

核内 I κ B- ζ による炎症応答の制御

丸山 貴司^{1,2}

1. はじめに

さまざまな炎症応答の起点となる転写因子として知られる NF- κ B は、David Baltimore 博士により同定され、1986 年に報告がなされた¹⁾。NF- κ B は、 κ B binding elements と呼ばれる遺伝子配列を認識し、遺伝子発現を直接制御することが知られている。その後、NF- κ B の転写活性を制御する因子として、I κ B- α が同定された²⁾。I κ B- α は、細胞質において NF- κ B と複合体を形成し、NF- κ B の核内移行を阻害している分子である。I κ B- α は、リポ多糖 (LPS) などの刺激によりリン酸化された後、プロテアソームで分解される。I κ B- α との複合体を解消した NF- κ B は、核内移行が促進され、転写活性が増強されるのである。刺激に伴う NF- κ B の活性化により、刺激後 0~1 時間をピークに一過的な発現を示す遺伝子を、一次応答遺伝子と呼ぶ。

著者らが着目している I κ B- ζ は、マクロファージに対する LPS 刺激によりその発現が一過的に上昇する分子として同定された I κ B ファミリー分子の一つである³⁾。I κ B- ζ は核内に局在することから、核内 I κ B ファミリー分子に属する分子であり、C 末端側に存在するアンキリンリピートを介し、NF- κ B と複合体を形成することが知られている⁴⁾。また、NF- κ B 標的遺伝子を二次的に制御することで、IL-6 や Lcn2 などの遺伝子の発現が、3~6 時間をピークに認められるようになる。これらの遺伝子を二次応答遺伝子と呼ぶ。つまり、I κ B- ζ は一次応答遺伝子から二次応答遺伝子への遺伝子発現を切り替える「スイッチ」としての役割を担っているとも考えられている (図 1)。その代表的な一例として、マクロファージにおける LPS 刺激依存的な遺伝子応答の変化があり、I κ B- ζ が炎症性サイトカイン TNF- α の産生から炎症性サイトカイン IL-6 の産生増強へ

のスイッチに寄与していることが報告されている⁵⁾。

本稿では、近年明らかとなってきた I κ B- ζ の多様な細胞種における役割について、著者らが見いだした知見を中心に概説をする。

2. I κ B- ζ 欠損マウスの表現型

I κ B- ζ 欠損マウスは、加齢とともに眼裂周囲に強い炎症が認められることが報告された⁶⁾。I κ B- ζ 欠損マウスの詳細な解析が行われた結果、血中の抗核抗体価が上昇していること、涙の量が顕著に減少していること、さらに、涙腺上皮細胞の細胞死が亢進していることから、シェーグレン症候群様の自己免疫疾患を自然発症していると推察された。

I κ B- ζ 欠損マウスと、T 細胞および B 細胞の存在しない Rag2 欠損マウスとを掛け合わせ、二重欠損マウスの作製が行われた。興味深いことに、二重欠損マウスは加齢による眼裂周囲の強い炎症は認められないが、I κ B- ζ 欠損マウ

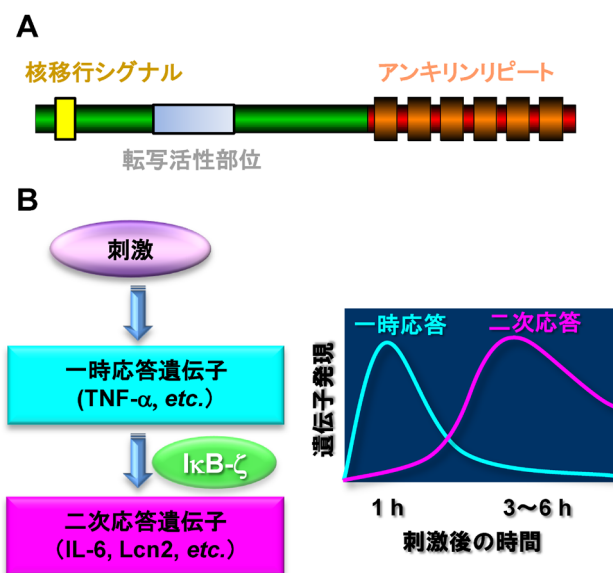


図1 I κ B- ζ の構造と機能

(A) I κ B- ζ は核移行シグナルを持っており、C 末端側のアンキリンリピートを介して NF- κ B と複合体を形成する。また、転写活性部位の同定もなされている。(B) I κ B- ζ による遺伝子発現パターン変化の概念図。一次応答遺伝子から二次応答遺伝子への切り替えに役立つと考えられる。

¹岐阜大学医学系研究科 (〒501-1194 岐阜市柳戸 1-1)

²東北大学生命科学研究科細胞認識応答分野 (〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3)

Nuclear I κ B- ζ controls inflammatory responses

Takashi Maruyama^{1,2} (¹Gifu University, School of Medicine, 1-1 Yanagido, Gifu, Gifu University, School of Medicine, 501-1194, Japan, ²Laboratory of Cell Recognition and Response, Graduate School of Life Sciences, 6-3 Aramaki, Aoba, Sendai, Tohoku University 980-8578, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2015.870601

投稿受付日: 2015 年 7 月 10 日

© 2015 公益社団法人日本生化学会

ス由来のCD4⁺ T細胞を移入すると、加齢による眼裂周囲での強い炎症が認められるようになった。この細胞移入実験では、野生型マウス由来のCD4⁺ T細胞を用いた場合でも同様の炎症応答が認められることから、T細胞におけるI κ B- ζ の発現は、シェーグレン症候群様の自己免疫疾患の発症には直接関与しないものの、炎症応答の増悪をつかさどることが示唆された。

次に、さまざまな細胞種特異的なI κ B- ζ 欠損マウスの作製を行い、シェーグレン症候群様の自己免疫疾患の発症要因についての検討が行われた。すると、上皮特異的にI κ B- ζ を欠損するマウス (*Nfkbiz1^{lox/lox}* K5-cre) において、眼裂周囲の強い炎症や、涙腺上皮細胞の細胞死の亢進、および血中の抗核抗体価の上昇など、シェーグレン症候群様の自己免疫疾患を自然発症することが明らかとなった。

マウスの上皮細胞株であるPam212を使用し、I κ B- ζ の過剰発現を行ったところ、高濃度のツニカマイシン（抗生物質）による細胞死の誘導に対し、抵抗性を示すことが明らかとなった。さらに、I κ B- ζ 欠損マウスの眼裂周囲に、細胞死を誘導するカスパーゼの阻害剤 (Z-VAD) を投与したところ、眼裂周囲の炎症が劇的に抑えられた。

以上より、上皮細胞におけるI κ B- ζ の発現が、上皮細胞の細胞死を制御していること、また、細胞死の亢進によって、二次的にCD4⁺ T細胞が活性化することで炎症応答の増悪が認められることが明らかとなった。

3. CD4⁺ T細胞におけるI κ B- ζ の役割

CD4⁺ T細胞におけるI κ B- ζ の発現は、サイトカインであるトランスフォーミング増殖因子 β (TGF- β) + インターロイキン6 (IL-6) 刺激により誘導され、転写因子ROR γ tと強調し、炎症性サイトカインIL-17を産生するヘルパーT細胞 (Th17) の分化誘導を促進する (図2A)。そのため、I κ B- ζ 欠損マウスではTh17の分化誘導能が低下しており、Th17依存性の自己免疫疾患として知られる多発性硬化症に抵抗性を有することが示された⁷⁾。

一方、著者らがT細胞特異的なI κ B- ζ 欠損マウス (*Nfkbiz1^{lox/lox}* Lck-cre) を作製したところ、幼若齢 (3週齢) より末梢リンパ組織のCD4⁺ T細胞の活性化およびIFN- γ の高産生が認められ、加齢により生体恒常性維持が破綻することが明らかとなった⁸⁾。このT細胞特異的なI κ B- ζ 欠損マウスは、眼裂周囲での強い炎症応答や、血中の抗核抗体価の上昇が認められないことから、シェーグレン症候群様の自己免疫疾患ではないことが明らかとなった。さらに詳細な解析を行った結果、T細胞におけるI κ B- ζ の発現は、サイトカインTGF- β のみでも発現上昇が認められること、また、TGF- β 誘導性のI κ B- ζ 発現がCD4⁺ T細胞からのIFN- γ 産生を制御していることが明らかとなった。

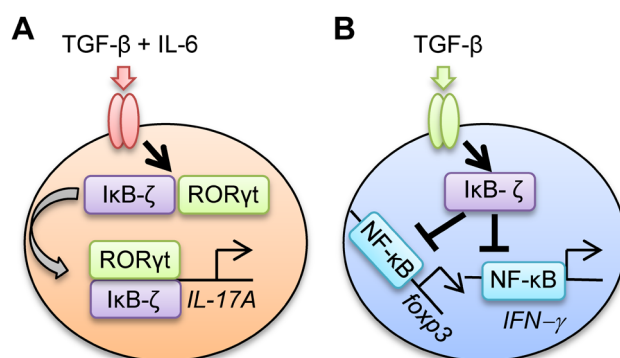


図2 T細胞における転写制御因子I κ B- ζ の役割 (A) TGF- β およびIL-6刺激により誘導されたI κ B- ζ とROR γ tの協調。IL-17Aの転写開始点より、約6 kb上流に存在する種間高保存領域に結合し、IL-17A産生を正に制御する。(B) TGF- β により誘導されたI κ B- ζ の役割。NF- κ B依存性のIFN- γ および*foxp3*遺伝子発現を負に制御する。

そのため、I κ B- ζ 欠損CD4⁺ T細胞は、TGF- β 刺激によるIFN- γ 産生抑制能が低下している (図2B)。

また、CD4⁺ T細胞に対するTGF- β 刺激は、制御性T細胞の分化誘導にも必須であることが知られている。そこで、制御性T細胞のマスターレギュレーターであるFoxp3を指標に、試験管内で培養したCD4⁺ T細胞の解析を行ったところ、制御性T細胞の分化誘導能に差は認められなかった。しかし、著者らはTGF- β 刺激存在下においても、I κ B- ζ 欠損CD4⁺ T細胞が炎症性サイトカインであるインターフェロン γ (IFN- γ) などを高産生していることが、制御性T細胞の分化誘導を阻害している原因になっているのではないかと推察し、TGF- β 刺激とともに炎症性サイトカインの中和抗体を入れて培養を行ったところ、I κ B- ζ 欠損CD4⁺ T細胞において、制御性T細胞の分化誘導の顕著な促進が認められた⁹⁾。また、Foxp3リポーターを用いた詳細な解析を行ったところ、NF- κ Bの強制発現により活性化するFoxp3リポーター活性は、I κ B- ζ の強制発現により顕著に抑制された⁹⁾。つまり、TGF- β 誘導性のI κ B- ζ 発現は、*foxp3*遺伝子を負に制御していることから、制御性T細胞の分化誘導を負に制御する転写制御因子であることが明らかとなった (図2B)。一方、T細胞特異的なI κ B- ζ 欠損マウス由来の制御性T細胞の免疫抑制能については、顕著に低下していることも明らかとなったことから⁸⁾、TGF- β 誘導性のI κ B- ζ は、制御性T細胞の免疫抑制能の獲得にも重要であることが示唆される。

4. B細胞におけるI κ B- ζ の役割

B細胞におけるI κ B- ζ の発現は、LPSやCpG-DNAといった微生物由来成分による刺激により誘導される¹⁰⁾。このI κ B- ζ の発現については、mRNAの3'-UTR (中でも終止コ

ドンから165塩基下流までの領域)を介したmRNAの安定化が最も重要であるが、詳しい分子メカニズムについてはいまだ不明な部分が多い¹¹⁾。

著者らがB細胞特異的なI κ B- ζ 欠損マウスを作製したところ、加齢によるシェーグレン症候群様の自己免疫疾患の自然発症は認められなかった¹²⁾。また、B細胞の成熟能についても異常は認められず、血清中の各種の抗体価も野生型のマウスと同程度であった。興味深いことに、T細胞非依存的な抗体産生を促すLPS-trinitrophenol (TNP)を免疫したところ、B細胞特異的なI κ B- ζ 欠損マウス由来の血中において、TNP依存的な抗体価の顕著な減少が認められた。そこで、I κ B- ζ 欠損B細胞を精製し、試験管内でLPS刺激を行ったところ、抗体のクラススイッチおよびクラススイッチリコンビナーゼActivation-Induced Cytidine Deaminase (AID)の発現低下が認められた。このI κ B- ζ 欠損B細胞に対し、レトロウイルスを用いたAIDの過剰発現を行ったところ、抗体のクラススイッチ能が、野生型と同程度まで認められた。

近年、B細胞からのIL-10産生は、多発性硬化症などの自己免疫疾患や、脂肪組織における慢性炎症の制御にも重要であることが示唆されている。著者らも、I κ B- ζ を欠損したB細胞について、LPSおよびCpG-DNA刺激により誘導される抗炎症性サイトカインIL-10の産生能の低下、また、CpG-DNAおよびB細胞受容体刺激による免疫抑制分子CTLA-4の発現誘導能の低下を明らかにしたことから^{10, 12)}、B細胞による炎症応答の制御に、転写制御因子I κ B- ζ が重要な役割を担うことが推察された。

5. NK細胞におけるI κ B- ζ の役割

NK細胞におけるI κ B- ζ の発現は、炎症性サイトカインIL-12およびIL-18刺激により誘導されることが報告されている^{13, 14)}。また、I κ B- ζ を欠損したNK細胞においては、IL-12およびIL-18刺激によるIFN- γ 産生、および、細胞障害性が顕著に低下していることが明らかとされた。その詳しい分子メカニズムについては、I κ B- ζ によるIFN- γ の種間保存領域(転写開始点より33 kb上流に存在)のヒストンアセチル化の亢進が認められ、IL-12刺激に伴うSTAT4への結合が増強すること、また、I κ B- ζ 自身はIFN- γ のプロモーター領域に直接結合し、その発現を正に制御することが示された。

6. おわりに

本稿では、さまざまな細胞種におけるI κ B- ζ の役割について概説した。I κ B- ζ を起点とした遺伝子発現制御は、NF- κ Bの標的遺伝子を二次的に制御するものであるとの

報告が相次いでいるが、本稿で示したIL-17およびAIDについては、NF- κ B非依存的な遺伝子発現調整がなされている。今後、I κ B- ζ によるNF- κ B非依存的な遺伝子発現制御機構について、配列特異性や転写開始ステップの詳細な検討が望まれる。また、T細胞におけるI κ B- ζ の発現については、Th17の分化誘導を押し進める転写制御因子であるとの報告より、Th17を促進する転写制御因子としての報告が続いているが、著者らは免疫恒常性維持にも重要であることを示した。また、NK細胞によるI κ B- ζ を介したIFN- γ 産生と、T細胞によるI κ B- ζ を介したIFN- γ 産生は、相反する結果ではあるが、細胞種および刺激の違いが原因となり、異なるIFN- γ の産生機構が働いている可能性が推察される。以上より、さまざまな役割を担う転写制御因子I κ B- ζ の役割については、今後、複雑な転写因子のクロストークおよびネットワークの解明を行う必要がある。さらに最近、著者らは、I κ B- ζ と最も相同性の高い分子I κ B_{NS}がTh17分化誘導に重要であることを示していることから¹⁵⁾、核内I κ Bファミリー分子の構造活性相関や活性化機構そのものを解明することも、今後の課題である。

謝辞

本稿を執筆するにあたり、東北大学生命科学研究科細胞認識応答分野の教授であられました故牟田達史先生より、研究のご指導をいただきましたこと、深く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Sen, R. & Baltimore, D. (1986) *Cell*, **46**, 705–716.
- 2) Baeuerle, P.A. & Baltimore, D. (1988) *Science*, **242**, 540–546.
- 3) Kitamura, H., Kanehira, K., Okita, K., Morimatsu, M., & Saito, M. (2000) *FEBS Lett.*, **485**, 53–56.
- 4) Yamazaki, S., Muta, T., & Takeshige, K. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 27657–27662.
- 5) Yamamoto, M., Yamazaki, S., Uematsu, S., Sato, S., Hemmi, H., Hoshino, K., Kaisho, T., Kuwata, H., Takeuchi, O., Takeshige, K., Saitoh, T., Yamaoka, S., Yamamoto, N., Yamamoto, S., Muta, T., Takeda, K., & Akira, S. (2004) *Nature*, **430**, 218–222.
- 6) Okuma, A., Hoshino, K., Ohba, T., Fukushi, S., Aiba, S., Akira, S., Ono, M., Kaisho, T., & Muta, T. (2013) *Immunity*, **38**, 450–460.
- 7) Okamoto, K., Iwai, Y., Oh-hora, M., Yamamoto, M., Morio, T., Aoki, K., Ohya, K., Jetten, A.M., Akira, S., Muta, T., & Takayanagi, H. (2010) *Nature*, **464**, 1381–1385.
- 8) Maruyama, T., Kobayashi, S., Ogasawara, K., Yoshimura, A., Chen, W., & Muta, T. (2015) *J. Leukoc. Biol.*, **98**, 385–393.
- 9) Maruyama, T. (2015) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **464**, 586–589.
- 10) Hanihara, F., Takahashi, Y., Okuma, A., Ohba, T., & Muta, T. (2013) *Int. Immunol.*, **25**, 531–544.
- 11) Watanabe, S., Takeshige, K., & Muta, T. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **356**, 785–791.

- 12) Hanihara-Tatsuzawa, F., Miura, H., Kobayashi, S., Isagawa, T., Okuma, A., Manabe, I., & Maruyama, T. (2014) *J. Biol. Chem.*, **289**, 30925–30936.
- 13) Kannan, Y., Yu, J., Raices, R.M., Seshadri, S., Wei, M., Caligiuri, M.A., & Wewers, M.D. (2011) *Blood*, **117**, 2855–2863.
- 14) Miyake, T., Satoh, T., Kato, H., Matsushita, K., Kumagai, Y., Vandenbon, A., Tani, T., Muta, T., Akira, S., & Takeuchi, O. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 17680–17685.
- 15) Kobayashi, S., Hara, A., Isagawa, T., Manabe, I., Takeda, K., & Maruyama, T. (2014) *PLoS ONE*, **9**, e110838.

著者寸描

●丸山 貴司 (まるやま たかし)



岐阜大学大学院医学系研究科テニユアトラック助教 (文科省プロジェクト型, P. I.). 博士 (薬学).

■略歴 1979年兵庫県に生まれる。2007年静岡県立大学大学院薬学研究科修了。08年より米国立衛生研究所・博士研究員および日本学術振興会海外特別研究員 (Dr. Chen WanJun ラボ), 11年より東北大学大学院生命科学研究科助教 (Dr. 牟田

達史ラボ) を経て, 14年より現職。

■研究テーマと抱負 より良い環境で独立講座を持ち, 約束と夢を叶える場所を築きたい。

■ウェブサイト <http://researchmap.jp/read0135243/>

■趣味 旅行, 物書き。