免疫シグナル研究グループ

Laboratory for Cell Signaling

グループディレクター 齊藤 隆
SAITO, Takashi

当研究グループでは、免疫制御の中心的役割を担う T 細胞の抗原認識および活性化シグナル伝達機構の解析を行い、それに関与する分子と制御メカニズムの解明を進めている。(1) T 細胞の活性化シグナル伝達に、自然免疫シグナルに重要な IRAK-4 が関与することを見いだした。(2) T 細胞活性化の負の制御を司る CTLA-4 が、T 細胞分化の負の選択にも関与すること、制御性 T 細胞の抑制機能には必要ではないことを明らかにした。(3) IgE 単独によるマスト細胞の生存延長の分子機構を解明し、sustained なシグナルを誘導することによって IL-3 を産生し、オートクライン増殖することが明らかになった。

1. T 細胞活性化シグナル制御の解析 (鈴木 (信), 鈴木 (忍), 原, 今西, 海野, 石原)

T 細胞の抗原認識に伴う初期活性化の制御は、T 細胞レセプター (TCR) を介するシグナルによって主に担われている。我々は、自然免疫系のシグナル伝達分子が獲得免疫系の代表としての T 細胞応答の制御に関与しているかを解析した。IRAK-4 は、TLR, IL-1R/IL-18R を介する自然免疫シグナルを中心的に担っており、IRAK-4 欠損マウスでは、これらの自然免疫系の活性化は起こらない。IRAK-4 欠損マウスでは *in vivo* での T 細胞応答が極端に抑制されていた。そこで *in vitro* で T 細胞のみの活性化を解析した結果、T 細胞の増殖、細胞周期、サイトカイン産生などが強く抑制された。T 細胞活性化に関与する 2 つの主要な転写因子、NF-AT と NF- κ B の解析から、IRAK-4 は NF- κ B の制御に重要であることが判明した。これから、T 細胞活性化でも NF- κ B 制御には、自然免疫系と同様に IRAK-4 をシグナル伝達分子として用いており、他の自然免疫系の分子も関与している可能性を示す。また、T 細胞には TLR も発現していることから、TLR と TCR との直接のクロストークの可能性も示唆している。

2. 抑制性 co-stimulation の *in vivo* 機能の解析 (横須賀, 竹内, 小林)

CTLA-4 は、T 細胞活性化の抑制シグナルを誘導する負の co-stimulation 受容体であり、CTLA-4 欠損マウスではリンパ球の異常増殖で早期に死亡する。*In vivo* での機能を解析するために CTLA-4 とその細胞内領域を欠損した変異 CTLA-4 のトランスジェニックマウスを作製し欠損マウスと掛けあわせたマウスを解析した。CTLA-4 を高発現すると、胸腺内での T 細胞の負の選択が抑制され、MIs 特異的な自己反応性 T 細胞が出現し、T 細胞分化制御にも CTLA-4 が関与することが判明した。また、細胞内領域のない CTLA-4 でも異常増殖症を抑制することができた。一方、CD4+CD25+制御性 T 細胞 (Treg) では、CTLA-4 が発現していて抑制活性に関与することが示唆されてきたが、CTLA-4 の高発現マウス (Tg) と欠損マウスの解析から、CTLA-4 は Treg の抑制機能には関与しないことを明らかにした。これらから、CTLA-4 は T 細胞そのものの抑制活

性ととともに、Treg のホメオスタシスに関与することが示唆された。

3. マスト細胞における脱顆粒と生存のシグナルの分岐制御 (山崎, 河野, 石川, 佐久間)

マスト細胞の活性化は I 形アレルギーを誘導し、その活性化制御はアレルギー制御に繋がる。IgE が高親和性 IgE 受容体 (Fc ϵ RI) に結合して抗原で架橋されると脱顆粒が誘導されるのに対して、IgE で「感作」するだけでシグナルが誘導され、生存延長を導くことが最近示されたが、その機序は不明であった。我々は、IgE によるマスト細胞の生存延長も、抗原架橋による脱顆粒と同様に FcR γ -ITAM を介するシグナルによること、短く強いシグナルは脱顆粒を誘導するが、長く弱いシグナルは生存延長を誘導することを見いだした。生存延長の誘導機序としては PI3K/Akt 経路は関与せず、この sustained シグナルの結果として大量の IL-3 が産生され、オートクラインに働いて Bcl ファミリー分子を誘導することによることを明らかにした。

Our team is focusing on the analysis of the regulation of T cell function, such as antigen recognition, T cell activation, negative regulation, T cell differentiation, and the disruption of T cell function. Particularly we emphasize the dynamic regulation of T cell recognition/activation in both at the single cell level as well as T cell homeostasis in a clonal population. Particularly in this year, (1) we found that IRAK-4, a critical mediator in signal transduction of innate immunity, is involved in TCR signaling. (2) Negative co-stimulation receptor CTLA-4 is involved in negative selection of thymocytes but is dispensable for suppressive function of CD4+CD25+regulatory T cells. (3) we unveiled the mechanism regulating the branching signal for degranulation vs. cell survival upon stimulation with IgE+antigen vs. IgE alone.

1. Regulation of signal transduction for T cell activation

Early activation of T cells upon antigen-recognition is mainly regulated by signals through TCR. We analyzed whether signal molecules critical in innate immunity is involved in T cell responses as acquired immunity. IRAK-4

plays a central role in signal transduction of TLR and IL-1R/IL-18R, and IRAK-4-deficient mice failed to respond to such innate immunity. *In vivo* T cell responses were impaired in IRAK-4-deficient mice. Analyses of isolated T cells revealed functional impairment in proliferation, cell cycle regulation and cytokine production. T cell stimulation triggers two major transcription factors, NF-AT and NF- κ B, and IRAK-4 is critical for NF- κ B but not NF-AT. This observation that signaling molecule critical for innate immunity is involved in acquired immunity particularly for NF- κ B regulation raises the possibility of involvement of other molecules in innate immunity.

2. In vivo function of negative co-receptor CTLA-4

Cytotoxic T lymphocyte Antigen-4 (CTLA-4) is a major inhibitory co-stimulation receptor in T cells that mediates inhibitory signals. CTLA-4-deficient mice die in early life due to lymphoproliferative disorder. To analyze in vivo function of CTLA-4, we made CTLA-4 and its mutant lacking the cytoplasmic tail and crossed with the deficient mice. Overexpression of CTLA-4 suppressed negative selection of thymocytes and resulted in generation of autoreactive T cells. The lymphoproliferative disease was cured by even tail-less CTLA-4Tg mice. On the other hand, CD4+CD25+regulatory T cells (Treg) constitutively express CTLA-4 and it has been suggested that CTLA-4 is critical in their suppressive function. However, analyses of overexpression (Tg mice) or deficiency (KO mice) of CTLA-4 revealed that CTLA-4 is not involved in suppressive function. We rather suggest that CTLA-4 may be involved in homeostasis of Treg in the periphery.

3. Signal branching for degranulation vs. survival of mast cells

Crosslinking of the high affinity IgE receptor, Fc ϵ RI, on mast cells by IgE and multivalent Ag initiates cascades leading to various allergic responses. IgE alone in the absence of antigen (IgE (-Ag)) actively promotes mast cell survival. We have demonstrated that Fc ϵ RI γ -ITAM is essential for IgE-induced mast cell survival similar to IgE+Ag stimulation, found its mechanism that stimulation of mast cells with IgE (-Ag) but not IgE+Ag induces the sustained signaling induces the mechanism of survival induced by IgE using BMMCs lacking several downstream molecules. Our results indicate that IL-3 plays a crucial role for IgE-induced mast cell survival.

Staff

Laboratory Head

Dr. Takashi SAITO

Research Scientist

Dr. Hiromitsu HARA
 Dr. Nobutaka SUZUKI
 Dr. Shinobu SUZUKI
 Dr. Arata TAKEUCHI
 Dr. Sho YAMASAKI
 Dr. Tadashi YOKOSUKA

Technical Staff

Ms. Chitose ISHIHARA
 Ms. Eri ISHIKAWA
 Ms. Wakana KOBAYASHI
 Ms. Machie SAKUIMA
 Ms. Midori UNNO

Assistant

Ms. Hiroko YAMAGUCHI

Visiting Members

Dr. Michael L. DUSTIN (New York Univ., USA)
 Dr. Akiko HASHIMOTO (JSPS)

Trainees

Mr. Takayuki IMANISHI (Grad. Sch. Med., Nagoya Univ.)
 Mr. Masayuki KOHNO (Grad. Sch. Med., Chiba Univ.)
 Dr. Kaori NISHIYAMA (Grad. Sch. Med., Chiba Univ.)
 Dr. Tadahiro SUENAGA (Grad. Sch. Med., Chiba Univ.)

誌上発表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

- Kuroyama H., Ikeda T., Kasai M., Yamasaki S., Tatsumi M., Utsuyama M., Saito T., and Hirokawa K.: "Identification of a novel isoform of ZAP-70, truncated ZAP kinase", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **315**, 935–941 (2004). *
- Yamasaki S., Ishikawa E., Kohno M., and Saito T.: "The quantity and duration of Fc γ signals determines mast cell degranulation and survival", *Blood* **103**, 3093–3101 (2004). *
- Ishizuka M., Toyama Y., Watanabe H., Fujiki Y., Takeuchi A., Yamasaki S., Yuasa S., Miyazaki M., Nakajima N., Taki S., and Saito T.: "Overexpression of human acyl-CoA thioesterase upregulates peroxisome biogenesis", *Exp. Cell Res.* **297**, 127–141 (2004). *
- Tomassini B., Malisan F., Franchi L., Nicolo C., Calvo G. B., Saito T., and Testi R.: "Calnexin suppresses GD3 synthase-induced apoptosis", *FASEB J.* **18**, 1553–1555 (2004). *
- Ishikawa S., Arase N., Suenaga T., Saita Y., Noda M., Kuriyama T., Arase H., and Saito T.: "Involvement of Fc γ in signal transduction of osteoclast-associated receptor (OSCAR)", *Int. Immunol.* **16**, 1019–1025 (2004). *
- Lye E., Mirtsos C., Suzuki N., Suzuki S., and Yeh W.-C.: "The role of interleukin 1 receptor-associated kinase-4 (IRAK-4) kinase activity in IRAK-4-mediated signaling", *J. Biol. Chem.* **279**, 40653–40658 (2004). *
- Shiratori I., Ogasawara K., Saito T., Lanier L. L., and Arase H.: "Activation of natural killer cells and den-

- dritic cells upon recognition of a novel CD99-like ligand by paired immunoglobulin-like type 2 receptor”, *J. Exp. Med.* **199**, 525–533 (2004). *
- Hara H., Bakal C., Wada T., Bouchard D., Rottapel R., Saito T., and Penninger J. M.: “The molecular adapter Carma1 controls entry of I κ B kinase into the central immune synapse”, *J. Exp. Med.* **200**, 1167–1177 (2004). *
- Sakurai D., Yamasaki S., Arase K., Park S. Y., Arase H., Konno A., and Saito T.: “Fc ϵ RI γ -ITAM is differentially required for mast cell function in vivo”, *J. Immunol.* **172**, 2374–2381 (2004). *
- Ohtsuka M., Arase H., Takeuchi A., Yamasaki S., Shiina R., Suenaga T., Sakurai D., Yokosuka T., Arase N., Iwashima M., Kitamura T., Moriya H., and Saito T.: “NFAM1, an immunoreceptor tyrosine-based activation motif-bearing molecule that regulates B cell development and signaling”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 8126–8131 (2004). *
- Honda K., Yanai H., Mizutazni T., Negishi H., Shimada N., Suzuki N., Ohba Y., Takaoka A., Yeh W.-C., and Taniguchi T.: “Role of a transductional-transcriptional processor complex involving MyD88 and IRF-7 in Toll-like receptor signaling”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 15416–15421 (2004). *
- Kohno M., Yamasaki S., Tybulewicz V. L., and Saito T.: “Rapid and large amount of autocrine IL-3 production is responsible for mast cell survival by IgE in the absence of antigen”, *Blood* **105**, 2059–2065 (2005). *
- Takahashi S., Kataoka H., Hara S., Yokosuka T., Takase K., Yamasaki S., Kobayashi W., Saito Y., and Saito T.: “*In vivo* overexpression of CTLA-4 suppresses lymphoproliferative diseases and thymic negative selection”, *Eur. J. Immunol.* **35**, 399–407 (2005). *
- (総説)
- Yamasaki S. and Saito T.: “Inhibitory adaptors in lymphocytes”, *Seminars Immunol.* **16**, 421–427 (2004).
- Suzuki N.: “Innate immunity: A defense frontline linking to acquired immunity”, *Curr. Med. Chem.: Anti-Inflammatory Anti-Allergy Agents* **4**, 1 (2005).
- Suzuki N., Suzuki S., and Saito T.: “IRAKs: Key regulatory kinases of innate immunity”, *Curr. Med. Chem.: Anti-Inflammatory Anti-Allergy Agents* **4**, 13–20 (2005).
- 鈴木信孝: “IRAK-4 による自然免疫および獲得免疫制御機構”, *Molecular Medicine Vol. 40 臨時増刊号: 免疫 2004* **40**, 217–224 (2003).
- 原博満: “T 細胞のアポトーシス”, *Biotherapy* **18**, 141–149 (2004).
- 齊藤隆: “免疫シグナル制御 2005”, *Molecular Medicine Vol. 41 臨時増刊号: 免疫 2005*, pp. 106–119 (2004).
- 山崎晶, 齊藤隆: “Fc ϵ RI を介した肥満細胞応答の質的調節”, *感染・炎症・免疫* **34**, 288–291 (2004).
- 山崎晶, 齊藤隆: “Scaffold 分子 Gab2 による T 細胞受容体シグナル伝達の負の制御”, *生体の科学* **55**, 151–158 (2004).
- 横須賀忠, 齊藤隆: “フローサイトメトリー”, *蛋白質 核酸 酵素* **49**, 1620–1627 (2004).
- 横須賀忠: “CD8⁺T 細胞のエフェクター, メモリーへの分化と細胞増殖”, *臨床免疫* **42**, 271–277 (2004).
- 櫻井大樹, 山崎晶, 齊藤隆: “マスト細胞の機能分化における Fc ϵ RI γ 鎖 ITAM の役割”, *臨床免疫* **42**, 584–587 (2004). (その他)
- Nakatsu F., Okada M., Mori F., Kumazawa N., Iwasa H., Gang Z., Kasagi Y., Kamiya H., Harada A., Nishimura K., Takeuchi A., Miyazaki T., Watanabe M., Yuasa S., Manabe T., Wakabayashi K., Kaneko S., Saito T., and Ohno H.: “Defective function of GABA-containing synaptic vesicles in mice lacking the AP-3B clathrin adaptor”, *J. Cell Biol.* **167**, 293–302 (2004).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Sakata-Sogawa K., Yamasaki S., Saito T., and Tokunaga M.: “Dynamics of lipid rafts revealed by molecular imaging”, 1st Pacific-Rim Int. Conf. on Protein Science (PRICPS 2004), (Protein Science Society of Japan and others), Yokohama, Apr. (2004).

Yokosuka T. and Saito T.: “Cell division is not essential for CTL induction in vivo”, 12th Int. Congr. of Immunology and 4th Ann. Conf. of FOCIS, Montreal, Canada, July (2004).

Suzuki J., Yamasaki S., Wu J., Koreztky G. A., and Saito T.: “LFA-1/ADAP-induced actin ring formation is prerequisite for mature immunological synapse and co-stimulation function in T cells”, 12th Int. Congr. of Immunology and 4th Ann. Conf. of FOCIS, Montreal, Canada, July (2004).

Yamasaki S., Sakurai D., Ishikawa E., and Saito T.: “The quantity and duration of Fc ϵ RI signals determines mast cell degranulation and survival”, 12th Int. Congr. of Immunology and 4th Ann. Conf. of FOCIS, Montreal, Canada, July (2004).

Saito T.: “LFA-1-ADAP-induced actin cloud formation confers co-stimulatory function in synapse formation and activation in T cells”, EMBO Workshop on Lymphocyte Antigen Receptor and Coreceptor Signaling, Siena, Italy, Sept. (2004).

Yamasaki S., Aoki N., Ishikawa E., and Saito T.: “PTP20 modulates TCR-mediated development and activation of T cells”, EMBO Workshop on Lymphocyte Antigen Receptor and Coreceptor Signaling, Siena, Italy, Sept. (2004).

(国内会議)

鈴木順一郎, 山崎晶, 大塚誠, 鈴木律子, 荒瀬尚, 齊藤隆: “ADAP を介するインテグリンの活性化および actin rearrangement”, 第 13 回 Kyoto T Cell Conference 学術集会, 京都, 6 月 (2003).

荒瀬尚, 白鳥行大, 小笠原康悦, 海野緑, 坂元亜矢子, Lanier L. L., 齊藤隆: “Pattern recognition by paired innate receptors”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).

- 鈴木順一郎, 山崎晶, Koreztky G. A., 荒瀬尚, 齊藤隆: “ADAP を介する integrin の活性化と actin rearrangement の誘導機構”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).
- 石川絵里, 山崎晶, 河野雅之, 齊藤隆: “FcR γ 鎖シグナル強度による mast cell 応答の質的調節機構”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).
- 鈴木信孝, 鈴木忍, 原博満, Yeh W.-C., 齊藤隆: “IL-18 シグナルにおける IRAK-4 の重要性”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).
- 鈴木忍, 鈴木信孝, 齊藤隆, Yeh W.-C.: “TNF シグナル伝達経路においてアポトーシス抑制因子として働く Nur77”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).
- 山崎晶, 佐久間待恵, 齊藤隆: “raft 局在化 CD3 を用いた β -selection 誘導機構の解析”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).
- 荒瀬規子, 海野緑, 竹内新, 石原千歳, 平野聡, 横須賀忠, 荒瀬尚, 齊藤隆: “活性化 NK 細胞, CD8⁺T 細胞で発現する膜分子 CRTAM のリガンドの同定”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).
- 横須賀忠, 荒瀬尚, 山崎晶, 齊藤隆: “抗原特異的 CTL は in vivo で細胞分裂なしにエフェクター機能を獲得できる”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).
- 平野聡, 横須賀忠, 山崎晶, 荒瀬尚, 木村弥生, 小原收, 月田早智子, 月田承一郎, 齊藤隆: “樹状細胞による T 細胞活性化における ERM ファミリーの役割”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).
- 白鳥行大, 小笠原康悦, 海野緑, 坂元亜矢子, Lanier L. L., 齊藤隆, 荒瀬尚: “新規 NK 細胞レセプターとそのリガンドのクローニングおよび機構解明”, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 12 月 (2003).
- 鈴木信孝: “IRAK-4 による自然免疫および獲得免疫制御機構”, 秋田大学医学部生化学第二講座第 20 回分子医科学セミナー, 秋田, 5 月 (2004).
- 山崎晶, 石川絵里, 齊藤隆: “preTCR を介したリガンド非依存的シグナル伝達機構の解析”, 第 14 回 Kyoto T Cell Conference (14th KTCC), 京都, 6 月 (2004).
- 鈴木信孝, 海野緑, 原博満, 鈴木忍, 齊藤隆: “自然免疫系制御因子 IRAK-4 の獲得免疫系への影響”, 第 14 回 Kyoto T Cell Conference (14th KTCC), 京都, 6 月 (2004).
- 齊藤隆: “Dynamic regulation of T cell antigen receptor signaling: An overview of T cell activation”, 第 32 回日本臨床免疫学会総会, 東京, 10 月 (2004).
- 鈴木信孝: “IRAK-4: a central defense frontline molecule linking to acquired immunity”, 長崎大学医学部セミナー, 長崎, 10 月 (2004).
- 西山香織, 竹内新, 角田治美, 齊藤隆: “CAST, 細胞増殖に必須な PolI 複合体コンポーネント, の欠損マウスの解析”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 増田啓次, 丸山崇子, 海老原裕美, 鶴飼明子, 大内田理佳, 古関明彦, 石原千歳, 竹内新, 齊藤隆, 王継揚: “DNA ポリメラーゼ θ のポリメラーゼ core domain 欠失マウスの解析”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 山崎晶: “Signal regulation for distinct mast cell responses through Fc ϵ RI”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 末永忠広, 荒瀬尚, 山崎晶, 横須賀忠, 石川絵里, 齊藤隆: “B 細胞特異的 4 回膜貫通型分子 BTS27 の同定と解析”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 石川哲, 齊藤隆, 荒瀬尚: “FcR γ 鎖を介した Osteoclast-associated receptor(OSCAR) のシグナル伝達機構”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 鈴木信孝, 海野緑, 原博満, 鈴木忍, 齊藤隆: “IRAK-4 は TLR と TCR の両シグナル伝達系に必須である”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 河野雅之, 山崎晶, 石川絵里, 齊藤隆: “IgE 単独刺激によるマスト細胞の survival 誘導メカニズムの解析”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 今西貴之, 鈴木忍, 齊藤隆: “T 細胞に発現する TLR の T 細胞活性化における役割”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 山崎晶: “T 細胞の活性化と情報伝達”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 白鳥行大, 齊藤隆, Lanier L., 荒瀬尚: “ウイルス CD200 様分子による NK 細胞・マクロファージからの免疫逃避機構”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 横須賀忠, 齊藤隆: “ホメオスタシス増殖に伴うナイーブ CD8 + T 細胞のエフェクター機能獲得に関する解析”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 原博満, 石原千歳, 竹内新, 齊藤隆: “リンパ球活性化における CARD9 の役割”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).
- 片岡浩, 高橋成和, 横須賀忠, 山崎晶, 高瀬完, 小池隆夫, 齊藤隆: “抑制性 T 細胞の抑制機能における CTLA-4 分子の役割”, 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 12 月 (2004).