is Required for Resistance to *Trypanosoma cruzi* Infection by Regulation of Proinflammatory Cytokine Production. *Immunity* **19** (5): 657-667, 2003.
6. Yamanaka, A., Hamano, S., Miyazaki, Y., Ishii, K., Takeda, A., Mak, T. W., Himeno, K., Yoshimura,

- A., and Yoshida, H.: Hyperproduction of Proinflammatory Cytokines by WSX-1-Deficient NKT Cells in Concanavalin A-Induced Hepatitis. *J Immunol* 172 (6): 3590-3596, 2004.
7. Bancroft, A. J., Humphreys, N. E., Worthington, J. J., Yoshida, H., and Grencis, R. K.: WSX-1: A Key Role in Induction of Chronic Intestinal Nematode Infection. *J Immunol* 172 (12): 7635-41, 2004.
 8. Artis, D., Villarino, A., Silverman, M., He, W., Thornton, E. M., Mu, S., Summer, S., Covey, T. M., Huang, E., Yoshida, H., Koretzky, G., Goldschmidt, M., Wu, G. D., de Sauvage, F., Miller, H. R., Saris, C. J., Scott, P., and Hunter, C. A.: The IL-27 receptor (WSX-1) is an inhibitor of innate and adaptive elements of type 2 immunity. *J Immunol* 173 (9): 5626-34, 2004.
 9. Hölscher, C., Hölscher, A., Yoshimoto, T., Yoshida, H., Mak, T., Saris, C., and Ehlers, S.: The IL-27 receptor chain WSX-1 differentially regulates antibacterial immunity and survival during experimental tuberculosis. *J Immunol*, in press.

学会発表

国内 11 回、国際 11 回