

## 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

崔广为<sup>1</sup>、谷一靖江<sup>1,2</sup>、生田宏一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>京都大学ウイルス・再生医科学研究所免疫制御分野、<sup>2</sup>京都大学医学研究科人間健康科学専攻

### 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<sup>1)</sup>。免疫細胞に発現する IL-7 受容体 (IL-7R) は IL-7R $\alpha$  鎖と共通  $\gamma$  鎖 ( $\gamma c$ ) の 2 量体からなり、転写因子 STAT5 と PI3 キナーゼの 2 つのシグナル分子が重要な役割を果たしている<sup>2,3)</sup>。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 $\alpha$  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 2 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 $\alpha$  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<sup>4)</sup>。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 $\alpha$  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 1 A)、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<sup>5)</sup>。

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<sup>4)</sup>。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 細胞においては 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 $\alpha$  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<sup>5)</sup>。

### 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 $\alpha$  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、リンパ節において、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<sup>5)</sup> (図 1 B)。

### 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<sup>6)</sup>。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<sup>7-9)</sup>。T 細胞受容体 (T cell receptor, TCR)  $\gamma$ 遺伝子座の J $\gamma$ 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 $\gamma$ 遺伝子の V-J 組換えを誘導する。一方、J $\gamma$ 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<sup>9)</sup>。マウスの TCR $\gamma$ 遺伝子座には、E $\gamma$ 1 から E $\gamma$ 4 までの 4 つの相同性が高いエンハンサー領域 (E $\gamma$ ) が存在する (図 2)。筆者らは、E $\gamma$ 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してきた<sup>10, 11)</sup>。TCR や免疫グロブリンなど V(D)J 組換えをおこす遺伝子座のエンハンサーには、組換えや組換え後の転写を促進するが、E $\gamma$ 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<sup>12)</sup>。しかし、筆者らが E $\gamma$ 4 欠損マウスを作製して解析したところ、E $\gamma$ 4 は近位の TCR $\gamma$ 遺伝子の V-J 組換えに必須であり、また、遠位の TCR  $\gamma$ 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<sup>13)</sup>。

## 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-17A 産生型(以下、 $\gamma\delta$ T17)と IFN- $\gamma$  産生型(以下、 $\gamma\delta$ T-IFN $\gamma$ )の2種類に大別される。 $\gamma\delta$ T17 細胞は CD27<sup>-</sup>、IFN- $\gamma$ 産生型は CD27<sup>+</sup>である。IFN- $\gamma$ 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 $\gamma$ ) と innate-like (自然免疫様) (以下、innate-like  $\gamma\delta$ T-IFN $\gamma$ ) の2つのタイプに分けられる<sup>14,15)</sup> (図 3A)。conv.  $\gamma\delta$ T-IFN $\gamma$ 細胞は TCR 応答性が高く、一方、innate-like  $\gamma\delta$ T-IFN $\gamma$ 細胞は TCR 応答性は低いが、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- $\gamma$ を産生する。

末梢組織での $\alpha\beta$  T 細胞の恒常性維持に 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 $\gamma$ 、conv.  $\gamma\delta$ T-IFN $\gamma$ 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 $\gamma$ 細胞も IL-7 に応答して増殖するが、conv.  $\gamma\delta$ T-IFN $\gamma$ 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 $\gamma$ 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 $\gamma$ 細胞も野生型マウスに移植した時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 $\gamma$ 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 $\gamma$ 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<sup>15)</sup> (図 3)。

$\alpha\beta$  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 $\gamma$ 4 欠損マウスでは遠位の TCR $\gamma$  遺伝子 (V $\gamma$ 2) の転写が低下するが、胸腺の V $\gamma$ 2<sup>+</sup>  $\gamma\delta$  T 細胞数は変化しない。一方、E $\gamma$ 4 欠損マウスのリンパ節や脾臓の V $\gamma$ 2<sup>+</sup>  $\gamma\delta$  T 細胞数が減少していた。減少したのは innate-like  $\gamma\delta$ T-IFN $\gamma$ の V $\gamma$ 2<sup>+</sup>  $\gamma\delta$  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 (図 3B)。さらに、野生型マウスならびに E $\gamma$ 4 欠損マウスの innate-like  $\gamma\delta$ T-IFN $\gamma$  V $\gamma$ 2<sup>+</sup>  $\gamma\delta$  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 $\gamma$ 4 欠損マウス由来の細胞は野生型由来に比べて生存維持が低下していた。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 $\gamma$ 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<sup>13)</sup>。

## 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おこな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 $\alpha$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  locus. *J. Immunol.*, **195**, 1804-1814.

- 10) Tani-ichi, S., Satake, M., & Ikuta, K. (2009) Activation of the mouse TCR $\gamma$  enhancers by STAT5. *Int. Immunol.*, **21**, 1079-1088.
- 11) Masui, N., Tani-ichi, S., Maki, K., & Ikuta, K. (2008) Transcriptional activation of mouse TCR J $\gamma$ 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 $\gamma$  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<sup>+</sup>CD45RB<sup>high</sup>  $\gamma\delta$  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- $\gamma$ -producing  $\gamma\delta$  T cells to homeostatic cytokines. *J. Immunol.*, **196**, 645-654.

## 図の説明

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 $\alpha$  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 $\alpha$  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 $\gamma$ 遺伝子座の模式図

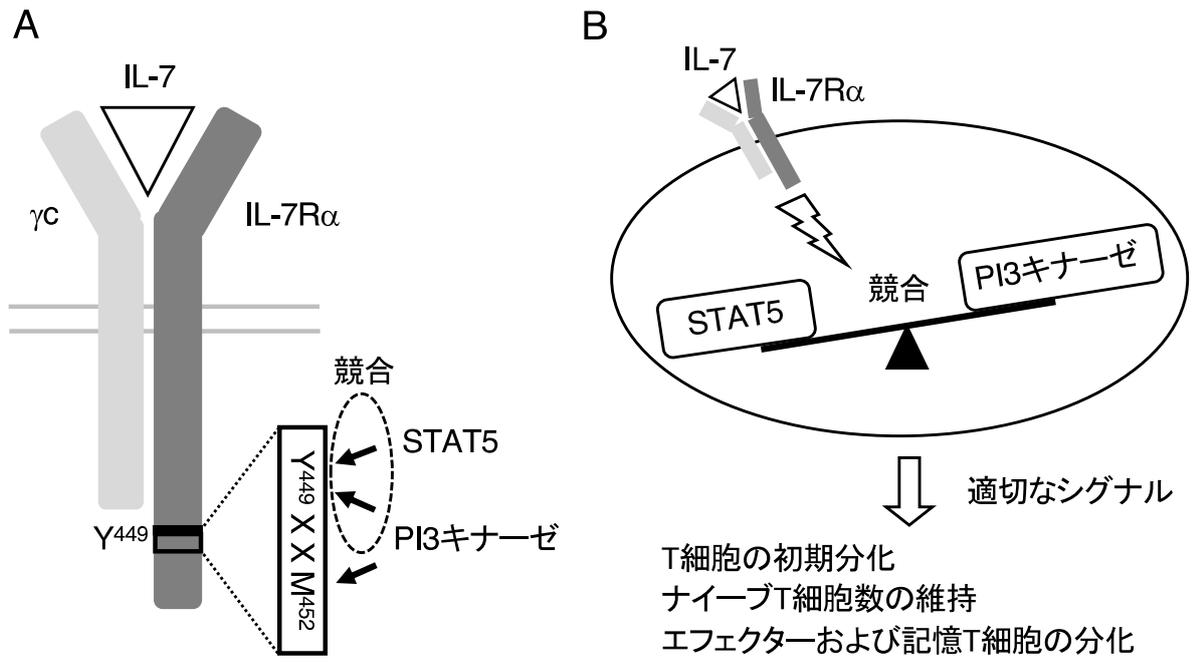
IL-7R シグナルで活性化された転写因子 STAT5 は、TCR $\gamma$ 遺伝子座の J $\gamma$ プロモーターと E $\gamma$ エンハンサーに結合する。

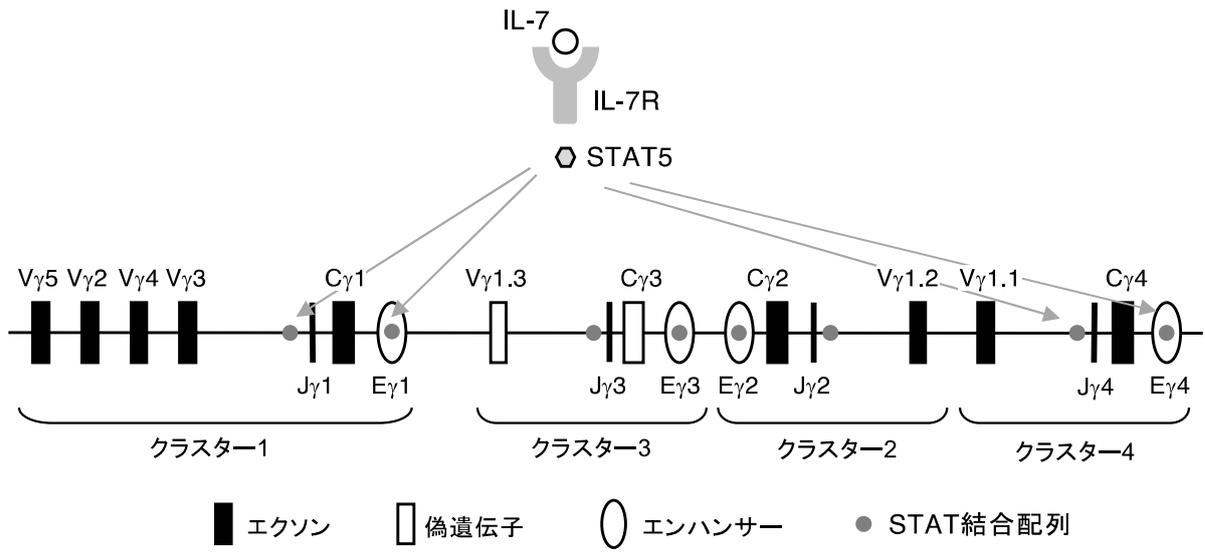
図 3.  $\gamma\delta$  T 細胞の機能的分類と刺激応答性

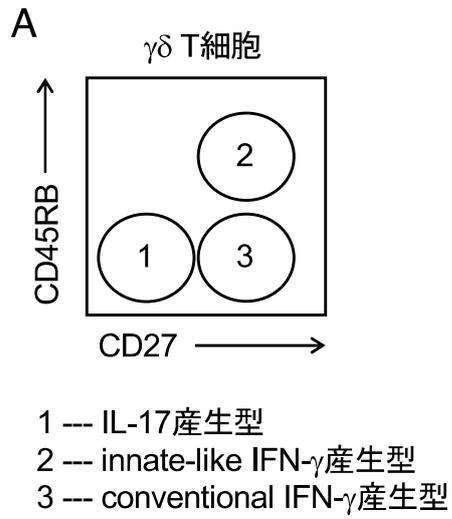
A.  $\gamma\delta$  T 細胞は、CD27 と CD45RB の発現パターンによって IL-17 産生型、innate-like IFN- $\gamma$ 産生型、conventional IFN- $\gamma$ 産生型に分けられる（フローサイトメトリーの概念図）。E $\gamma$ 4 欠損マウスでは、末梢リンパ組織の V $\gamma$ 2<sup>+</sup>  $\gamma\delta$  T 細胞のうち、innate-like  $\gamma\delta$ T-IFN $\gamma$ サブセットのみが減少する。

B.  $\gamma\delta$  T 細胞の 3 つのタイプの相違点。

図1







**B**

	TCR刺激 応答性	IL-7 応答性	IL-15 応答性
IL-17産生型	低い	高い	低い
innate-like IFN- $\gamma$ 産生型	低い	中	高い
conventional IFN- $\gamma$ 産生型	高い	中	中