

Tリンパ球の分化と機能におけるIL-7受容体シグナルの役割

崔 廣為¹, 谷一 靖江^{1,2}, 生田 宏一¹

1. はじめに

インターロイキン7 (IL-7) は初期リンパ球の分化, 成熟T細胞の維持, リンパ器官の形成に必須のサイトカインであり, 免疫系の恒常性維持を担うサイトカインと考えられる. 筆者らはこれまで, B細胞・T細胞・自然リンパ球などの免疫細胞におけるIL-7の機能に注目して研究を行ってきた¹⁾. 免疫細胞に発現するIL-7受容体 (IL-7R) はIL-7R α 鎖と共通 γ 鎖 (γ_c) の二量体からなり, 転写因子STAT5とPI3キナーゼの二つのシグナル分子が重要な役割を果たしている^{2,3)}. IL-7がIL-7Rに結合するとチロシンキナーゼのJAK1とJAK3が活性化し, IL-7R α 鎖の449番目 (マウス) のチロシン残基をリン酸化する. これが引き金になり, SH2ドメインを持つSTAT5とPI3キナーゼがこのリン酸化チロシンに結合する. STAT5はJAKによりそのチロシン残基がリン酸化され二量体を形成し, 核内に移行して標的遺伝子の転写を誘導し, リンパ球の増殖や分化を促進する. 一方, IL-7R α 鎖に結合したPI3キナーゼは細胞膜のイノシトールリン脂質をリン酸化し, AktやmTORなどの下流シグナル分子を活性化することで, 細胞増殖や代謝などの細胞活動を引き起こす⁴⁾. 本稿では, リンパ球におけるIL-7Rシグナルのさまざまな機能について新たな知見を紹介する.

2. IL-7R下流シグナル伝達におけるSTAT5とPI3キナーゼの競合

IL-7Rの下流でSTAT5とPI3キナーゼの二つのシグナル系が活性化されるが, それらの特異的な機能や相互の関係性は明らかにされていなかった. 筆者らはIL-7R α の449番目のチロシン残基がSTAT5とPI3キナーゼの両方との結合に必要であること, 452番目のメチオニン残基がPI3キナーゼとの結合に必要であることに着目し (図1A), IL-7R-Y449FマウスとIL-7R-M452Lマウスの二つの変異マウスを作製し, IL-7Rシグナル伝達におけるSTAT5とPI3キナーゼの機能と相互の関係性を解析した⁵⁾.

活性化したPI3キナーゼは, PHドメインを持つAktを細胞膜近傍へとリクルートしリン酸化することで活性化する⁴⁾. IL-7R-Y449FマウスのT細胞をIL-7で刺激すると, リン酸化Akt (pAkt) とリン酸化STAT5 (pSTAT5) のレベルが正常T細胞より著しく低下したことから, PI3キナーゼとSTAT5の両方のシグナル経路が障害されていることが確認された. 一方, IL-7R-M452LマウスのT細胞をIL-7で刺激すると正常T細胞よりpAktが低下したが, pSTAT5は増加していた. したがって, IL-7R-M452L T細胞においてPI3キナーゼのシグナル経路が障害されたが, STAT5のシグナル経路は亢進していることがわかった. 以上の結果から, STAT5とPI3キナーゼがIL-7R α と結合する際に競合しており, この競合関係によって各シグナル経路が適切な強度になるように制御されていると考えられる⁵⁾.

3. IL-7R下流のSTAT5とPI3キナーゼの競合によるT細胞の制御

IL-7R-Y449FマウスではIL-7R α 欠損マウスと同様にT細胞数が劇的に減少したことから, STAT5とPI3キナーゼのシグナル経路がT細胞の分化に重要であることがわかった. 一方, IL-7R-M452Lマウスの胸腺T細胞では, STAT5シグナルが亢進するとともにPI3キナーゼシグナルが低下することで, 転写因子TCF-1の発現誘導が遅れT細胞の初期分化が障害された. 逆に, IL-7R-M452Lマウスのリンパ節においてはSTAT5シグナルが亢進することで細胞内の抗アポトーシス活性が高くなり, ナイーブT細胞数が増加した. また, IL-7R-M452Lマウスにおいて, IL-17を産

¹ 京都大学ウイルス・再生医科学研究所免疫制御分野 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53)

² 京都大学医学研究科人間健康科学専攻 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53)

Roles of IL-7R signaling in differentiation and function of T lymphocytes

Guangwei Cui¹, Shizue Tani-ichi^{1,2} and Koichi Ikuta¹ (¹Laboratory of Immune Regulation, Department of Virus Research, Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University, 53 Shogoin Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan, ²Department of Human Health Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University, 53 Shogoin Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan)
DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2021.930815

© 2021 公益社団法人日本生化学会

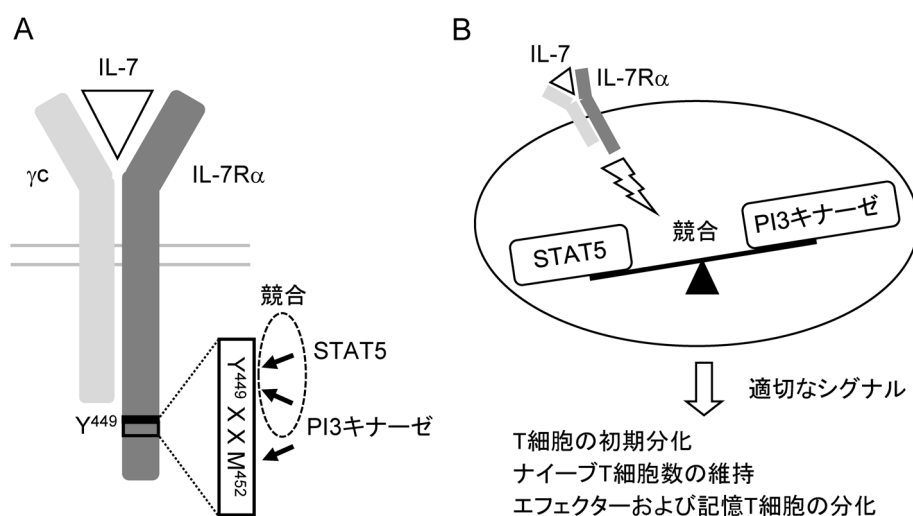


図1 IL-7受容体下流におけるSTAT5とPI3キナーゼの競合
(A) IL-7R α 鎖の449番目のチロシン残基がリン酸化されると、STAT5とPI3キナーゼの両者が競合的に結合する。PI3キナーゼの結合には、IL-7R α 鎖の452番目のメチオニン残基も必要である。(B) IL-7受容体下流シグナルにおけるSTAT5とPI3キナーゼの競合関係が、T細胞の分化と機能を制御する。

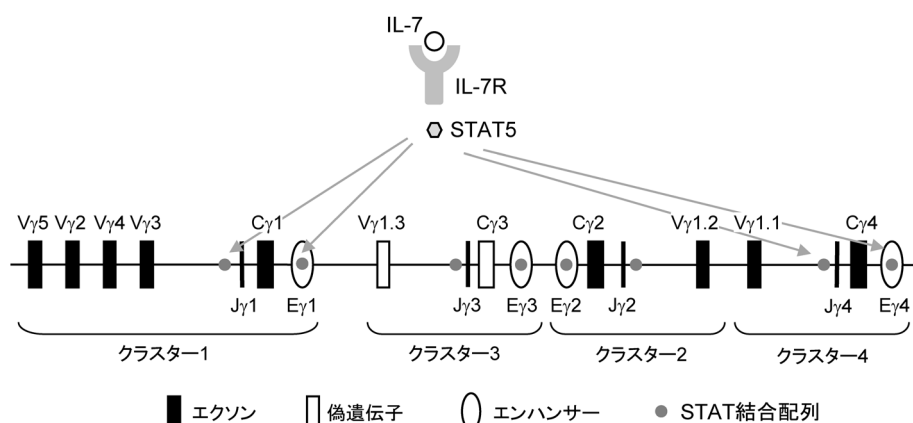


図2 マウスTCR γ 遺伝子座の模式図
IL-7Rシグナルで活性化された転写因子STAT5は、TCR γ 遺伝子座のJ γ プロモーターとE γ エンハンサーに結合する。

生し炎症性免疫応答を担うTh17細胞への分化が抑制されていた。さらに、リステリア菌の感染後に、細菌特異的な記憶CD8 T細胞への分化が障害されていた。すなわち、IL-7R-M452LマウスではT細胞の生存が亢進することでナイーブT細胞が増加する一方で、免疫応答に重要なエフェクターT細胞と記憶T細胞への分化が障害され、免疫応答能が低下していた。これらの結果から、IL-7R下流におけるSTAT5とPI3キナーゼのシグナルの競合関係がT細胞の分化と維持を制御し、適切な感染免疫応答を誘導すると考えられる(図1B)⁵⁾。

4. IL-7Rシグナルと $\gamma\delta$ T細胞の分化

$\gamma\delta$ T細胞は $\alpha\beta$ T細胞と同様に胸腺で分化する。IL-7や

IL-7Rの欠損マウスの胸腺では、 $\alpha\beta$ T細胞の細胞数が大きく減少するのに対し、 $\gamma\delta$ T細胞は完全に消失する⁶⁾。筆者らは、IL-7Rシグナルによる $\gamma\delta$ T細胞の分化の制御機構を明らかにしてきた⁷⁻⁹⁾。T細胞受容体(T cell receptor: TCR) γ 遺伝子座のJ γ 遺伝子プロモーターにはSTAT結合配列が存在し、IL-7Rシグナルで活性化したSTAT5が結合する。STAT5はヒストンのアセチル化を介してクロマチン構造を開き、TCR γ 遺伝子のV-J組換えを誘導する。一方、J γ 遺伝子プロモーターのSTAT結合配列に変異を入れたマウスでは、V-J組換えが障害される⁹⁾。マウスのTCR γ 遺伝子座には、E γ 1からE γ 4までの四つの相同性が高いエンハンサー領域(E γ)が存在する(図2)。筆者らは、E γ にもSTAT結合配列が存在し、IL-7Rシグナルで活性化したSTAT5が結合してエンハンサー活性を上昇させることを示

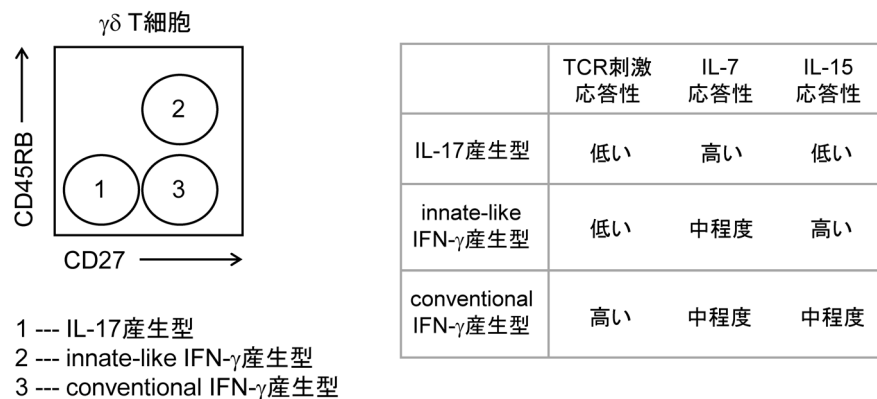


図3 $\gamma\delta$ T細胞の機能的分類と刺激応答性

(A) $\gamma\delta$ T細胞は、CD27とCD45RBの発現パターンによってIL-17産生型、innate-like IFN- γ 産生型、conventional IFN- γ 産生型に分けられる（フローサイトメトリーの概念図）。E γ 4欠損マウスでは、末梢リンパ組織のV γ 2⁺ $\gamma\delta$ T細胞のうち、innate-like $\gamma\delta$ T-IFN γ サブセットのみが減少する。(B) $\gamma\delta$ T細胞の三つのタイプの相違点。

してきた^{10, 11)}。TCRや免疫グロブリンなどV(D)J組換えを起こす遺伝子座のエンハンサーは、組換えや組換え後の転写を促進するが、E γ 1欠損マウスの胸腺の $\gamma\delta$ T細胞ではV-J組換えとその後の転写にほとんど影響がないことが報告されていた¹²⁾。しかし、筆者らがE γ 4欠損マウスを作製して解析したところ、E γ 4は近位のTCR γ 遺伝子のV-J組換えに必須であり、また、遠位のTCR γ 遺伝子の組換え後の転写も促進していることが明らかになった¹³⁾。

5. IL-7Rシグナルと末梢 $\gamma\delta$ T細胞の恒常性維持

$\gamma\delta$ T細胞は産生するサイトカインによってIL-17産生型（以下、 $\gamma\delta$ T17）とIFN- γ 産生型（以下、 $\gamma\delta$ T-IFN γ ）の2種類に大別される。 $\gamma\delta$ T17細胞はCD27⁻、IFN- γ 産生型はCD27⁺である。IFN- γ 産生型 $\gamma\delta$ T細胞はCD45RBの発現によって、さらにconventional（通常型）（以下、conv. $\gamma\delta$ T-IFN γ ）とinnate-like（自然免疫様）（以下、innate-like $\gamma\delta$ T-IFN γ ）の二つのタイプに分けられる（図3A）^{14, 15)}。conv. $\gamma\delta$ T-IFN γ 細胞はTCR応答性が高く、一方、innate-like $\gamma\delta$ T-IFN γ 細胞はTCR応答性は低い、サイトカインIL-12とIL-18に反応してTCR刺激がなくてもIFN- γ を産生する。

末梢組織での $\alpha\beta$ T細胞の恒常性維持にはIL-7Rシグナルが必須である。一方、IL-7やIL-7Rの欠損マウスでは $\gamma\delta$ T細胞が完全に消失するため、末梢組織の $\gamma\delta$ T細胞の恒常性維持にIL-7Rシグナルが必要か否かは近年まで明らかでなかった。Corpuzらの報告によると、 $\gamma\delta$ T細胞サブセットにおけるIL-7R発現は、高い順から $\gamma\delta$ T17、innate-like $\gamma\delta$ T-IFN γ 、conv. $\gamma\delta$ T-IFN γ となる。マウスにIL-7を投与すると、 $\gamma\delta$ T17細胞に強い増殖が誘導され、innate-like $\gamma\delta$ T-IFN γ 細胞もIL-7に応答して増殖するが、conv. $\gamma\delta$ T-IFN γ 細胞はほとんど応答しない。また、IL-7投与により、抗アポトーシス分子のBcl-2とBcl-xLの発現がいずれのサブセットで

も上昇する。さらに、 $\gamma\delta$ T17細胞と $\gamma\delta$ T-IFN γ 細胞（innate-likeとconv.の両方を含む）を放射線照射したIL-7欠損マウスに移植すると、 $\gamma\delta$ T17細胞はほとんど増殖せず、 $\gamma\delta$ T-IFN γ 細胞も野生型マウスに移植したときより回収率が低下する。IL-15も $\gamma\delta$ T細胞の生存維持を促進するが、IL-15欠損マウスでは $\gamma\delta$ T-IFN γ 細胞のみが減少し、 $\gamma\delta$ T17細胞は増加する。これらのことから、 $\gamma\delta$ T17の末梢組織での恒常性維持はIL-7に強く依存しており、 $\gamma\delta$ T-IFN γ 細胞の恒常性維持はIL-15とIL-7の両方に依存している可能性が示唆される（図3B）¹⁵⁾。

$\alpha\beta$ T細胞の末梢組織での恒常性維持にはIL-7Rシグナルに加えて、TCRからのシグナルが必須である。しかし、 $\gamma\delta$ T細胞の末梢組織での恒常性維持にTCRシグナルが必要かどうかは不明であった。筆者らが作製したE γ 4欠損マウスでは遠位のTCR γ 遺伝子（V γ 2）の転写が低下するが、胸腺のV γ 2⁺ $\gamma\delta$ T細胞数は変化しない。一方、E γ 4欠損マウスのリンパ節や脾臓のV γ 2⁺ $\gamma\delta$ T細胞数が減少していた。減少したのはinnate-like $\gamma\delta$ T-IFN γ のV γ 2⁺ $\gamma\delta$ T細胞だけであり、このサブセットではTCRの発現とその下流シグナルが低下していた。さらに、野生型マウスならびにE γ 4欠損マウスのinnate-like $\gamma\delta$ T-IFN γ V γ 2⁺ $\gamma\delta$ T細胞を、リンパ球を持たないRag2欠損マウスに移植すると、E γ 4欠損マウス由来の細胞は野生型由来に比べて数が低下していた。これらの結果から、少なくとも二次リンパ組織のinnate-like $\gamma\delta$ T-IFN γ 細胞はその恒常性維持にTCRシグナルを必要としている可能性が示唆された¹³⁾。

6. おわりに

筆者らの研究により、IL-7R下流でSTAT5とPI3キナーゼのシグナルが競合的に働き、そのバランスがT細胞の分化と機能において重要な働きをしていることが明らかに

なった。さらに、IL-7Rシグナルの強さや質が、 $\gamma\delta$ T細胞を含めた末梢組織のT細胞の機能に大きな影響を与えていることが判明した。免疫系の恒常性維持を担うIL-7による、組織常在性T細胞サブセットの組織特異的な機能獲得の制御に関して、今後さらなる研究が必要であると考えられる。

謝辞

本稿で紹介した内容は、主に京都大学ウイルス・再生医科学研究所免疫制御分野ならびに国内外の多くの研究室の共同研究者と行った研究に基づいている。これまでにご指導ご協力いただいたすべての方々に、この場をお借りして感謝申し上げます。

文 献

- 1) Tani-ichi, S., Shimba, A., Wagatsuma, K., Miyachi, H., Kitano, S., Imai, K., Hara, T., & Ikuta, K. (2013) The interleukin-7 receptor controls development and maturation of late stages of thymocyte subpopulations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 612–617.
- 2) Osborne, L., Dhanji, S., Snow, J., Priatel, J., Ma, M., Miners, M., Teh, H., Goldsmith, M., & Abraham, N. (2007) Impaired CD8 T cell memory and CD4 T cell primary responses in IL-7R α mutant mice. *J. Exp. Med.*, **204**, 619–631.
- 3) Barata, J., Silva, A., Brandao, J., Nadler, L., Cardoso, A., & Boussiotis, V. (2004) Activation of PI3K is indispensable for interleukin 7-mediated viability, proliferation, glucose use, and growth of T cell acute lymphoblastic leukemia cells. *J. Exp. Med.*, **200**, 659–669.
- 4) Cantley, L. (2002) The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*, **296**, 1655–1657.
- 5) Cui, G., Shimba, A., Ma, G., Takahara, K., Tani-ichi, S., Zhu, Y., Asahi, T., Abe, A., Miyachi, H., Kitano, S., et al. (2020) IL-7R-dependent phosphatidylinositol 3-kinase competes with STAT5 signal to modulate T cell development and homeostasis. *J. Immunol.*, **204**, 844–857.
- 6) Maki, K., Sunaga, S., Komagata, Y., Kodaira, Y., Mabuchi, A., Karasuyama, H., Yokomuro, K., Miyazaki, J.I., & Ikuta, K. (1996) Interleukin 7 receptor-deficient mice lack $\gamma\delta$ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 7172–7177.
- 7) Ye, S.K., Maki, K., Kitamura, T., Sunaga, S., Akashi, K., Domen, J., Weissman, I.L., Honjo, T., & Ikuta, K. (1999) Induction of germline transcription in the TCR γ locus by Stat5: Implications for accessibility control by the IL-7 receptor. *Immunity*, **11**, 213–223.
- 8) Ye, S.K., Agata, Y., Lee, H.C., Kurooka, H., Kitamura, T., Shimizu, A., Honjo, T., & Ikuta, K. (2001) The IL-7 receptor controls the accessibility of the TCR γ locus by Stat5 and histone acetylation. *Immunity*, **15**, 813–823.
- 9) Wagatsuma, K., Tani-ichi, S., Liang, B., Shitara, S., Ishihara, K., Abe, M., Miyachi, H., Kitano, S., Hara, T., Nanno, M., et al. (2015) STAT5 orchestrates local epigenetic changes for chromatin accessibility and rearrangements by direct binding to the TCR γ locus. *J. Immunol.*, **195**, 1804–1814.
- 10) Tani-ichi, S., Satake, M., & Ikuta, K. (2009) Activation of the mouse TCR γ enhancers by STAT5. *Int. Immunol.*, **21**, 1079–1088.
- 11) Masui, N., Tani-ichi, S., Maki, K., & Ikuta, K. (2008) Transcriptional activation of mouse TCR γ 4 germline promoter by STAT5. *Mol. Immunol.*, **45**, 849–855.
- 12) Xiong, N., Kang, C., & Raulet, D.H. (2002) Redundant and unique roles of two enhancer elements in the TCR γ locus in gene regulation and $\gamma\delta$ T cell development. *Immunity*, **16**, 453–463.
- 13) Tani-ichi, S., Wagatsuma, K., Hara, T., Cui, G., Abe, S., Miyachi, H., Kitano, S., & Ikuta, K. (2020) Innate-like CD27⁺CD45RB^{high} $\gamma\delta$ T cells require TCR signaling for homeostasis in peripheral lymphoid organs. *J. Immunol.*, **204**, 2671–2684.
- 14) Wencker, M., Turchinovich, G., Di Marco Barros, R., Deban, L., Jandke, A., Cope, A., & Hayday, A.C. (2014) Innate-like T cells straddle innate and adaptive immunity by altering antigen-receptor responsiveness. *Nat. Immunol.*, **15**, 80–87.
- 15) Corpuz, T.M., Stolp, J., Kim, H.O., Pinget, G.V., Gray, D.H., Cho, J.H., Sprent, J., & Webster, K.E. (2016) Differential responsiveness of innate-like IL-17- and IFN- γ -producing $\gamma\delta$ T cells to homeostatic cytokines. *J. Immunol.*, **196**, 645–654.

著者寸描

●崔 廣為 (さい こうい)

京都大学ウイルス・再生医科学研究所助教。博士 (医科学)。

■略歴 2015年京都大学大学院医学研究科博士課程修了。京都大学ウイルス研究所生体防御分野 (16年より京都大学ウイルス・再生医科学研究所免疫制御分野へ組織名変更) にて日本学術振興会特別研究員を経て、16年より現職。

■研究テーマと抱負 サイトカイン産生性免疫微小環境によるNKT細胞や自然リンパ球など自然免疫系リンパ球の制御機構を中心に研究している。また、感染免疫におけるサイトカイン産生性免疫微小環境の解析にも力を入れている。

●谷一 靖江 (たにいち しずえ)

京都大学大学院医学研究科特定講師。保健学博士 (大阪大学)。

●生田 宏一 (いくた こういち)

京都大学ウイルス・再生医科学研究所教授。博士 (医学)。

■略歴 1959年兵庫県に生る。83年東京大学医学部医学科卒業。87年京都大学大学院医学研究科博士課程修了。スタンフォード大学医学部、東京大学医学部、京都大学医学研究科を経て、2002年京都大学ウイルス研究所教授。16年より現職。

■研究テーマと抱負 リンパ球の分化と機能におけるIL-7の役割、サイトカイン産生性免疫微小環境、ステロイドホルモンによる免疫機能の制御など。特に、免疫代謝、時間免疫学、性差免疫学などへの展開を目指している。

■ウェブサイト <https://www2.infront.kyoto-u.ac.jp/ikuta-Lab/>