

第 1 部

免疫系とは？

Host defense against infection : Immunity



Recognition of MHC and peptide

鈴木 春巳

微生物学教室 助教授
本館3F 内線 2227

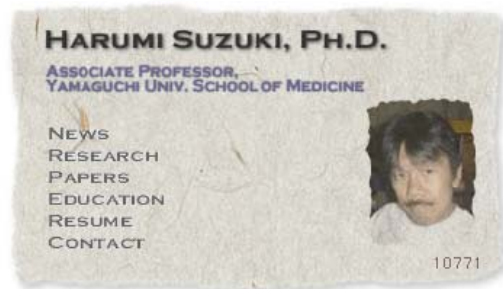
suzukih@yamaguchi-u.ac.jp

略歴

平成元年 東京大学農学系博士課程修了
平成3年 東京大学農学部助手
平成4年 アメリカNIHポスドク
平成8年 慶応大学医学部助手、講師
平成13年 山口大学医学部助教授

ホームページ

<http://www.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~suzukih/lab>



主要な原著論文

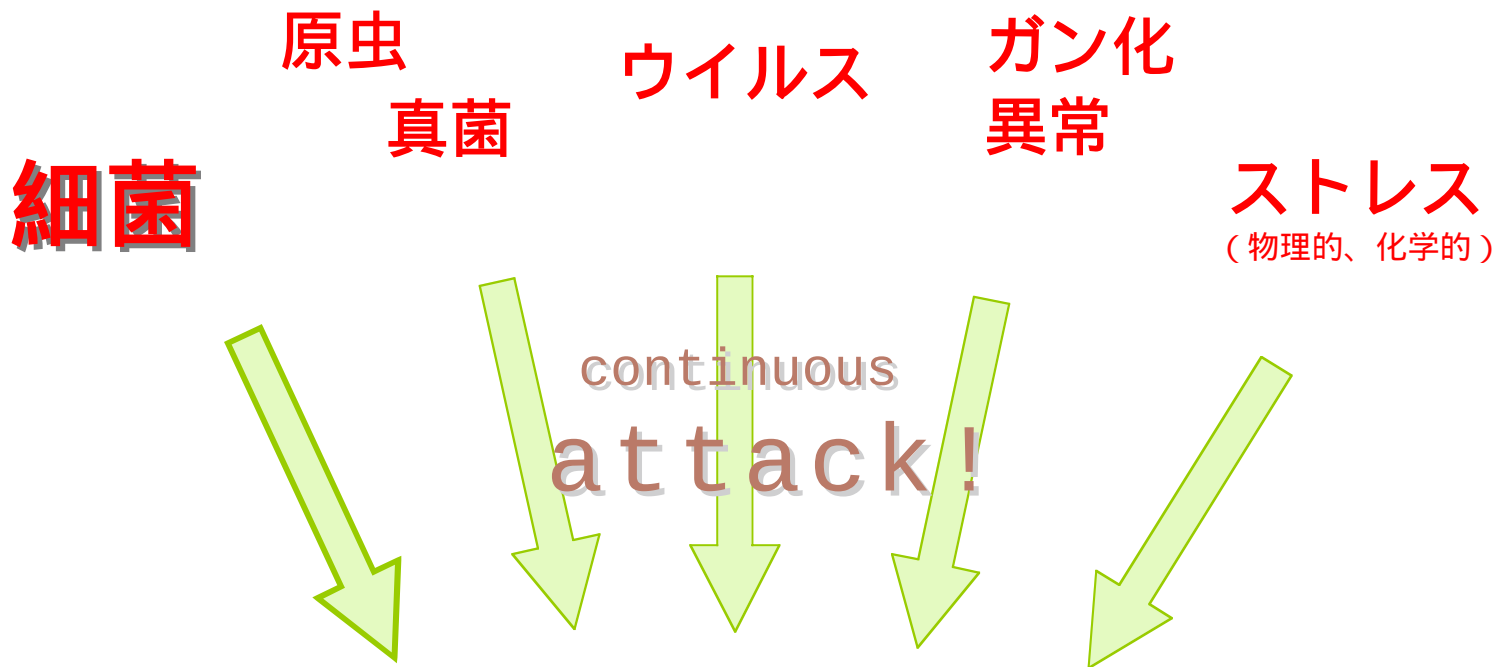
Nature (1994) 371, 67
Immunity (1995) 2, 413
J. Exp. Med. (1997) 186. 17
Science (1999) 283. 390
Nature Genetics (1999) 21. 230
Nature Immunol. (2003) 4. 280

主要な著書、総説

「免疫00-01」中山書店 80 (2000)
「免疫学がわかる」羊土社 p18 (2000)
「新用語ライブラリー免疫」羊土社 p124 (2000)

最新医学 54, 2162 (1999)
医学のあゆみ 194, 390 (2000)
臨床免疫 37, 403 (2002)





病原微生物の排除
異常細胞の排除

生体防御

生体防御

1. 非免疫反応（物理的防御 & 免疫担当細胞以外、アポトーシス）

a. 感染防御

リゾチーム（鼻汁だ液中のペプチドグリカン分解）
ディフェンシン、キャスリシジン（抗菌ペプチド、気道粘膜上皮、膜構造の攪乱、顆粒中）
IFN α/β （ウイルス 2 本鎖 RNA で活性化されウイルス蛋白の合成を阻害）

b. 異常細胞修復、除去

放射線、化学ストレス DNA 損傷
細胞周期停止、修復、アポトーシス（p53）

2. 免疫系（二段構えの防御）

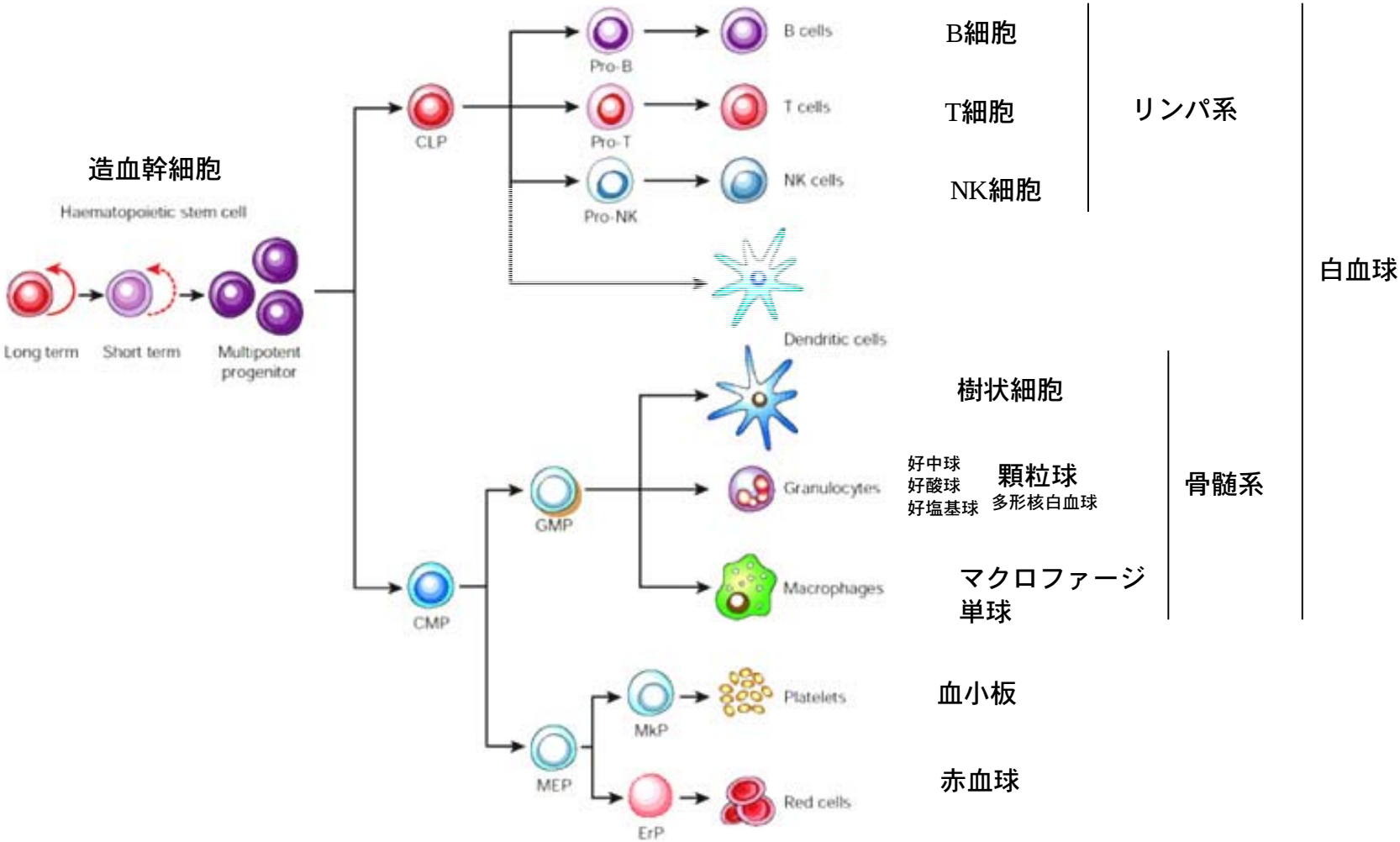
a. 自然免疫 好中球、補体、マクロファージ、NK、樹状細胞、NKT細胞、

微生物に特異的なパターンを認識（Pathogen-Associated Molecular Patterns）、先天的速効性、T細胞に依存しない、日常の感染防御における主役。
昆虫、ウニ、線虫にもあり

b. 獲得免疫 B細胞（抗体）、T細胞（ヘルパー・キラー）、樹状細胞

抗原特異性が高い（T細胞に依存）、時間がかかる、後天的に教育される
非自己なら何に対しても反応できる。記憶の形成（ワクチン）、魚類以上

免疫担当細胞のいろいろ

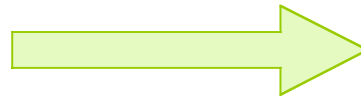


自然免疫 Innate Immunity

病原菌に対する防御機構

微生物に特有な
物質、構造

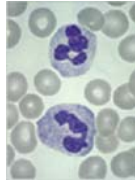
感染、ストレス、ガン化
等の異常時にだけ発現す
る宿主側の物質



攻撃、排除

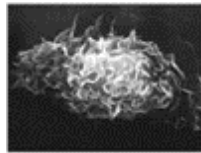
自然免疫軍団のプレイヤーたち

日常繰り返されている病原菌の感染に対するルーチンワーク



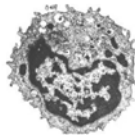
好中球
Neutrophil

微生物を食べて殺し、炎症を誘導する



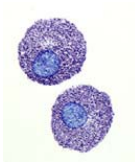
マクロファージ
Macrophage

何でも食べて警報を出す



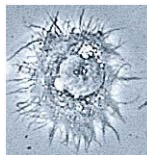
NK（ナチュラルキラー）細胞
Natural killer

ウイルス感染細胞、ガン細胞を殺す



マスト細胞
Mast Cells

ヒスタミンの貯蔵庫、アレルギー



樹状細胞
Dendritic Cells

抗原提示、獲得免疫の入り口



補体系
Complement

蛋白質。微生物の認識、障害、炎症誘導&抗体のエフェクター

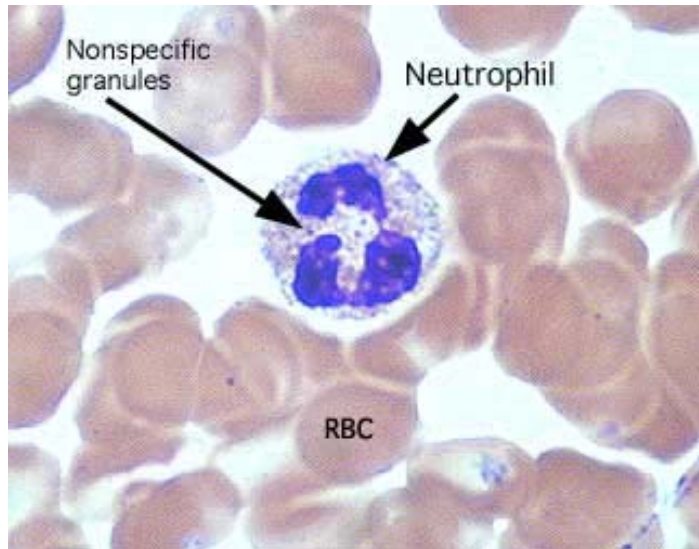
好中球

neutrophil

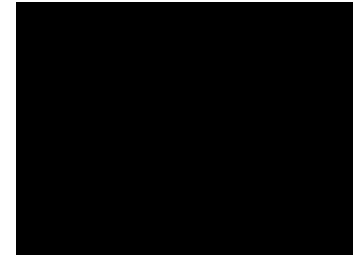
多形核白血球 顆粒球

polymorphnuclear Leukocyte (PMN) , granulocyte

最前線の殺し屋

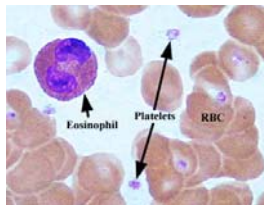


分葉した核を持つ（単核）
全白血球の50-70%
短命、炎症部位へ遊走
貪食の主役
lysosomeが発達



顆粒の中には抗菌ペプチド（キカスリシジン）、ミエロパーオキシダーゼ、ムラミダーゼ等の殺菌力を持つ酵素が充満している。

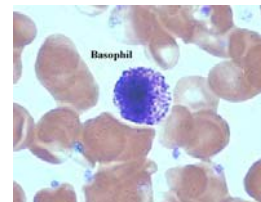
Fcレセプター、補体レセプター、TLR2,4陽性
抗体や補体によって活性化され、活性酸素（殺菌、組織破壊）を産生、**炎症の主役**。



好酸球

eosinophil

顆粒内にMBP(major basic protein)を持ち、寄生虫の排除に働く



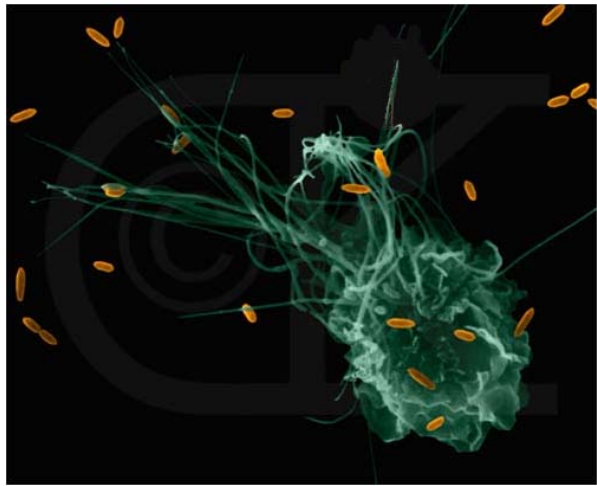
好塩基球

basophil

FcεR、ヒスタミン顆粒を持ち、マスト細胞と同様、アレルギー応答に関わる。

マクロファージ、単球

macrophage, monocyte



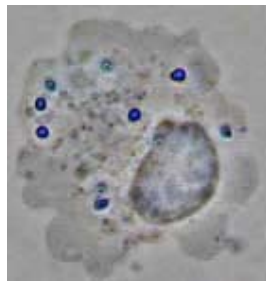
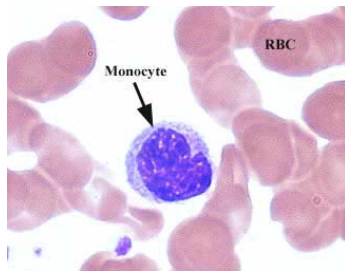
単核食細胞、
末梢血中で単球、分化してマクロファージ
肝臓（クッパー細胞）、肺胞マクロファージ
食食作用、飲作用
リソソーム（加水分解酵素）顆粒

マンノース受容体、C3b、Fcレセプター、スカベンジャーレセプター、TLRs

活性化してIL-1、IL-6、TNF α （炎症性サイトカイン）、
IFN γ （細胞免疫活性化サイトカイン）、各種ケモカインを
産生。好中球などを誘引、活性化。
活性酸素、NO産生によって殺菌

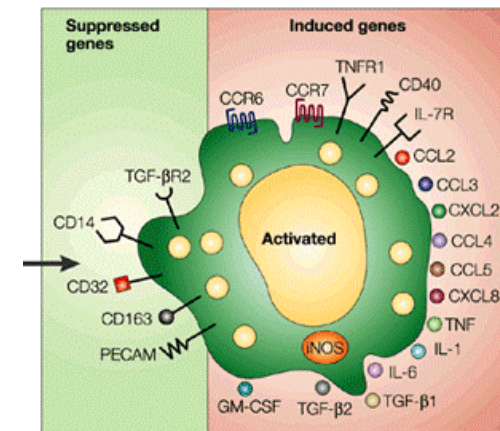
アポトーシスで死んだ細胞をすぐさま除去する。

単球（血中）



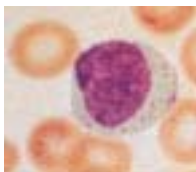
ビーズを食食したマクロファージ

貪食、殺菌、掃除 & 警報発令



NK細胞

Natural killer cell



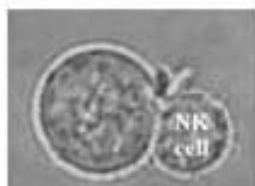
異変した細胞を除去する

大型顆粒リンパ球。パーフォリンによる細胞障害。
CD16, CD56, NKR-P1, IL-2R β 陽性、分化にId2, IL-15が必要

ウイルス感染細胞、ガン化した細胞、**クラスIの発現を失った**細胞を殺す。FcRによる抗体依存性細胞障害、**IFN γ** 、TNF α 産生。

細胞障害

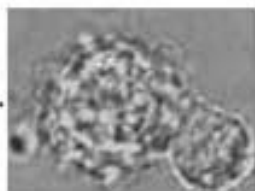
0



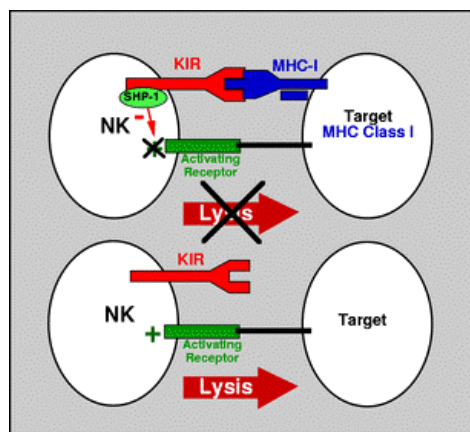
10 min.



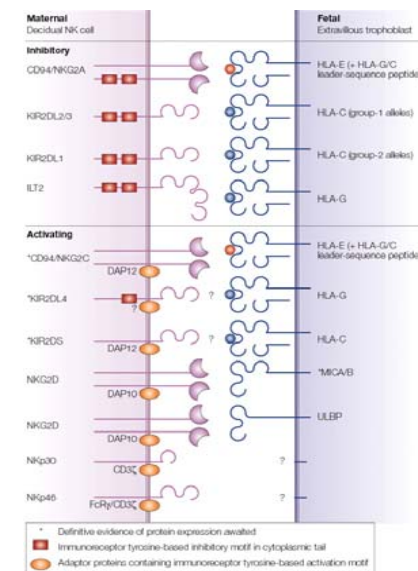
15 min.



MICA (ストレス誘導) クラスI MHC	→	NKG2D (DAP10) NKR-P1 (ITAM)	殺す
クラスI MHC HLA-G/E (胎盤)	→	KIR (ITIM)	殺すシグナルを阻害

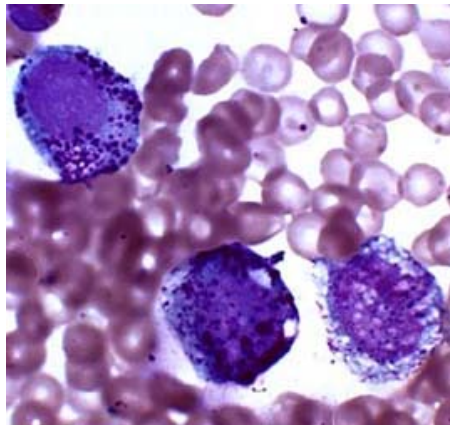


Missing self theory



マスト細胞 (肥満細胞)

Mast cell

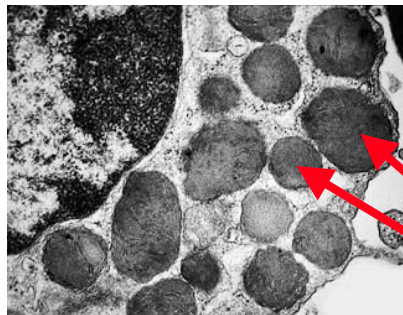


あらゆる臓器に多数 (10^{12} 個) 存在

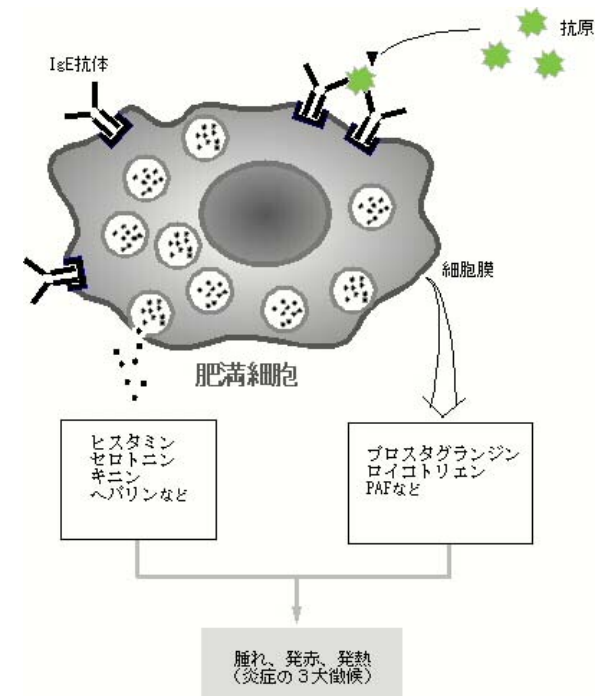
補体 (C3) レセプター、Fcεレセプター、TLR2, 4 発現

IgE抗体および補体によって活性化され、脱顆粒によってヒスタミン、セロトニン等の炎症誘導物質を放出。
血管透過性の亢進、炎症の誘導。

TLR刺激ではサイトカイン ($\text{TNF } \alpha$) 産生
即時型アレルギー応答の主役



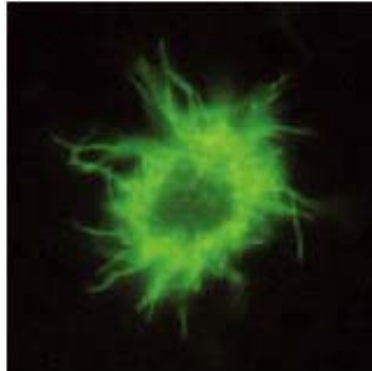
ヒスタミン顆粒



樹状細胞

dendritic cell

抗原提示 - 自然免疫と獲得免疫の橋渡し役



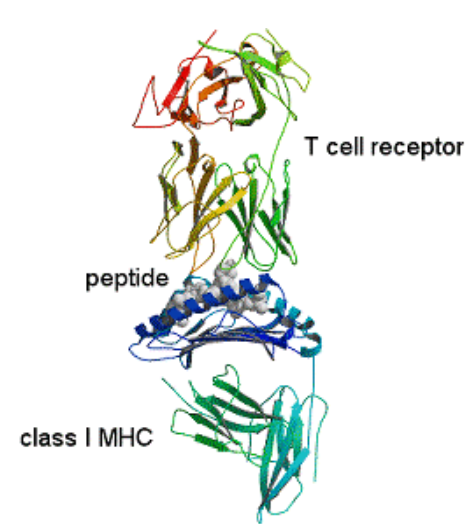
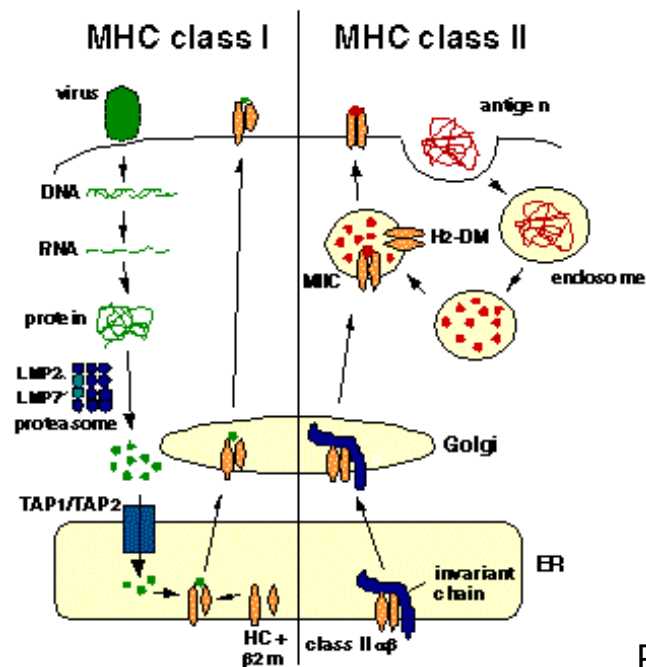
CD11c陽性、樹状

ランゲルハンス細胞、血中、組織中にも未熟型

骨髓系（リンパ系、プラズマサイトイド系）

TLRs、マンノースレセプター、FcR陽性、**貪食能**。

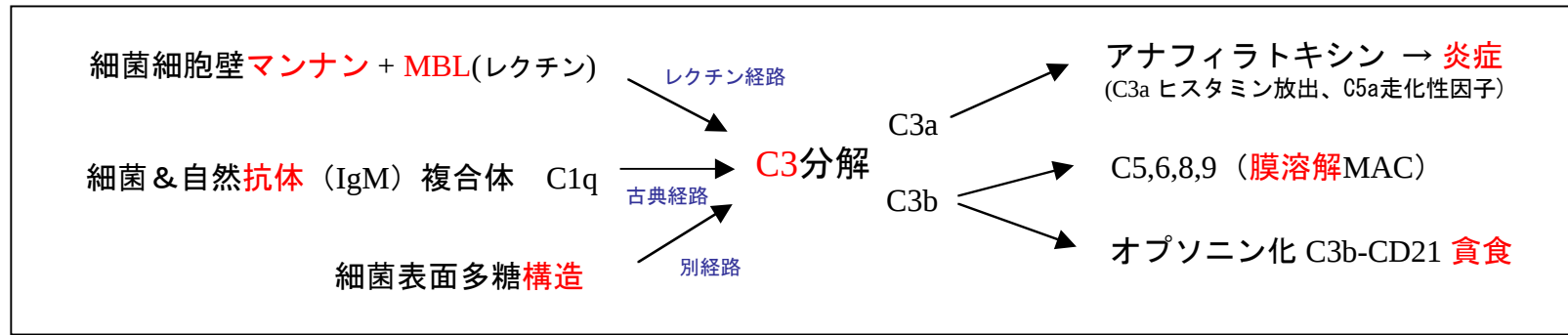
末梢（局所）で抗原を取り込んで成熟、リンパ管へ移動、ナイーブ **T細胞** へ **抗原を提示** する。成熟型はクラスII MHC、共刺激分子（CD86, CD40）を発現。細胞外から取り込んだ抗原でもクラスI載せることができる（クロスプレゼンテーション）。



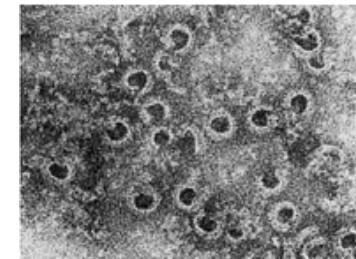
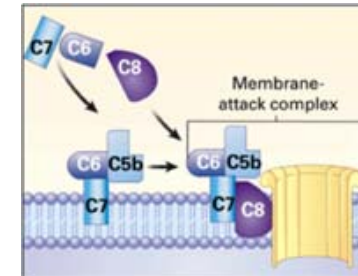
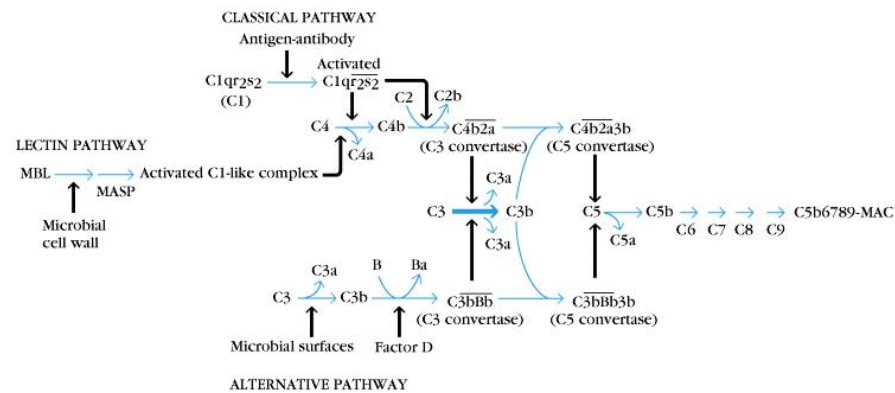
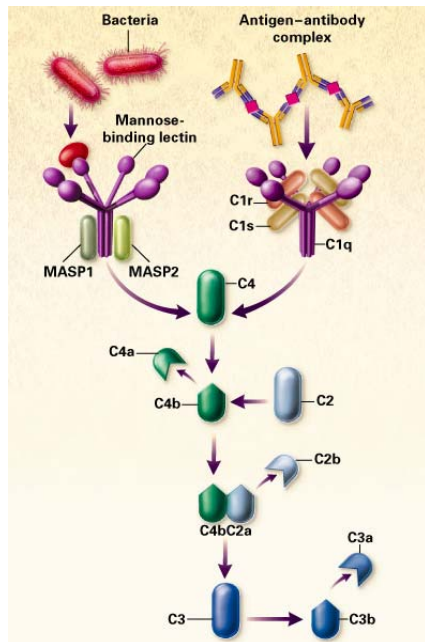
Plasmacytoid DC（TLR9でIFN α 産生）、IDC（胸腺内） FDC（胚中心）

補体系 (別経路、古典経路)

抗原を排除し、炎症を引き起こす。
 抗原抗体複合体 (古典経路) あるいは細菌成分 (別経路) によって活性化される。



* 補体だけでなく、抗体も FcR を介してオプソニン化する



自然免疫軍団 (2軍)

NKT細胞

Va14-Ja281 単一レパトア CD1dに提示されたガラクトシルセラミド、
微生物由来の糖脂質を認識、IFN γ 産生、IL-4産生、抗腫瘍作用

$\gamma\delta$ T細胞

$\alpha\beta$ と比べて多様性が少ない、皮膚や腸管上皮に多い、V γ 2/V δ 2はマイコプラズマ
由来のピロリン酸モノエステルを認識。 熱ショックたんぱく質、MICAも認識
 γ 産生 IFN

DN- $\alpha\beta$ T細胞

(CD8 $\alpha\alpha$ IEL)

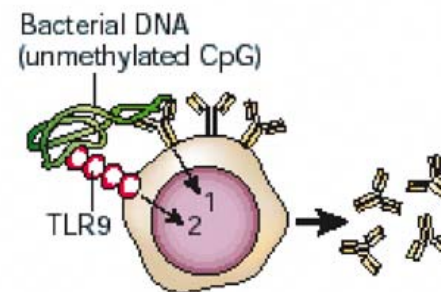
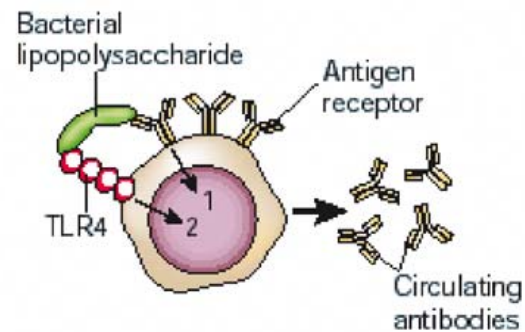
CD1に提示された結核菌のミコール酸、ホスホイノシチドマンノシド、
マンノシルホスホドリコール等を認識 IFN γ 産生

B1細胞 (CD5陽性 B 細胞)

腸内細菌に対するIgM自然抗体を産生

B2細胞(一部)

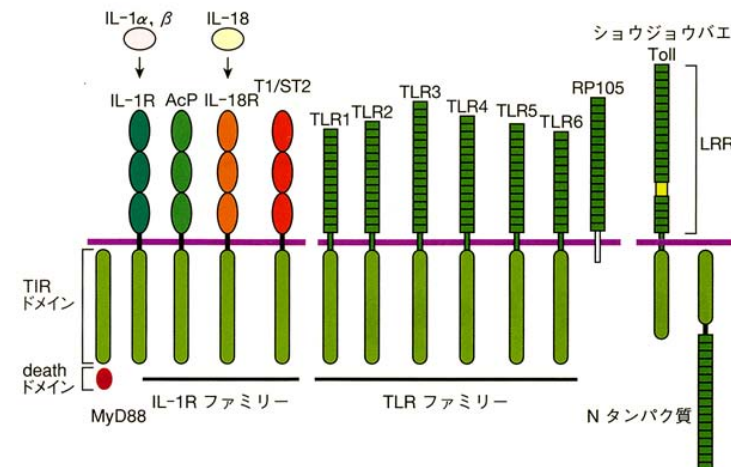
TLR に結合できるような抗原に対する抗体はT細胞のヘルプなしに作られる？



TLR (Toll-like receptors) パターン認識レセプター

ショウジョウバエの体軸決定に関与する遺伝子として取られた。
マクロファージ、好中球、樹状細胞、B細胞に発現
多くの細菌に共通な成分 (LPS, ペプチドグリカン) に結合、
NF- κ Bの活性化を介してサイトカイン産生を誘導

TLRs	リガンド
TLR2	リポ蛋白、ペプチドグリカン
TLR4	LPS (リポ多糖)
TLR5	フラジェリン (鞭毛蛋白)
TLR9	非メチル化 CpG DNA
TLR3	ウイルス二本鎖RNA?
2+6	マイコプラズマ由来リポ蛋白
TLR1	TLR2とヘテロダイマー形成
7,8,10	機能不明

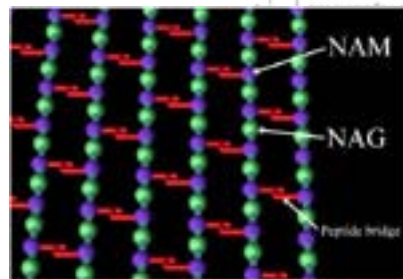
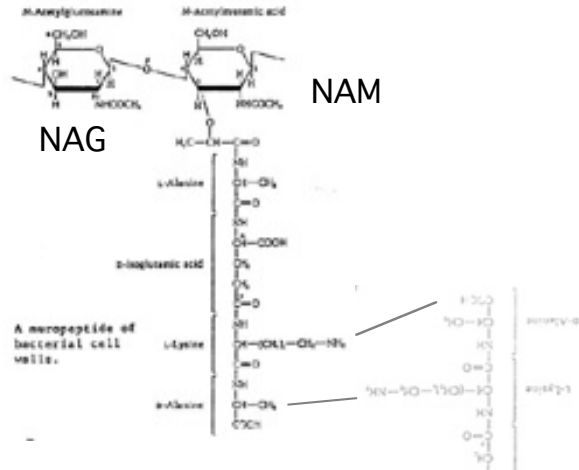
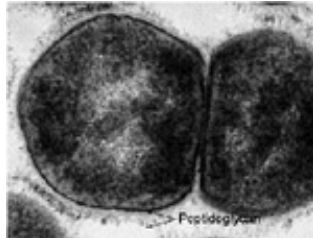


PAMP = Pathogen Associated Molecular Pattern

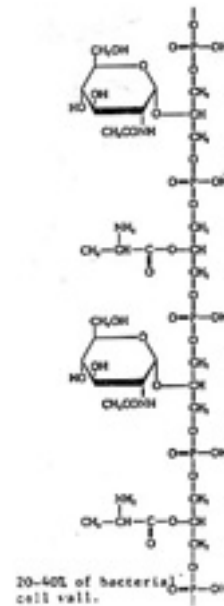
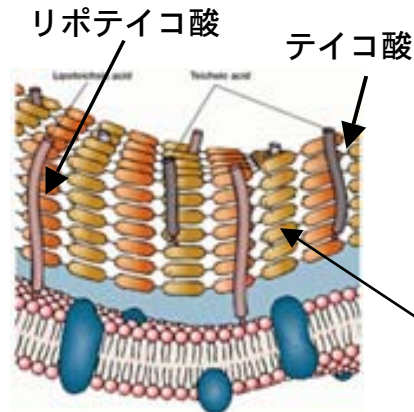
細菌の表層

グラム陽性細菌

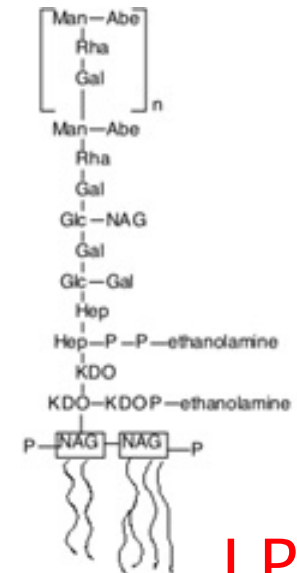
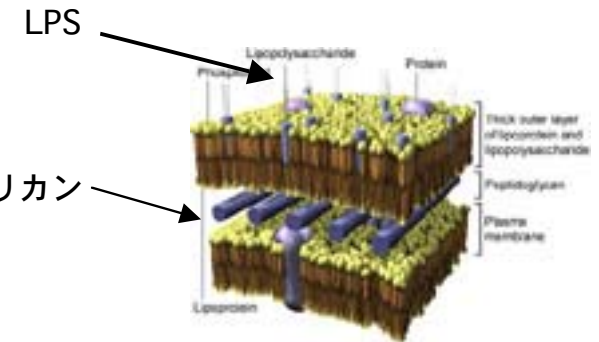
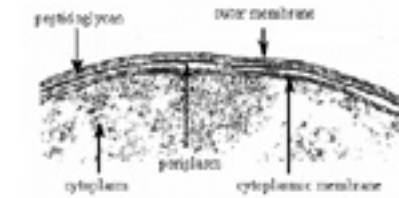
グラム陰性細菌



ペプチドグリカン

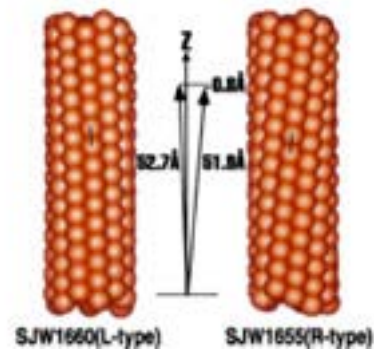
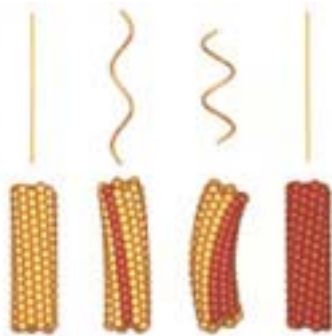
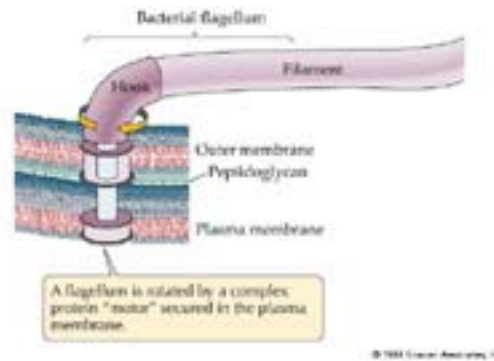


テイコ酸



LPS

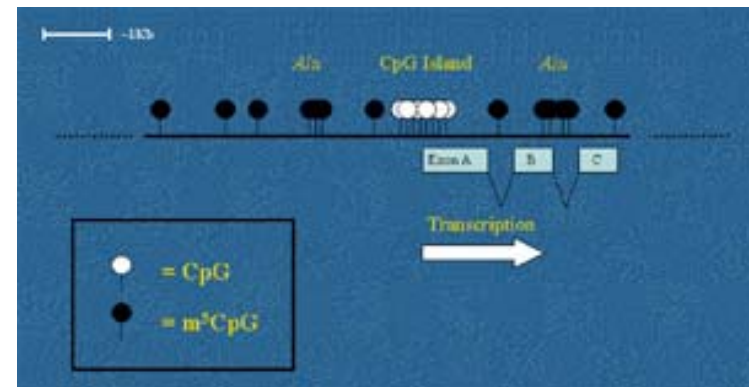
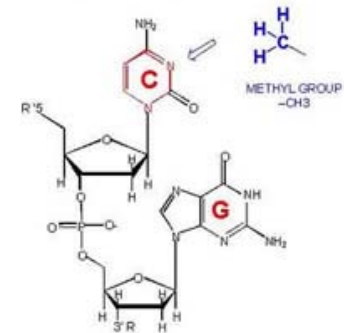
細菌のべん毛



フラジェリン

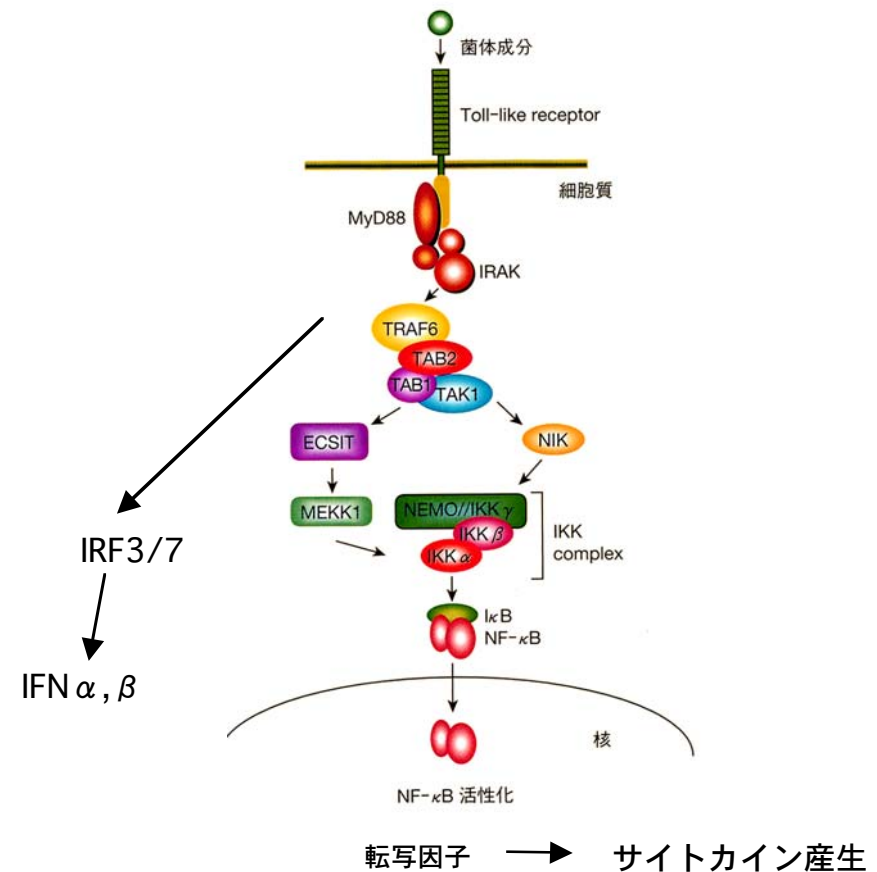
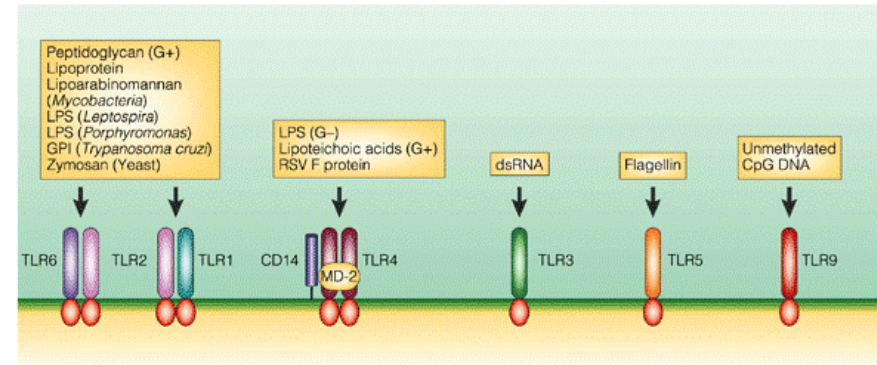
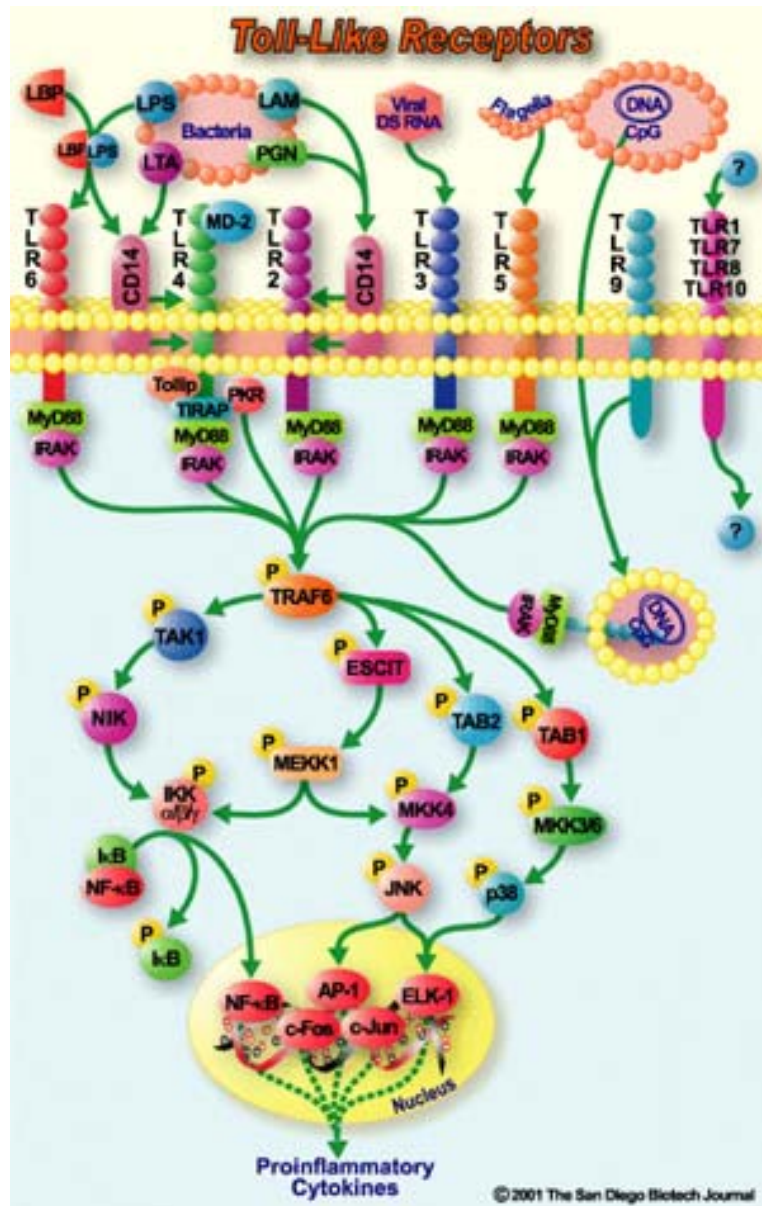
細菌のDNA

Methylation of CpG Islands in DNA

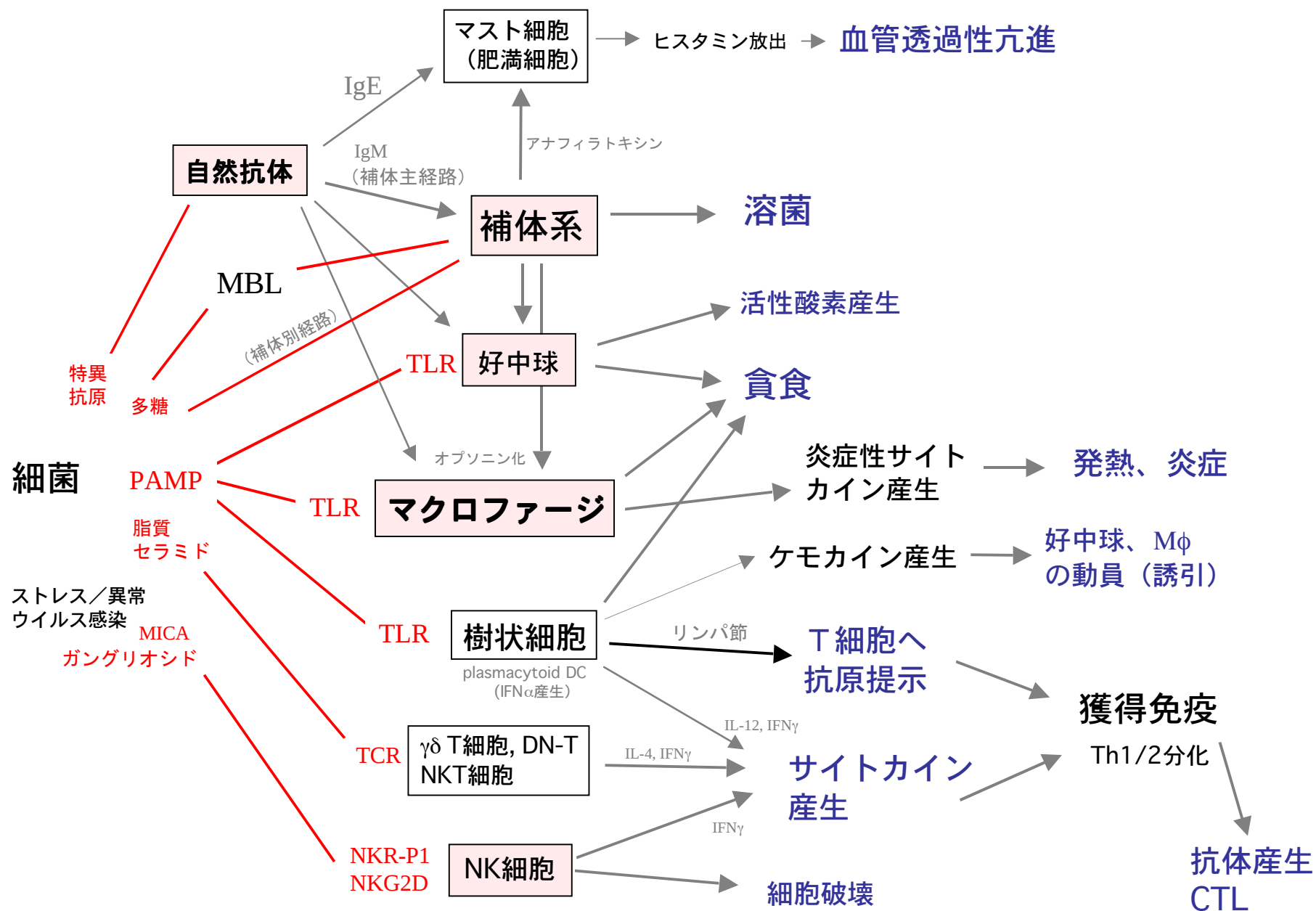


非メチル化CpG DNA

TLRのシグナル伝達

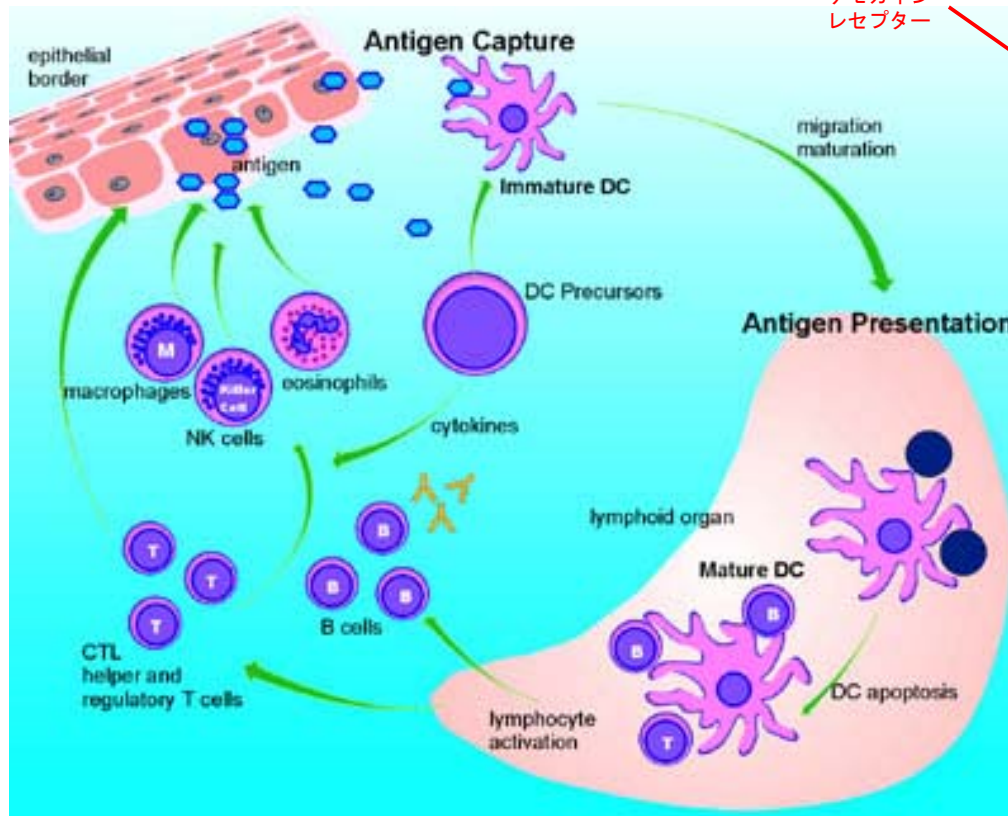
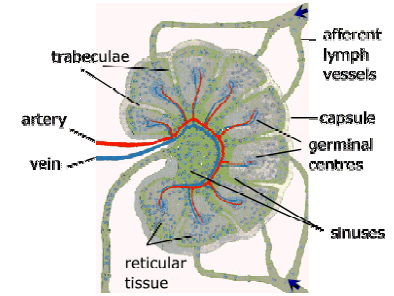
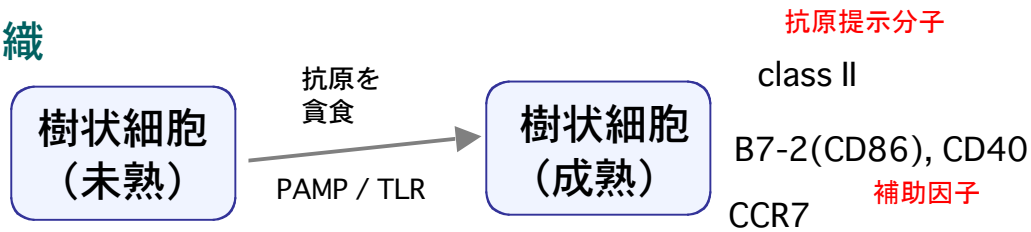


細菌の侵入に対する免疫応答



自然免疫から獲得免疫へ

末梢組織



リンパ節
(HEV)

DC, T領域

樹状細胞
(活性化)

抗原提示

ナイーブT細胞

特異的T細胞 活性化

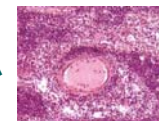
ヘルプ

B細胞活性化

クラススイッチ
体細胞突然変異

抗体産生細胞

胚中心
(GC)



獲得免疫

Acquired Immunity

(Adaptive Immunity)

何でもござれ！（自然免疫系で認識されない非自己）

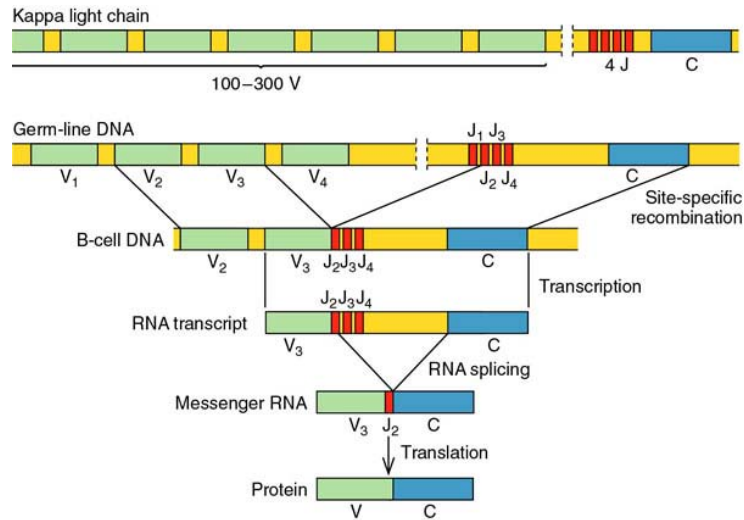
自己と非自己の識別（免疫寛容）

多様性の獲得（遺伝子再構成）

抗原特異性（クローン選択）

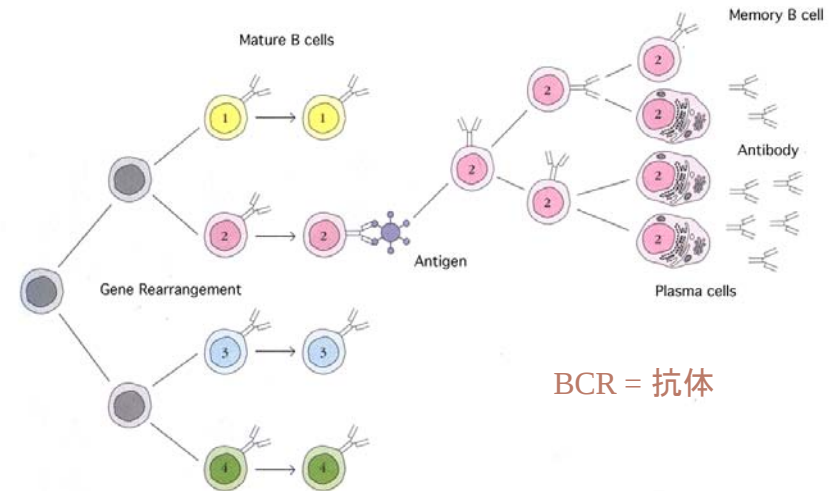
後天的教育（適合分化、T細胞の選択）

多様性の獲得（遺伝子再構成）



遺伝子再構成

抗原特異性（クローン選択）



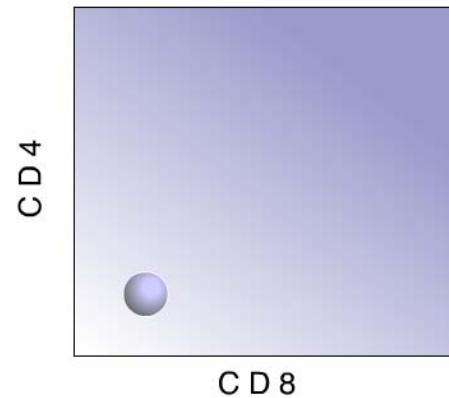
クローン選択

- T細胞、B細胞だけ**が遺伝子再構成することができる（ランダム）
- T, B細胞は細胞によってそれぞれレセプターの形が違う（多様性）
 - 抗原特異的なクローンのみが応答する（特異性）
 - T細胞のみが自己と非自己を見分けることができる（選択）

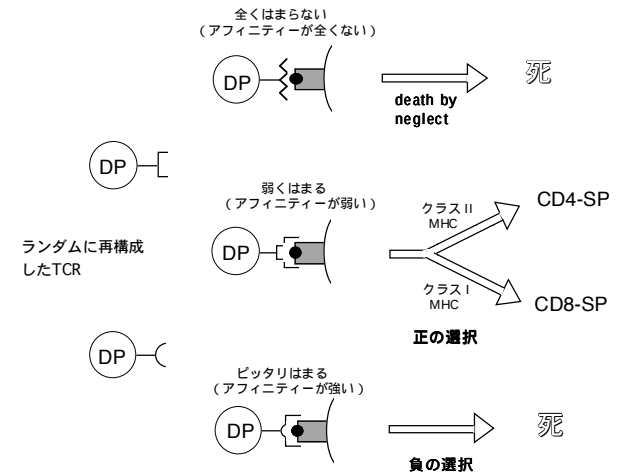
後天的教育（適合分化、T細胞の選択）



TCRによる抗原認識



T細胞の胸腺内分化



T細胞の正、負の選択

自己の成分（自己MHC+自己ペプチド）に反応するT細胞クローンは胸腺内で未熟なうちに除去される → 負の選択

同時に、将来役に立ちそうなクローン（自己MHCに弱く反応するクローン）だけを生き残らせる（適合分化） → 正の選択

自己と非自己の識別（免疫寛容）

1. clonal deletion（負の選択）

胸腺内での自己反応性T細胞クローンの除去。負の選択。

2. clonal anergy（不応答）

末梢にしか存在しない抗原 → 負の選択では除けない。 補助刺激（シグナル2）がない状態でTCRシグナル（シグナル1）が入ると、T細胞はしばらくの間、不応答状態となる。
→ シグナル2がなければ寛容になる。シグナル2を与えるのが自然免疫刺激。

3. suppression（調節性T細胞）

CD25陽性CD4-T細胞。抑制性のサイトカインを放出して免疫応答を負に調節する。抗原特異性、作用機序ともに詳細は不明。

獲得免疫の役割

T細胞 (Th1, Tr, CTL)

- Th 1** IL-2、IFN γ 、TNF β 産生 **細胞性免疫** (CTL、マクロファージ活性化)
細胞内寄生細菌 結核菌、リステリア、クラミジア STAT6, GATA-3, c-Maf
- Th 2** IL-4、5、6、13産生 液性免疫 (抗体産生) IgE アレルギー
細胞外で増える細菌、原虫、ウイルス STAT4, T-bet

誰が方向を決めるか？ バランス 遺伝的背景もある

Th 1: IL-12 (DC)、IFN (NK) Th 2: IL-4 (NKT)

DC1 (myeloid), DC2 (lymphoid), pDC (dF)

Tr 調節性 T 細胞 CD25陽性CD4-T細胞、末梢性**寛容** IL-10, TGF β 産生、Foxp3

CTL キラー T 細胞、ウイルス感染細胞、腫瘍化細胞を**殺す**

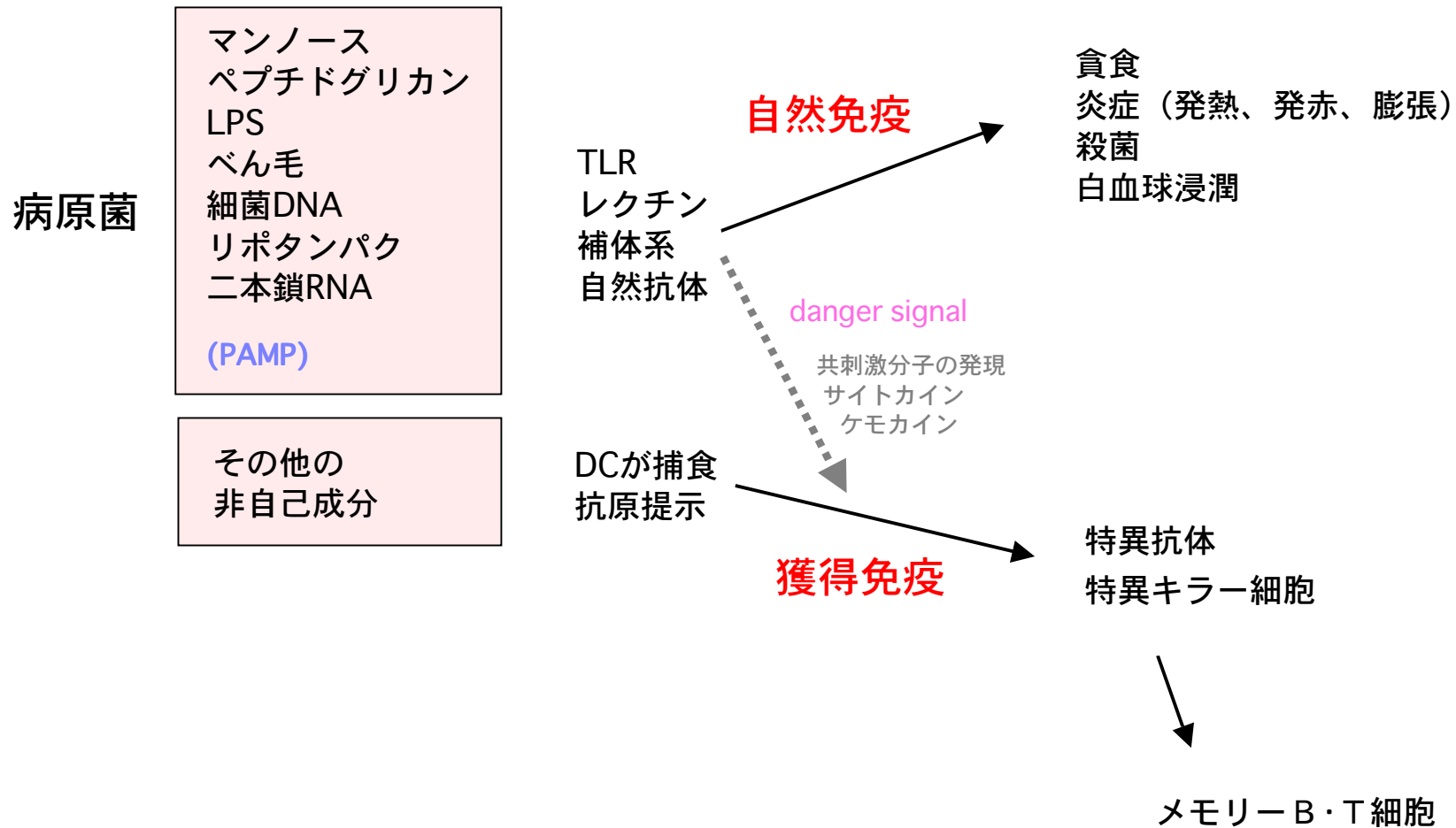
B細胞 (B2) と抗体産生

骨髄から分化、抗原をIg経路で特異的に取り込んだB細胞はTh2のヘルプにより**抗体産生**細胞へと分化 (脾臓、リンパ節、骨髄)。

胚中心 (germinal center) にてFDCによって提示された抗原抗体複合体
クラススイッチ (IL-4・IgE)、体細胞突然変異により高親和性抗体の選択

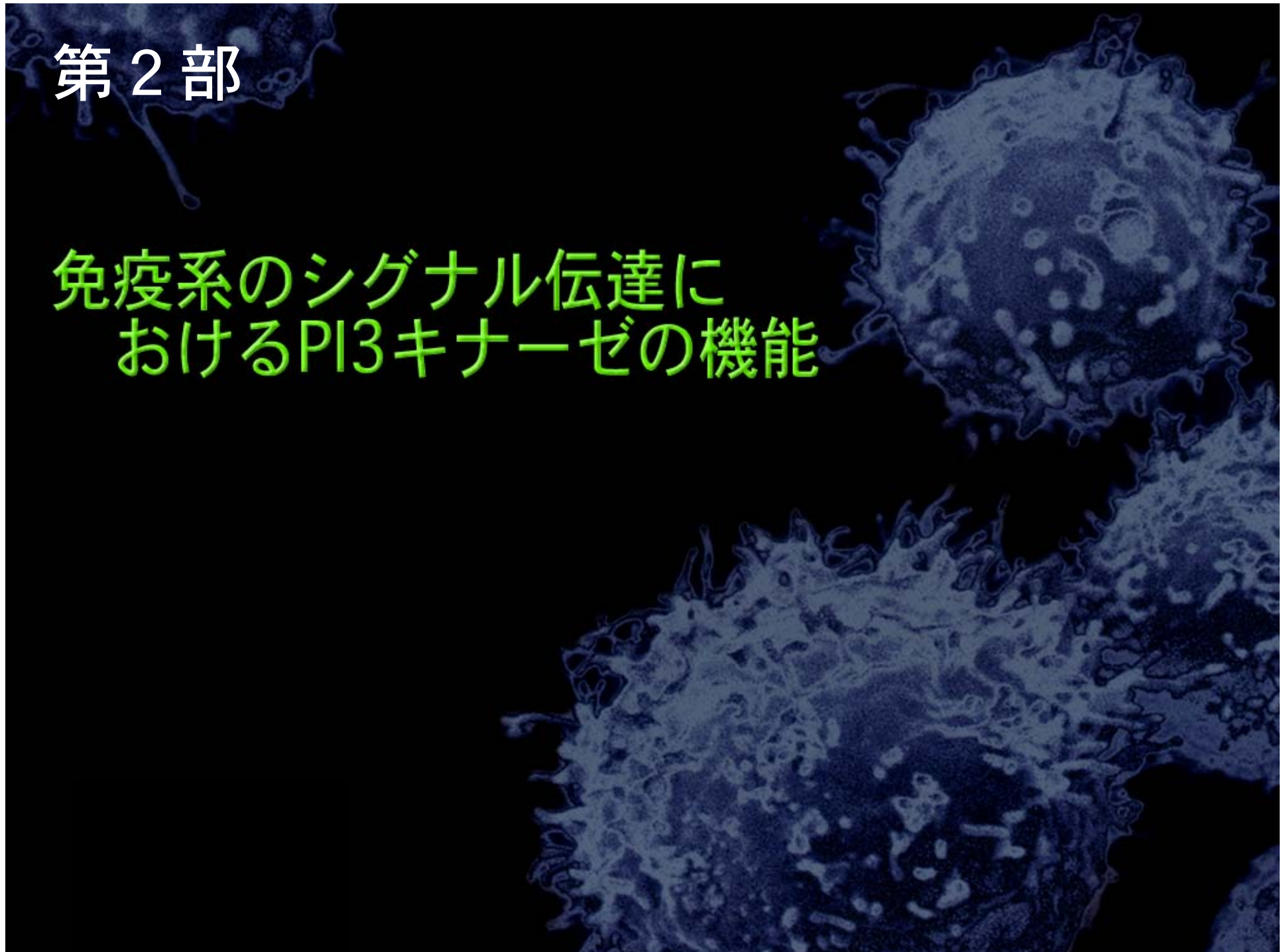
AID (Activation Induced cytidine Deaminase) RNA editing enzyme

まとめ (ダイジェスト)

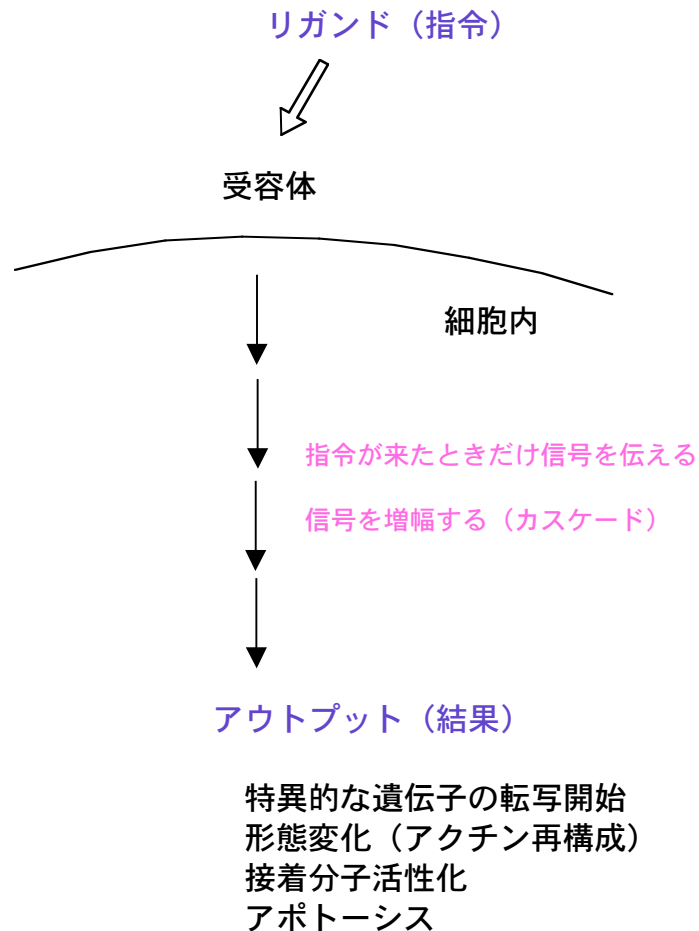


第2部

免疫系のシグナル伝達に おけるPI3キナーゼの機能



シグナル伝達とは？



シグナル伝達に関わる因子

素早くスイッチのオン・オフをしなければならない

1. 酵素活性の制御（修飾）
2. 他のタンパク質（化合物）との会合
3. 細胞内での場所の移動
4. セカンドメッセンジャーの生成
5. リプレッサーの分解、除去
6. 貯蔵物質の開放

酵素

キナーゼ
（リン酸化酵素）

チロシンキナーゼ
セリンスレオニンキナーゼ
チロシンスレオニンキナーゼ
脂質キナーゼ

フォスファターゼ（脱リン酸化酵素）

GEF（グアニン変換因子）

Gタンパク（GTPアーゼ）

プロテアーゼ

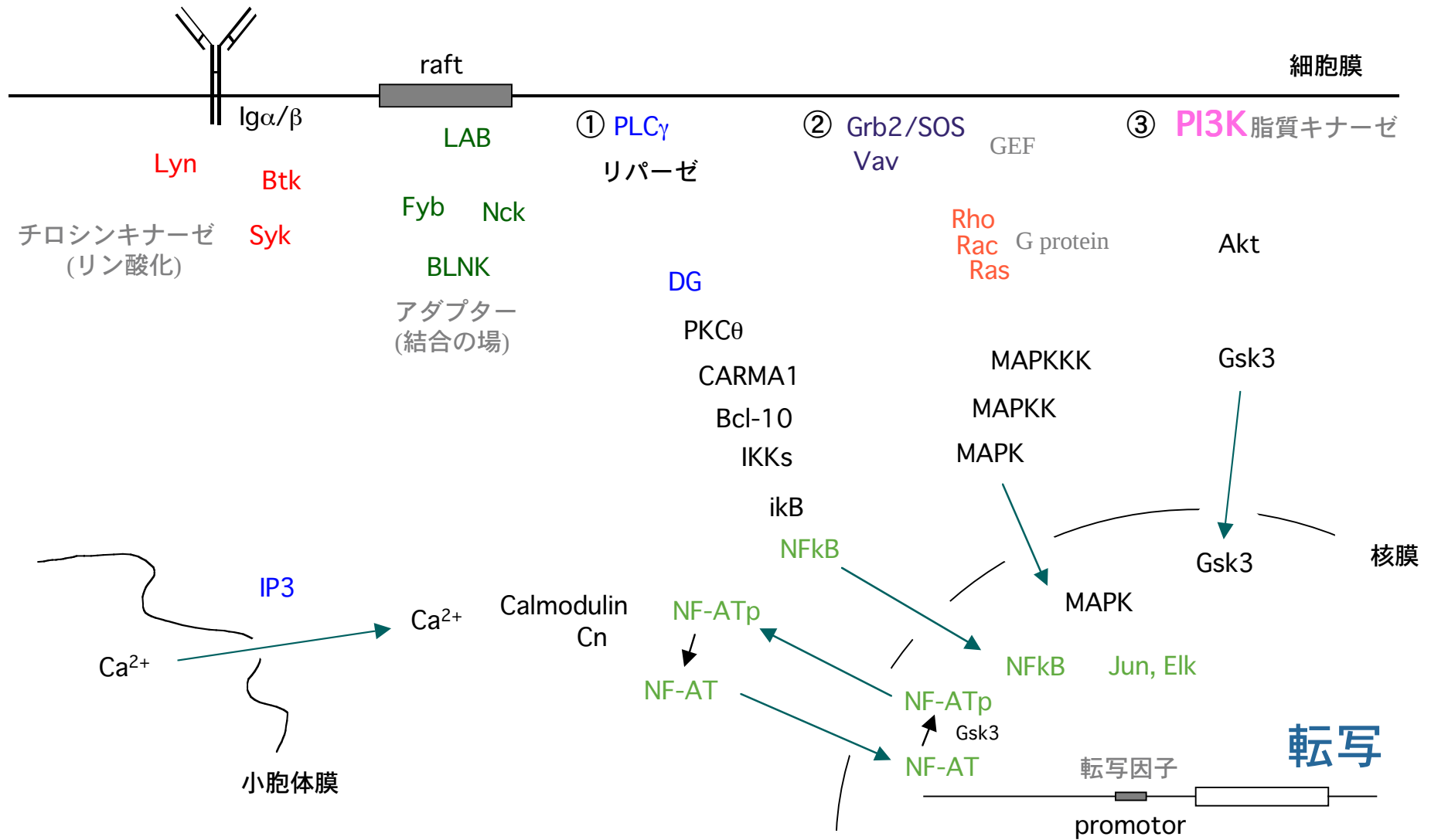
ユビキチンリガーゼ

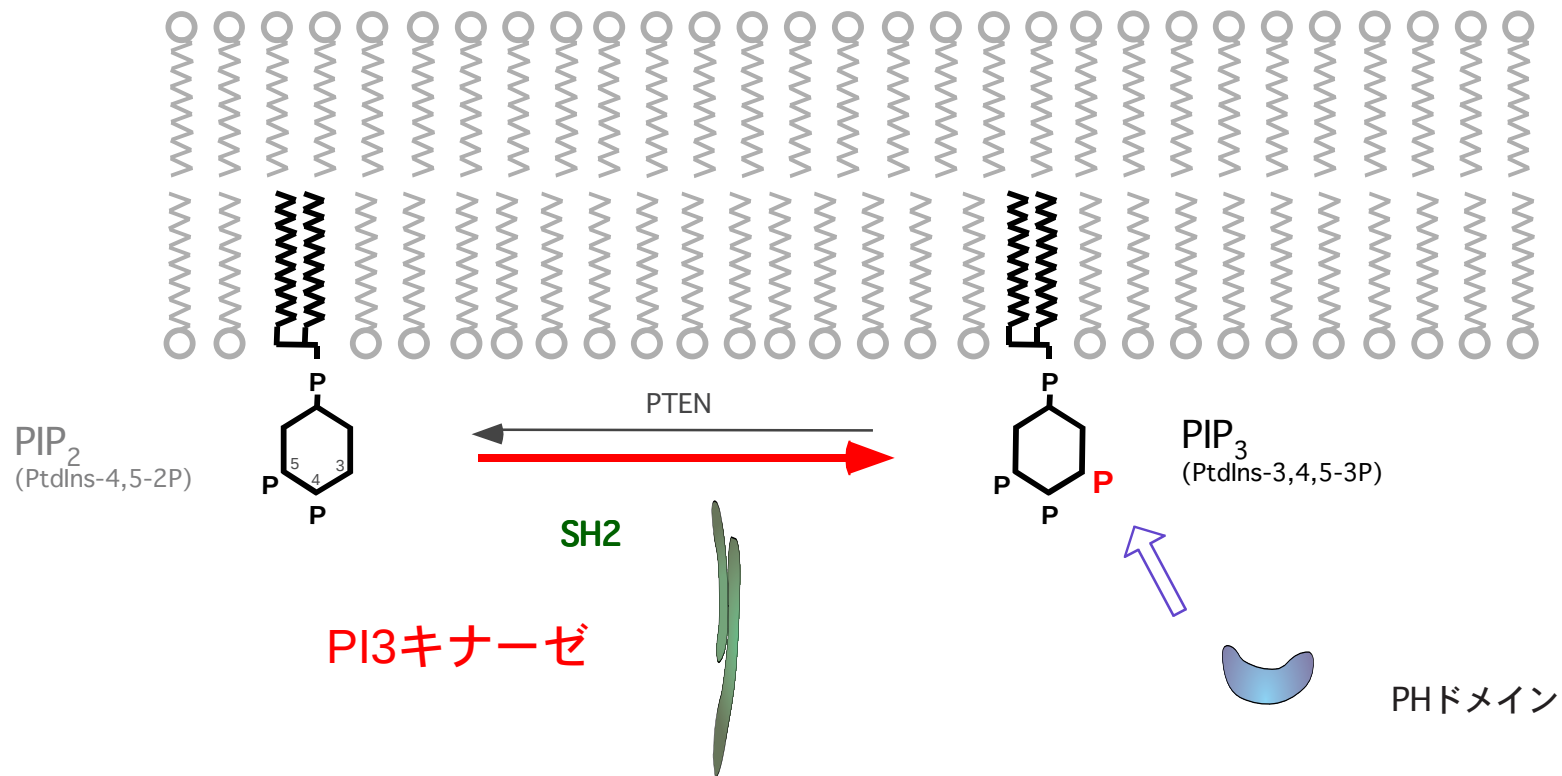
アダプター分子

チロシン残基、SH2, SH3

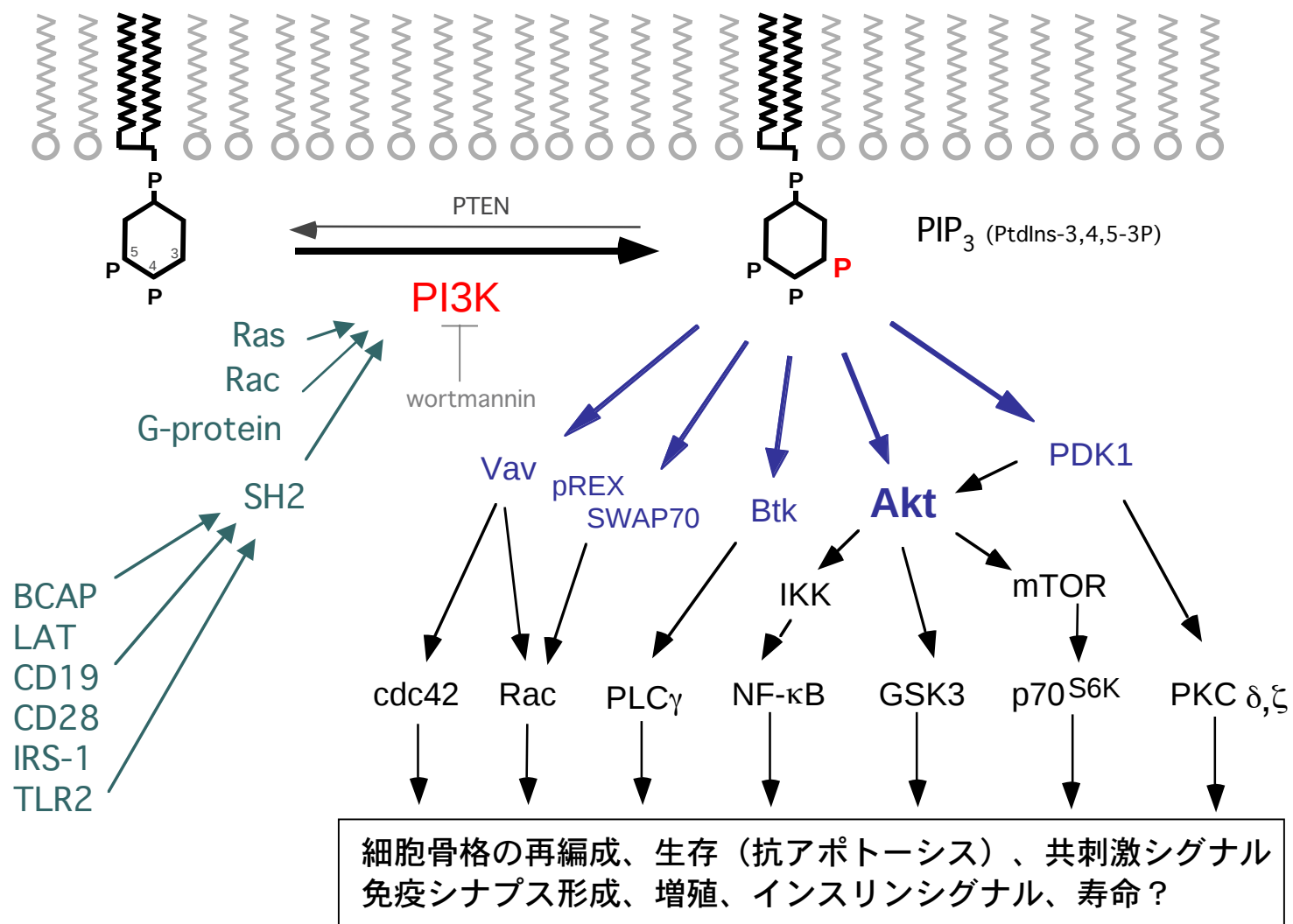
転写因子

B細胞受容体 (Ig)





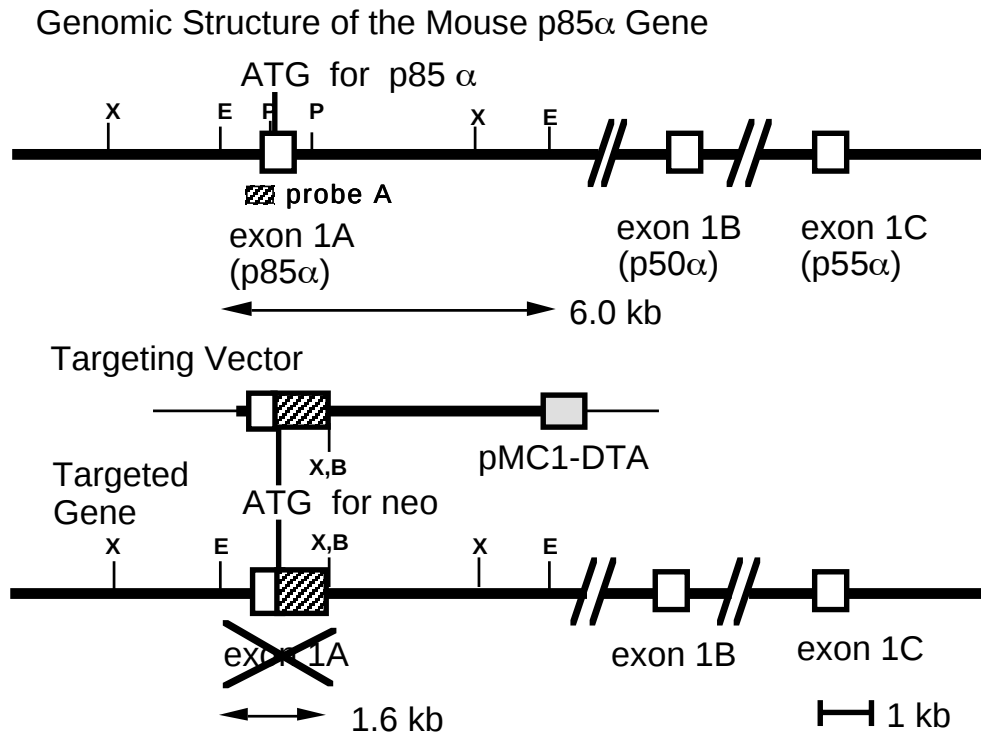
- ① 脂質キナーゼ（蛋白質ではない → 基質を活性化することはできない）
- ② 基質であるPIP₂は細胞膜に埋まっている
- ③ 生成物であるPIP₃はPHドメイン蛋白と結合
→ PHドメインを持つ蛋白を膜へと引き寄せることができる
- ④ 生成したPIP₃はPTENによりすぐさま脱リン酸化を受けてPIP₂に戻る
→ セカンドメッセンジャーとして働く



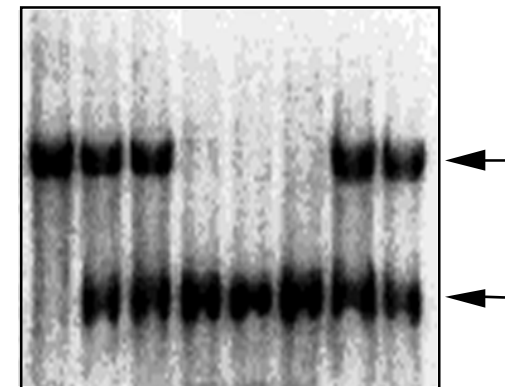
PI3Kの分類と機能

class	structure	products	function
IA			
IB			
II			
III			

ノックアウトマウスの作製



W H H N N N H H

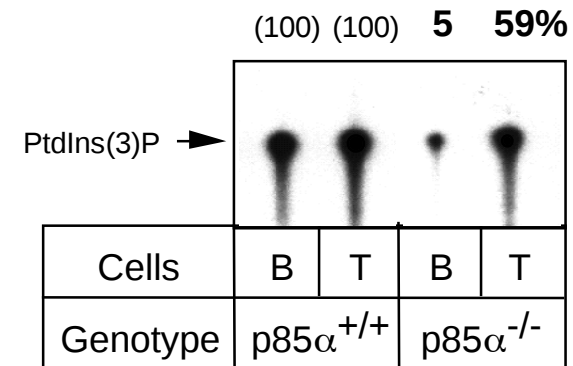
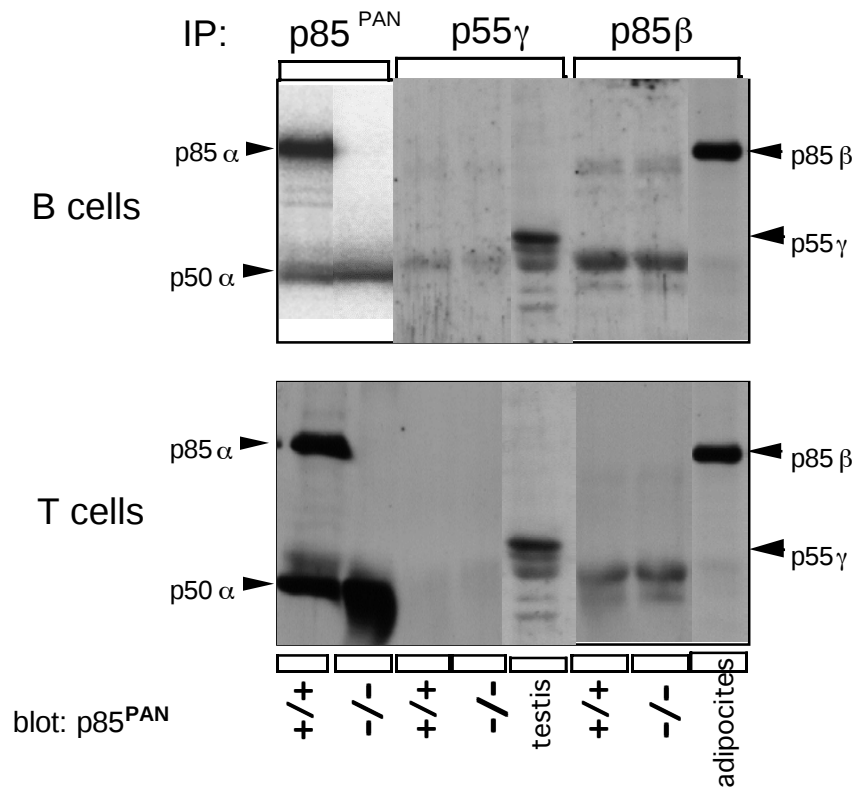


W: Wild-type

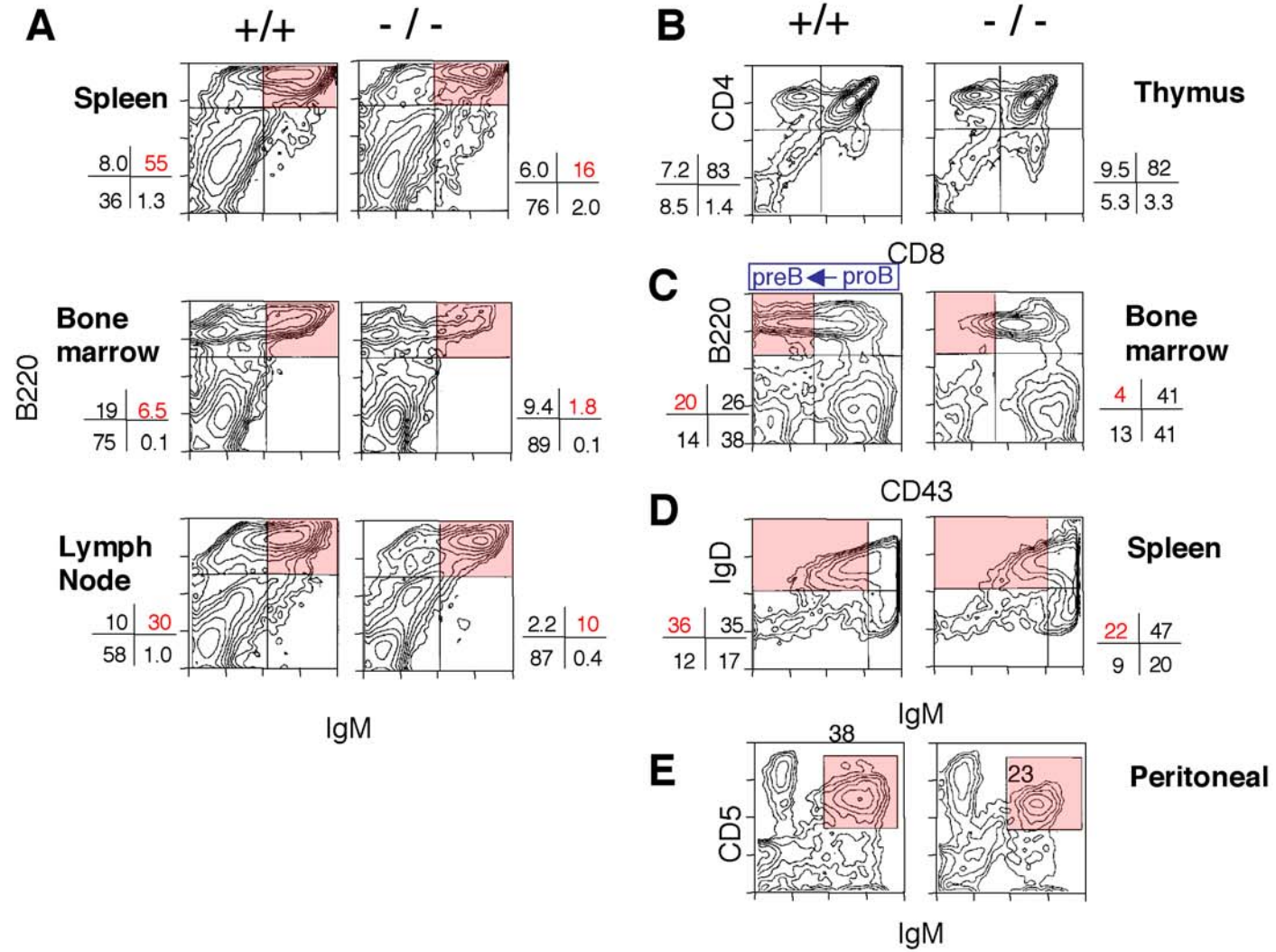
H: p85 α ^{+/-}

N: p85 α ^{-/-}

ノックアウトマウスのB細胞ではPI3K活性は殆ど消失しているが、T細胞ではかなり残っている

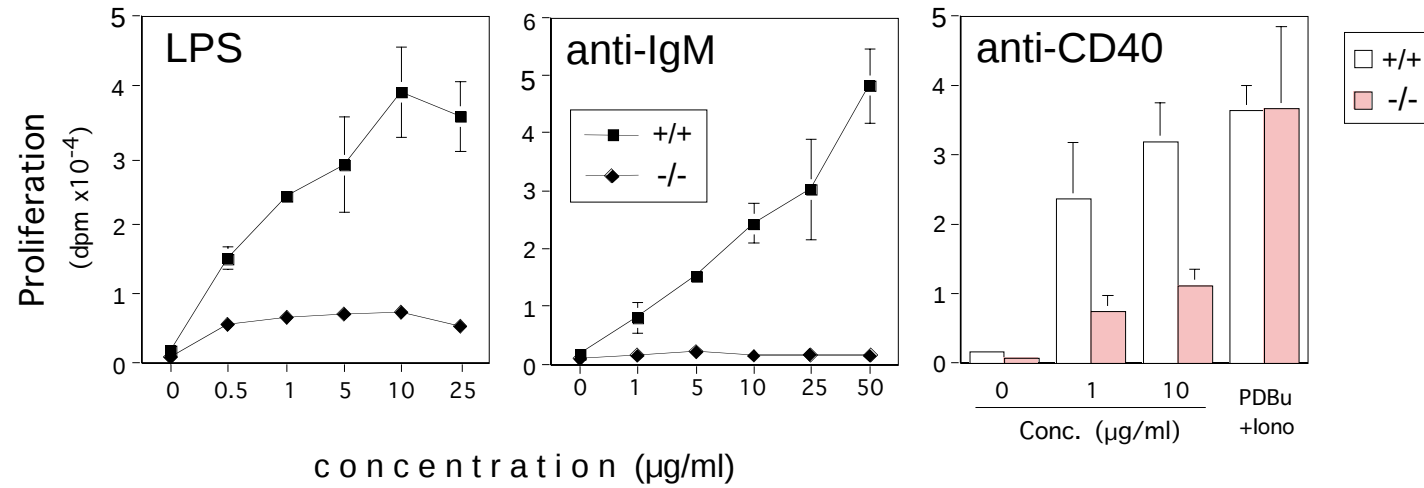


PI3KノックアウトではB細胞の分化が強く阻害されている

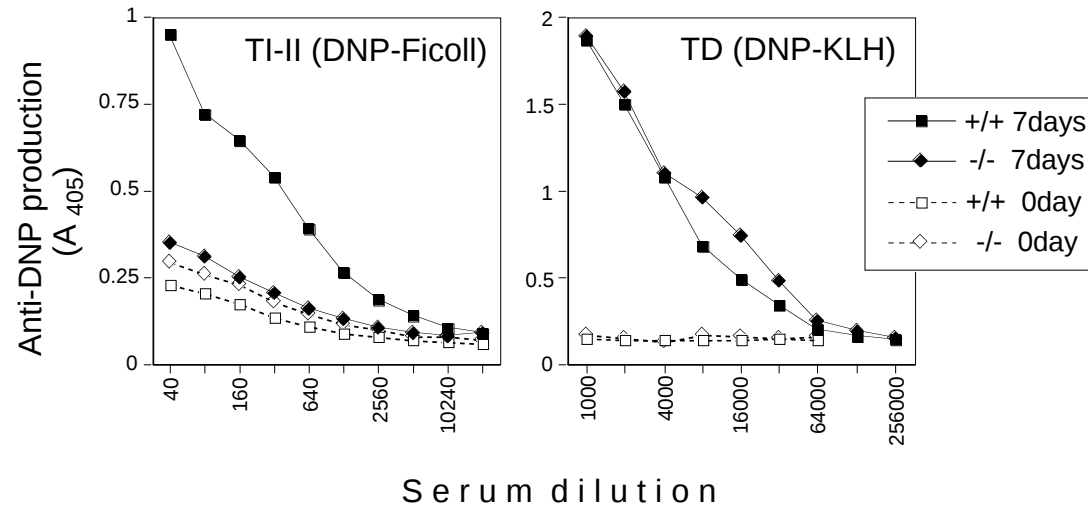


ノックアウトではB細胞の増殖、抗体産生も抑えられている

A



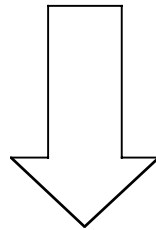
B



PI3K ノックアウトマウスの B 細胞に関する表現型

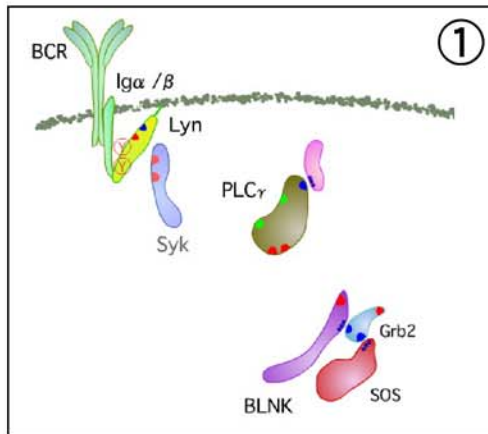
1. 末梢の成熟 B 細胞数の低下 (1/3~1/2)
2. 腹腔 B 1 細胞数の低下
3. in vitroでの抗IgM抗体、LPSによる増殖の阻害
4. T 非依存性 (TI) 抗原に対する抗体産生の阻害

PI3KはB細胞の分化、活性化に重要らしい！



疑問

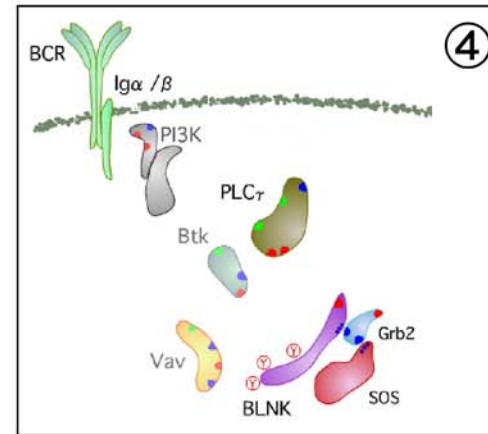
PI3Kはシグナル伝達のどこで、どのように働いているのか？



①

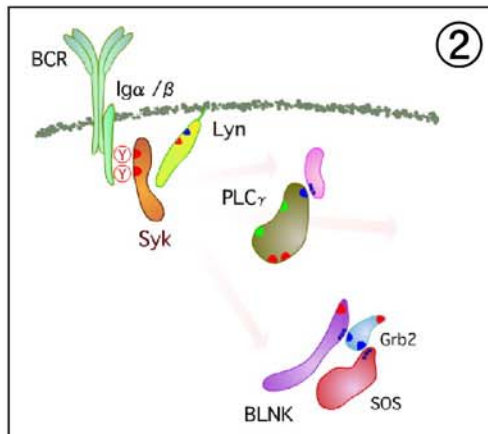
BCRクロスリンク

LynによるIgα/βの
ITAMチロシンリン酸化



④

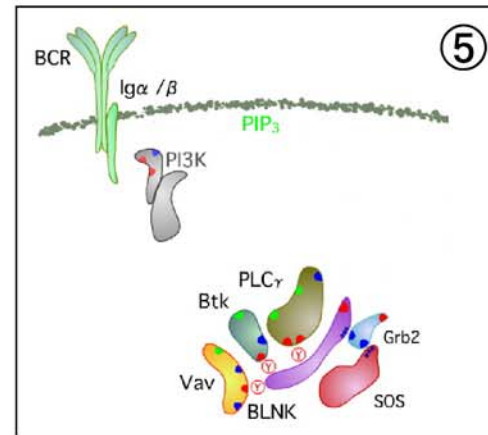
PI3Kの活性化？



②

SykがITAMに結合

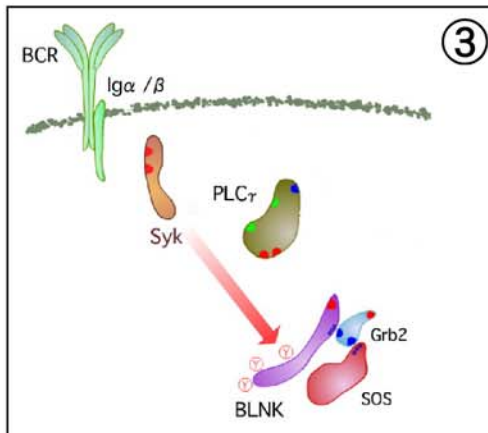
LynによるSykのリン酸化
および活性化



⑤

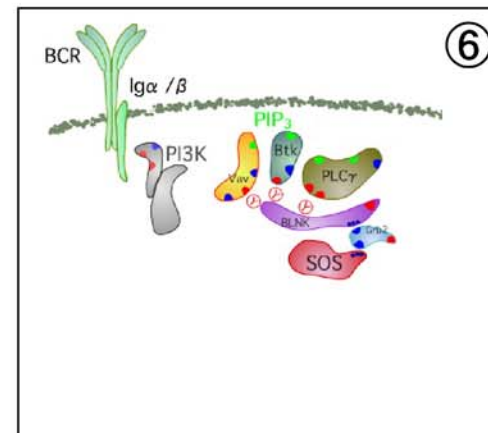
PLCγ、Btk、Vav が
BLNKに結合

PI3KがPIP3産生



③

SykがBLNKをリン酸化



⑥

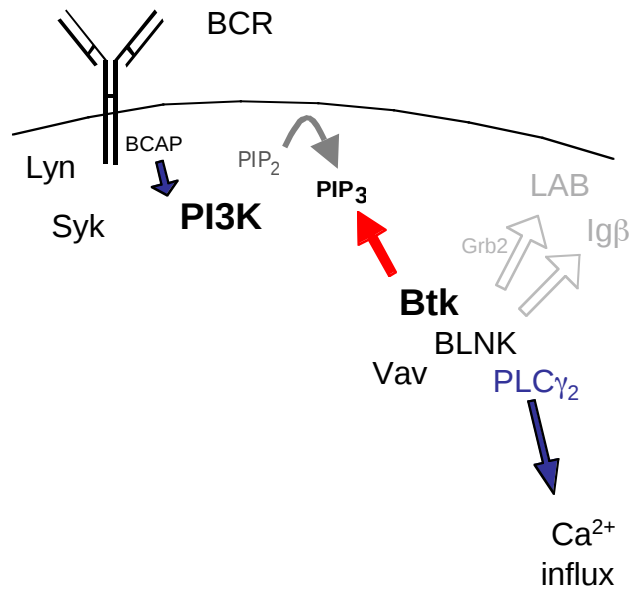
PLCγ、Btk、Vav、BLNKの
複合体が、BtkとPIP3の結合
によって膜へリクルート

BtkのLynによる活性化

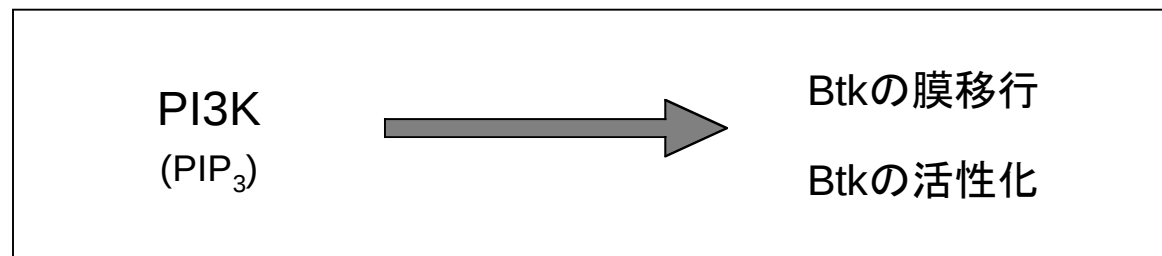
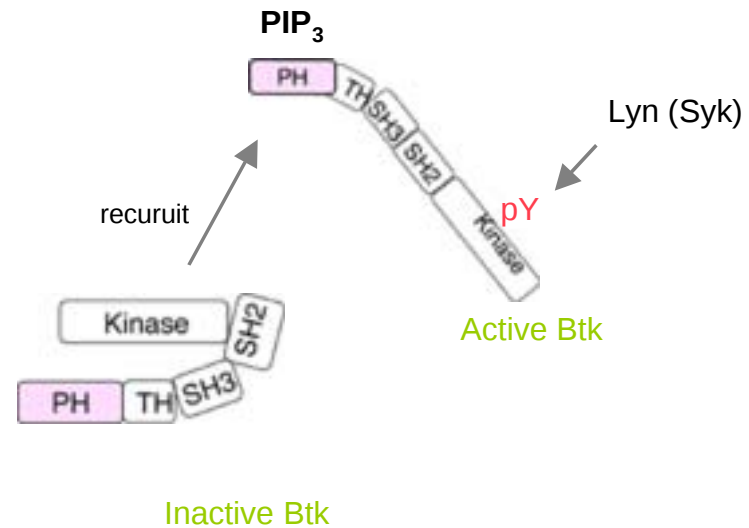
活性化BtkによるPLCγ
の活性化

↓
Ca²⁺流入

Btk と PI3K



Defective BCR signaling in Xid (Btk-PH mutation)
 Inhibition of Btk activation by PI3K inhibitor (poor results)
 Membrane recruitment of Btk-GFP was blocked by PI3K inhibitor

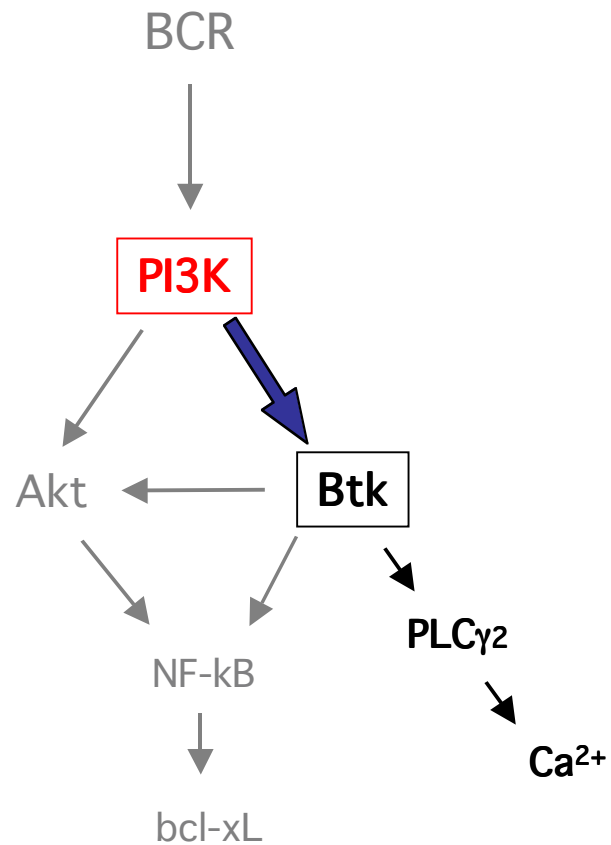


PI3K^{-/-} と Btk^{-/-} の表現型はよく似ている

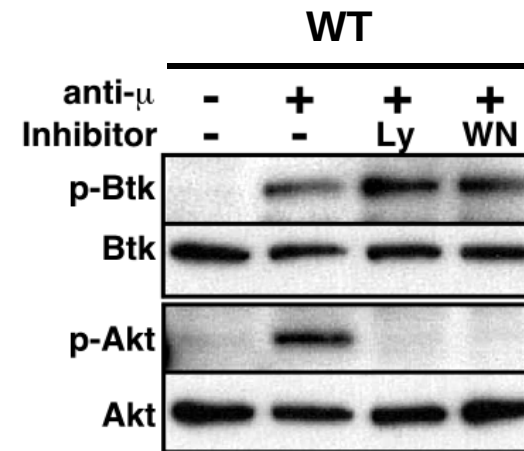
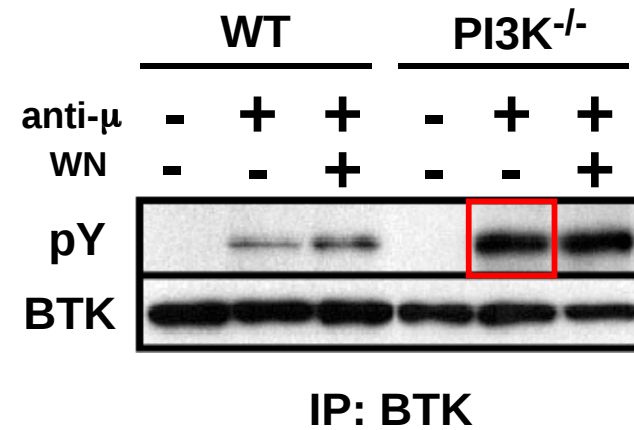
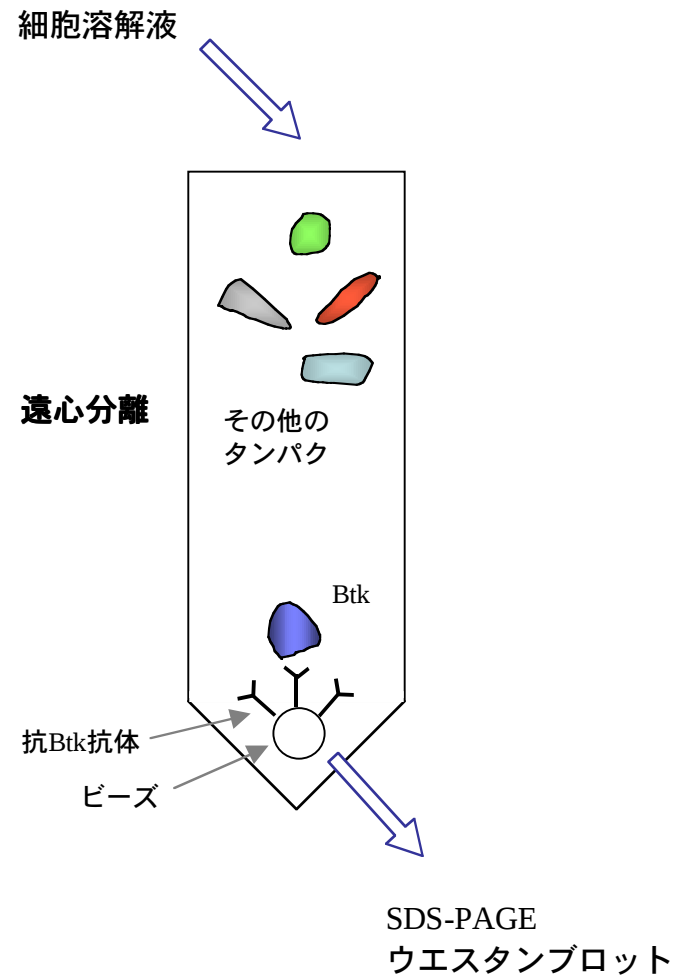
	Btk^{-/-}, <i>xid</i>	PI3K^{-/-}
Number of mature B cells in periphery	Reduced	Reduced
Stage of arrest in B cell development	ProB	ProB
B cell proliferative responses to mitogen <i>in vitro</i>	Abrogated	Abrogated
Ab production to TI-antigen <i>in vivo</i>	Abrogated	Abrogated
Ab production to TD-antigen <i>in vivo</i>	Normal	Normal
Differentiation and activation of T cells	Normal	Normal

Btkの活性化がPI3Kに依存しているなら

→ PI3Kノックアウト B細胞ではBtkの活性化が起こらないはず

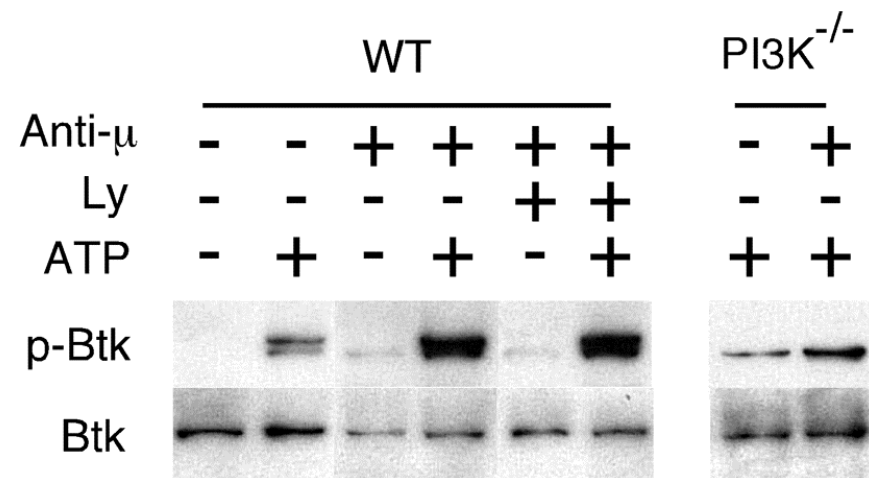
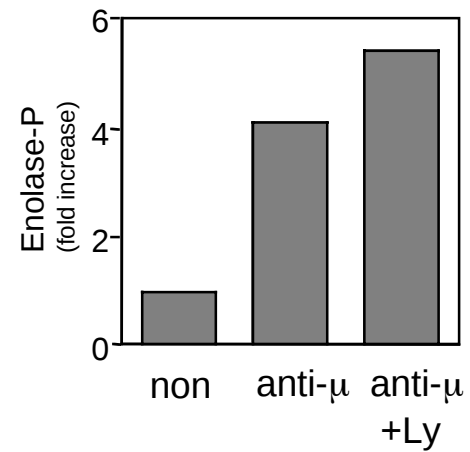
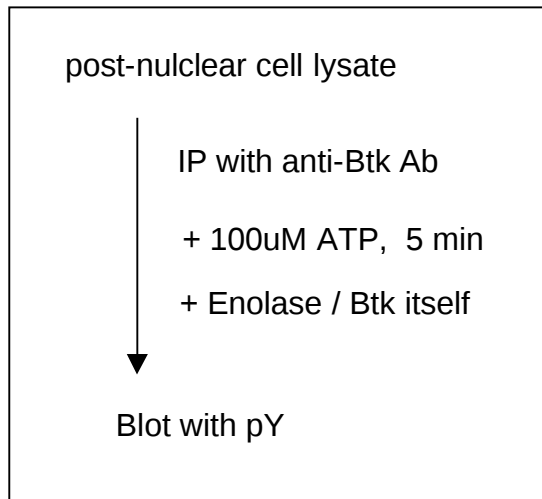


Btk のリン酸化は PI3K に依存しない

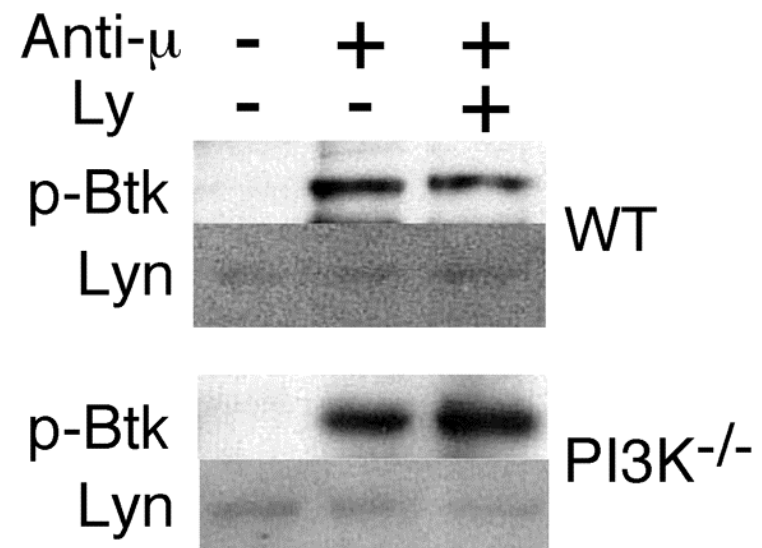


WN : 50nM
LY294002 : 25uM

Btk の活性化もPI3Kには依存していない

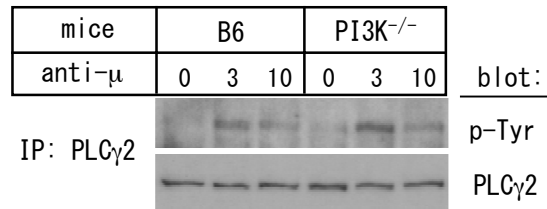


Btkの膜へのリクルートにもPI3Kは必須ではない

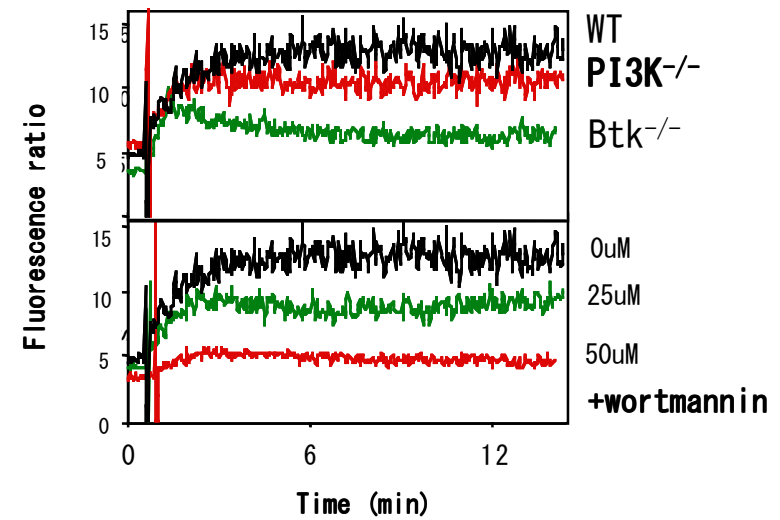


PLC γ /Ca²⁺ 経路も PI3Kが無くても活性化される

A

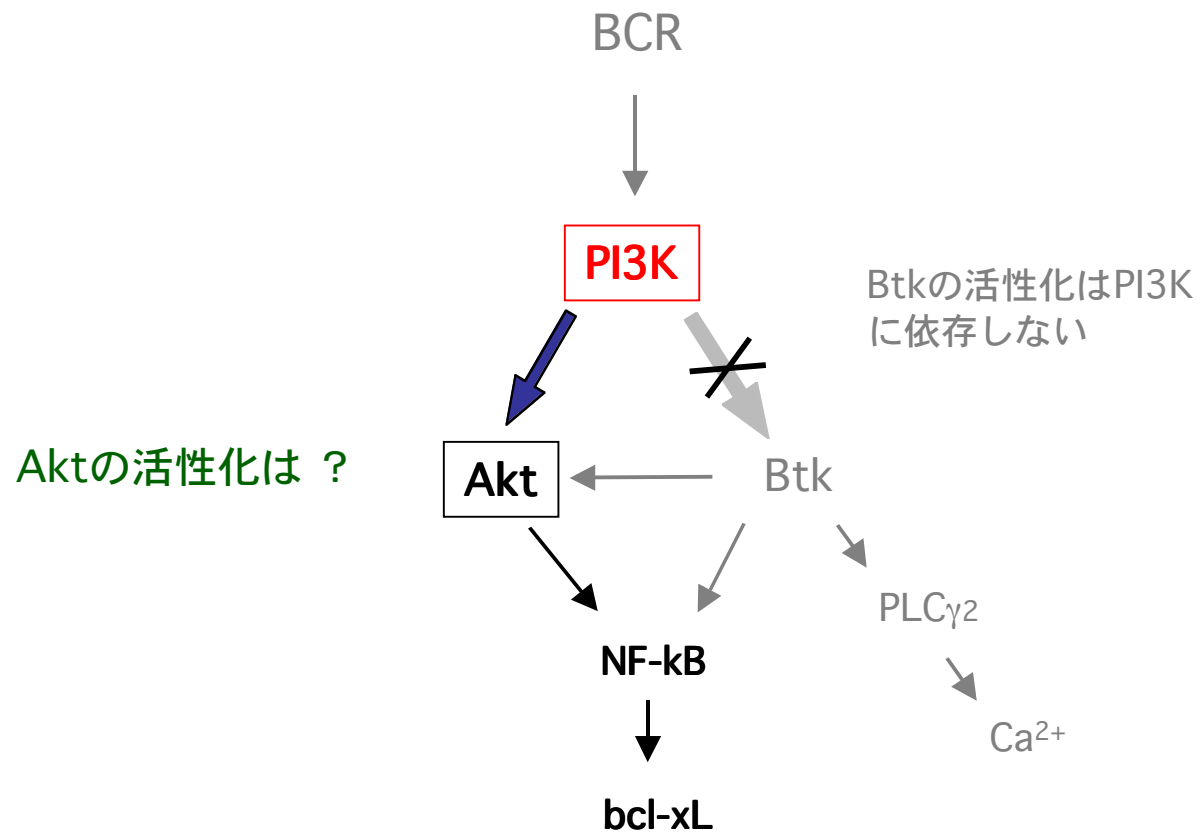


B



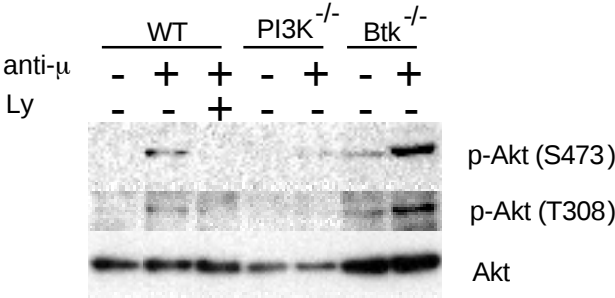
結論： PI3Kが無くてもBtkの活性化は正常！

→ PI3KノックアウトではB細胞シグナル伝達のどこに異常があるのか？

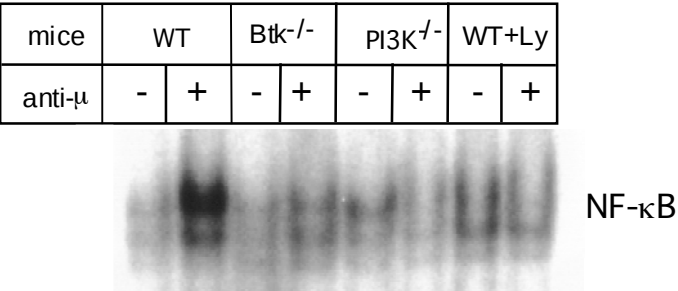


BCR-dependent Akt/NF- κ B/bcl-xL activation is inhibited in PI3K^{-/-} B cells

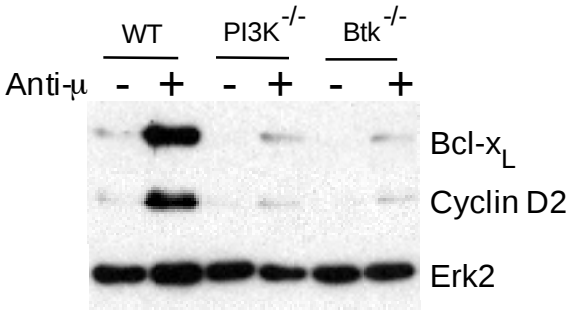
A



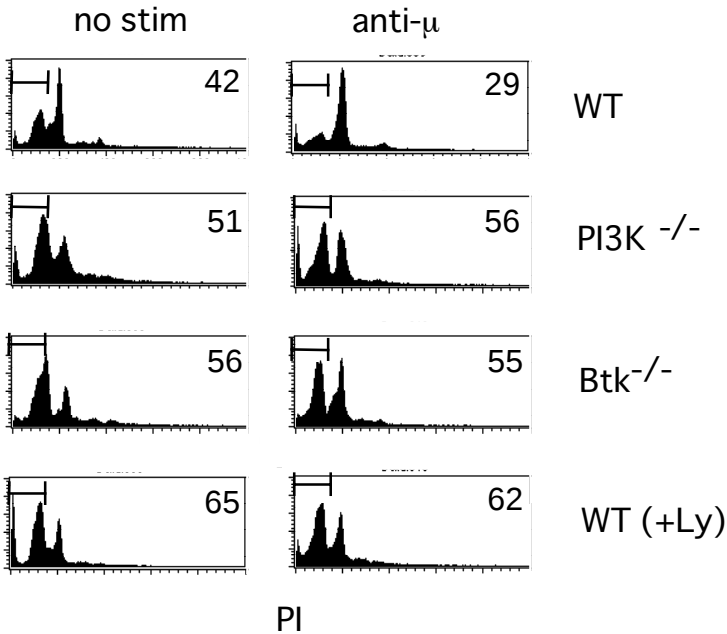
B



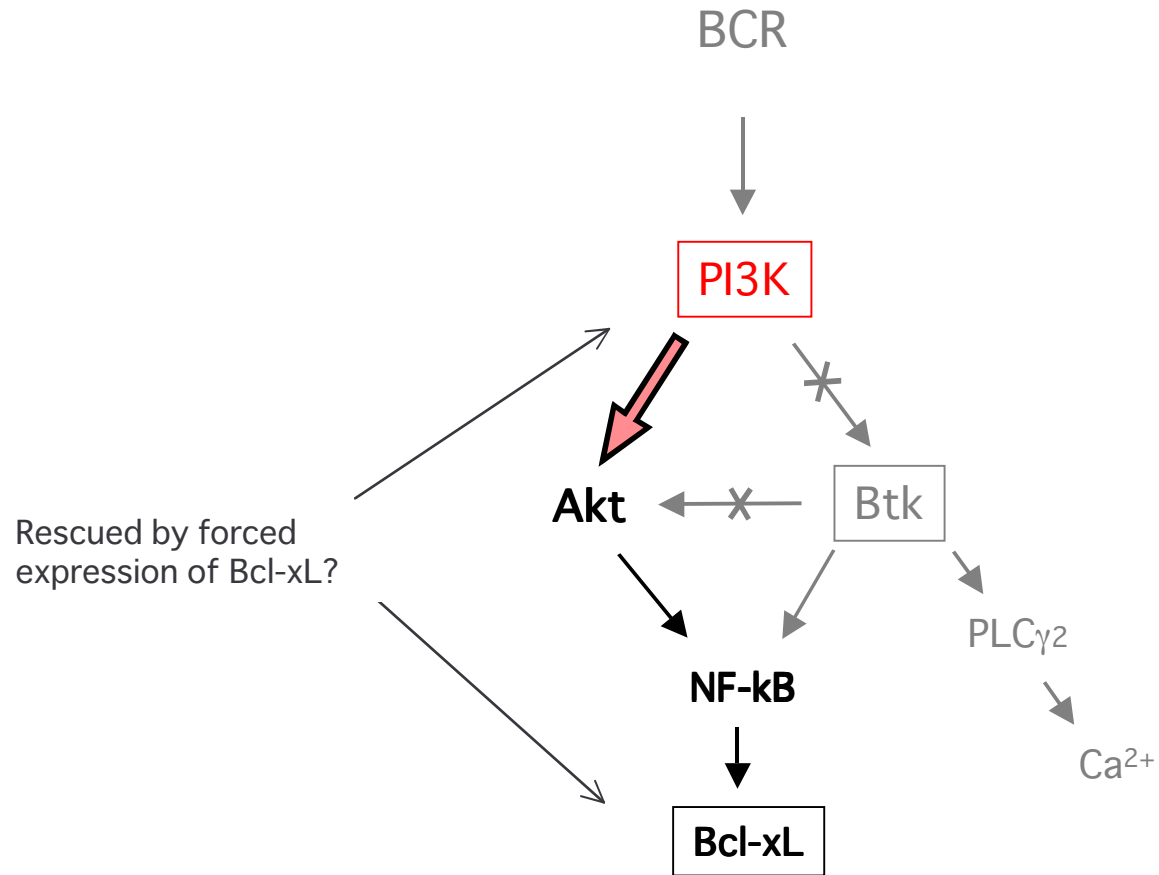
C



D

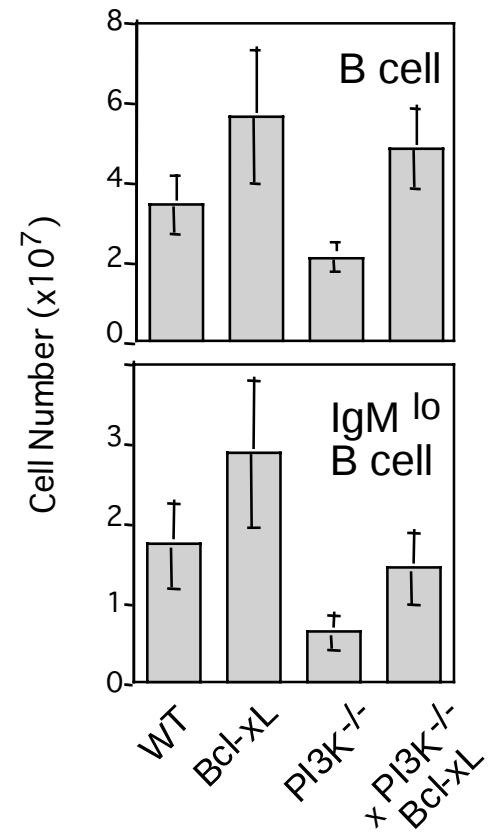
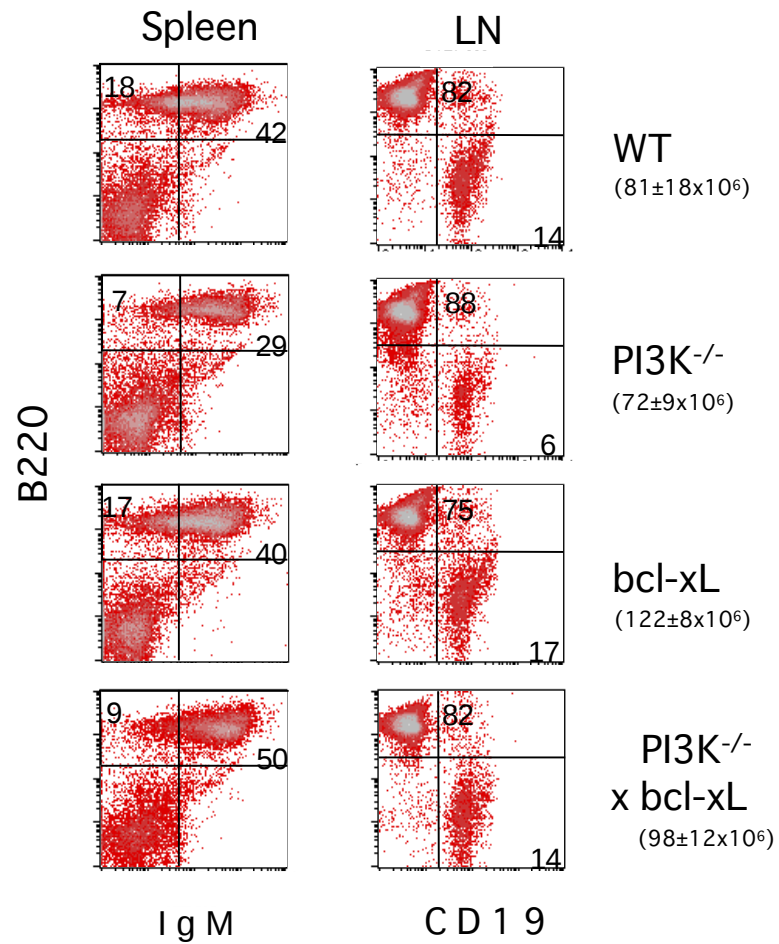


Aktの活性化、それに伴うNF- κ B の活性化、および Bcl-xL の誘導は PI3Kが必要。

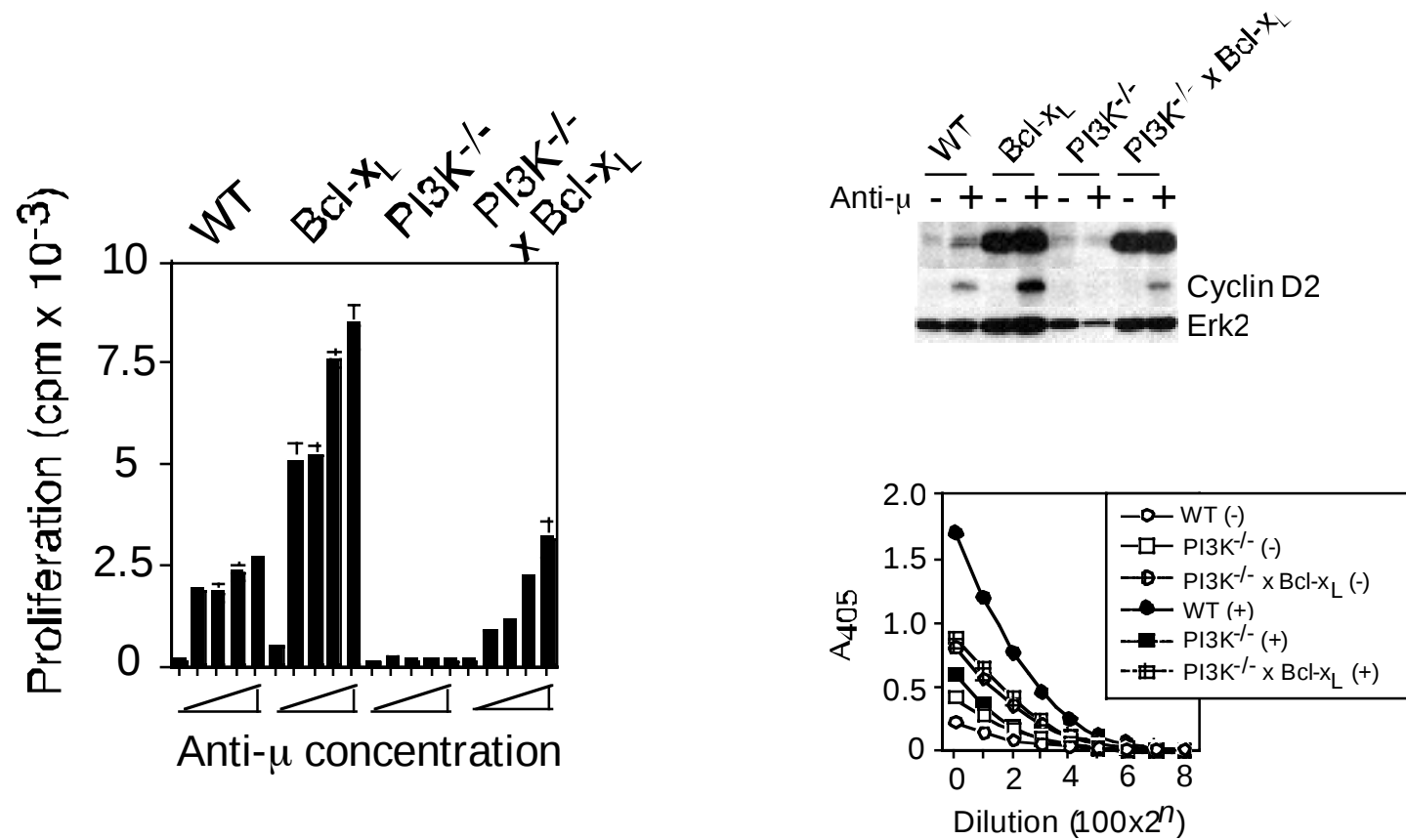


PI3KノックアウトにBcl-xLを強制発現させてアポトーシスを防いだら、ノックアウトの異常が回復するか？

Overexpression of bcl-xL restore B cell defects in PI3K mice

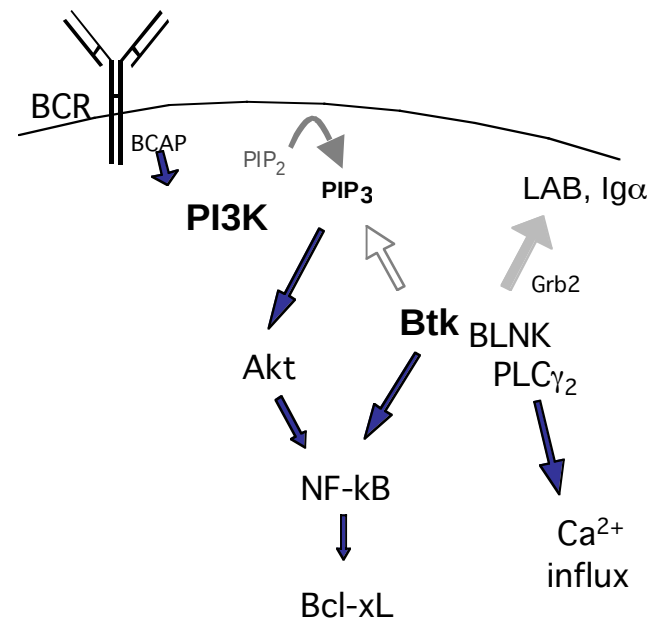


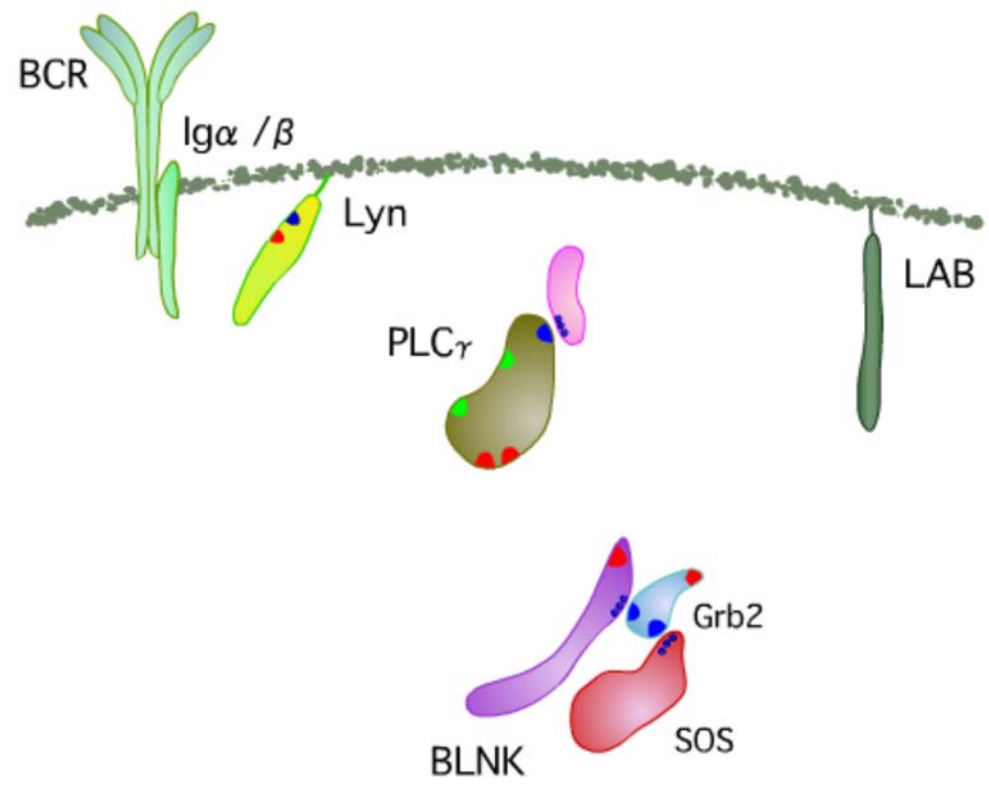
Restoration of B cell function in PI3K deficient mice by Bcl-xL expression



B細胞シグナル伝達におけるPI3Kの機能：要約

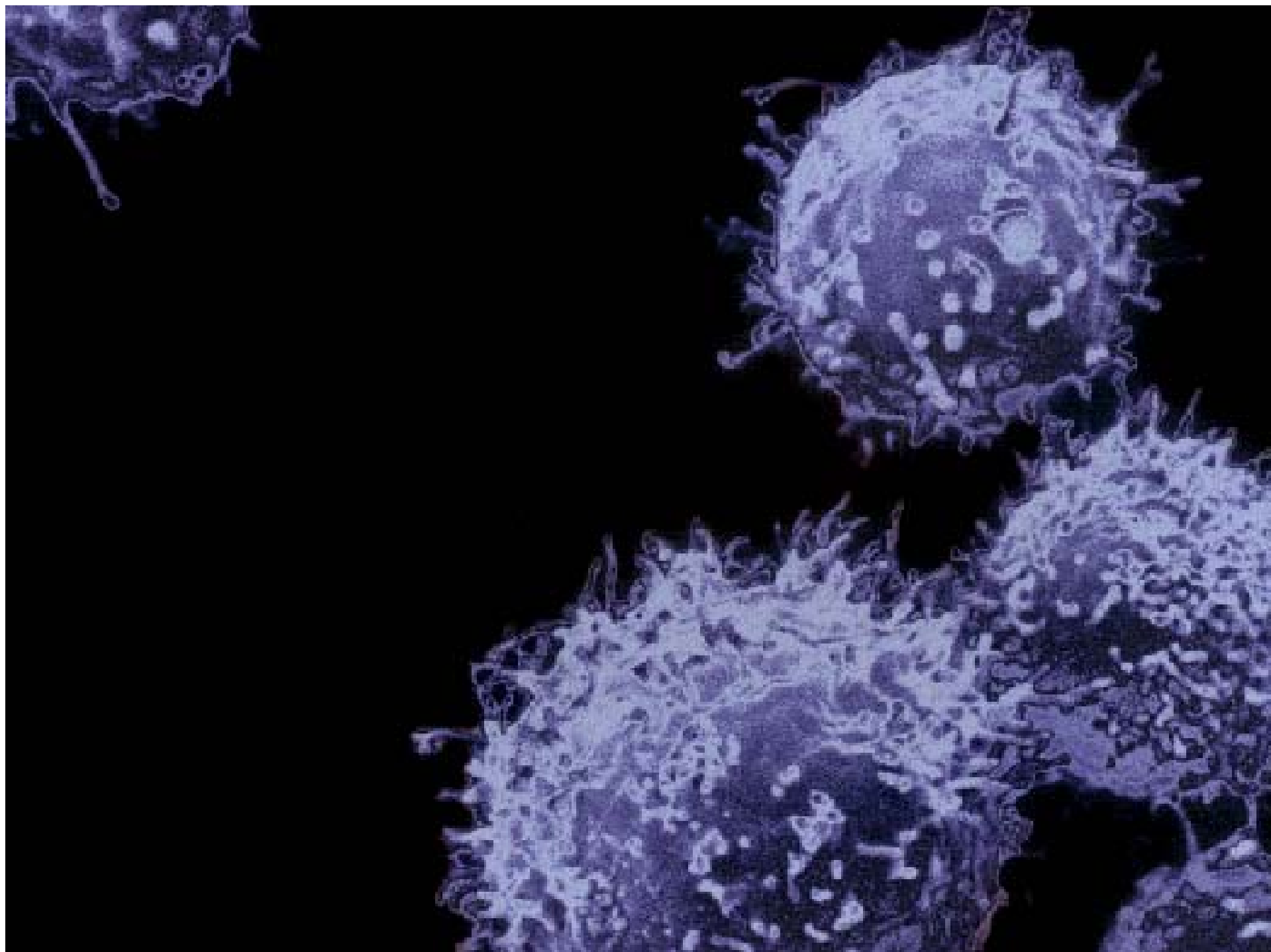
1. BCR刺激による Btkの活性化はPI3Kに依存しない。
2. Akt, NF-kB の活性化、Bcl-xLの誘導はPI3Kに依存する。
3. PI3KはCa²⁺ 流入の経路には重要でないが、Aktを介した生存シグナルの伝達に必須である。

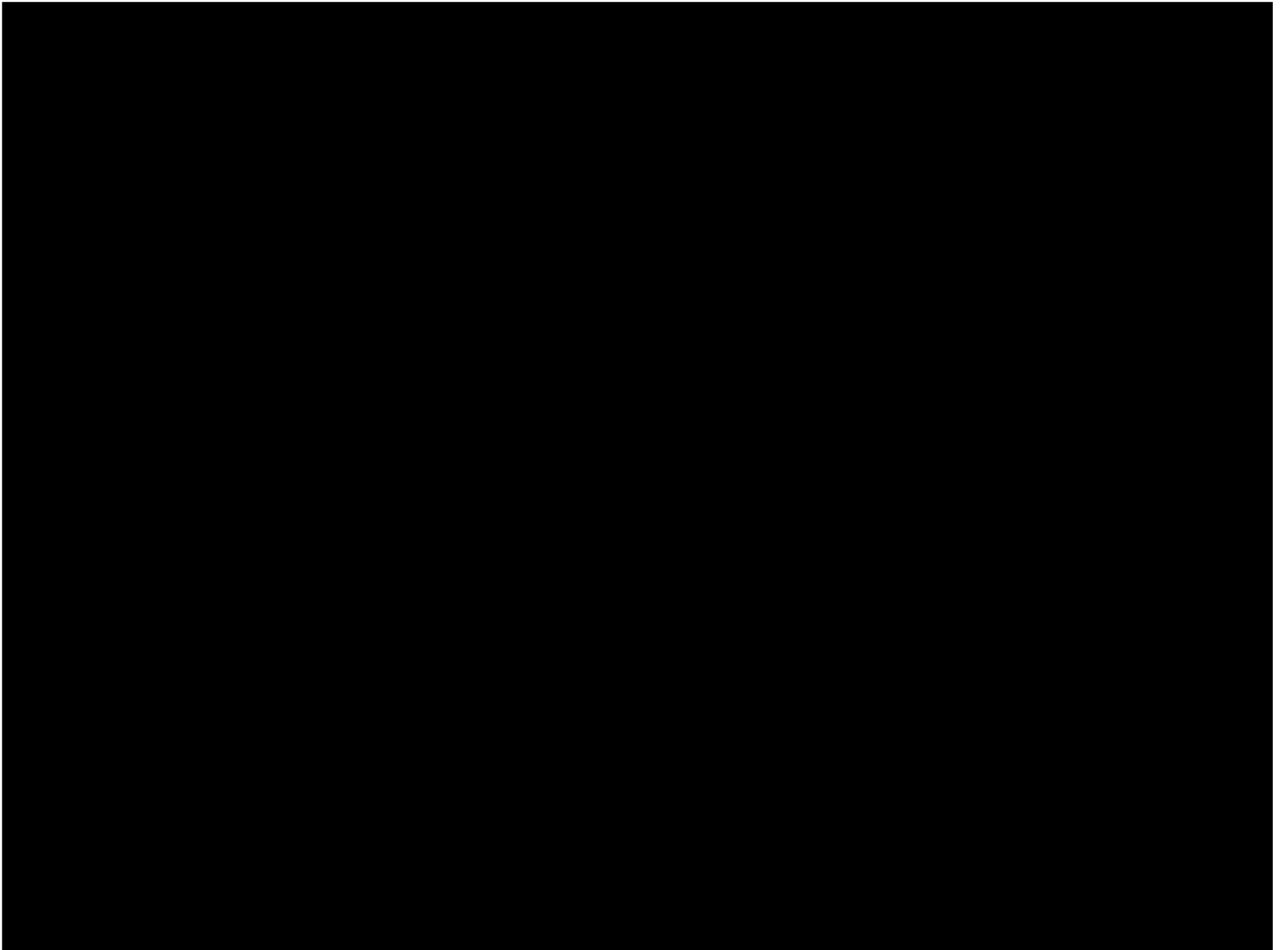




Phenotype of PI3K (p85 α) Knockout mice

1. Development of B2 and B1 cells ↓
2. BCR/TLR dependent proliferation of B cells ↓
TI-II Ab production ↓
3. Production of IFN γ & NO in M ϕ and DC ↓
4. Development of mast cell and c-kit signalling ↓
5. GM-CSF signalling in Neutrophil ↓
6. GP-VI signalling in platelet ↓
7. Bowl enlargement ↑





Copyright protected

Harumi Suzuki



<http://www.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~suzukih/lab>