

Mini Review

SOCSによるTh1/Th2分化とアレルギー性炎症の制御

久保允人

独立行政法人理化学研究所 横浜研究所

免疫・アレルギー科学総合研究センター シグナル・ネットワーク研究チーム

Role of SOCS proteins in T helper cell differentiation and allergic inflammatory responses

Atopic dermatitis, pollinosis, and bronchial asthma allergic immune disorders are characterized by a predominance of T helper 2(Th2) cells, the resulting elevation of allergen-specific IgE, and mast cell-and basophile-associated inflammation. The cytokine environment at the site of the initial antigen stimulation determines the direction of differentiation into Th1 or Th2 cells. The SOCS(suppressor of cytokine signaling) proteins are known to act as a negative regulator for many aspect of cytokine signaling and play a precise role to control the balance between Th1 and Th2 cells. SOCS3 and SOCS5 are predominantly expressed in Th2 and Th1 cells, respectively, and they reciprocally inhibit the Th1 and Th2 differentiation processes. Here, We discuss the role of SOCS proteins in helper T cell differentiation and explore the potential of SOCS proteins as targets for therapeutic strategies in allergic disorders.

Rec.11/29/2004, Acc.1/6/2005, pp436-441

Masato Kubo

RIKEN Research Center for Allergy and Immunology, Laboratory for Signal Network

Key words helper T cell, cytokine signal, IL-4, IL-12, SOCS, allergy

はじめに

末梢の機能型ヘルパー T 細胞は、産生するサイトカインによって Th1, Th2 に分類され、この 2 つの細胞集団は産生するサイトカインの違いを反映して、免疫反応において異なる機能を有し、感染防御や免疫性疾患における免疫応答を制御している。実際、感染症における病態は、宿主応答が Th1 反応と Th2 反応のいずれに傾くかによって決定されており、Th1 および Th2 細胞は特定のサイトカイン存在下における抗原刺激により、ナイーブ T 細胞から分化してくる機能型 T 細胞であることから、Th1・Th2 のバランスは初期分化過程に IL-12 と IL-4 のいずれが優位に存在するかによって制御されている。最近われわれは、サイトカインシグナルを抑制的に制御している SOCS ファミリー分子が Th1 および Th2 細胞へ分化する過程に

において重要な働きを持つことを明らかにした。SOCS ファミリーは、サイトカインにより誘導されるサイトカインシグナルを調節する SH2 蛋白質群である。特に SOCS1, SOCS3, SOCS5 などは T 細胞の活性化、Th1/Th2 分化の制御、炎症性疾患に密接に関連していることが明らかにされつつあるので、SOCS による Th1/Th2 分化の制御の話題を中心に紹介していくことにする。

SOCS3とSOCS5の構造と機能

SOCS ファミリー分子の発見は、エリスロポエチンレセプターに結合してそのシグナル伝達系を抑制する吉村らの CIS 分子の発見に端を発し¹⁾、その 2 年後に独立した 3 つのグループが Jak に会合してそのシグナルを抑制する新しいシグナル分子 SOCS1 を同定したことによる²⁻⁴⁾。この

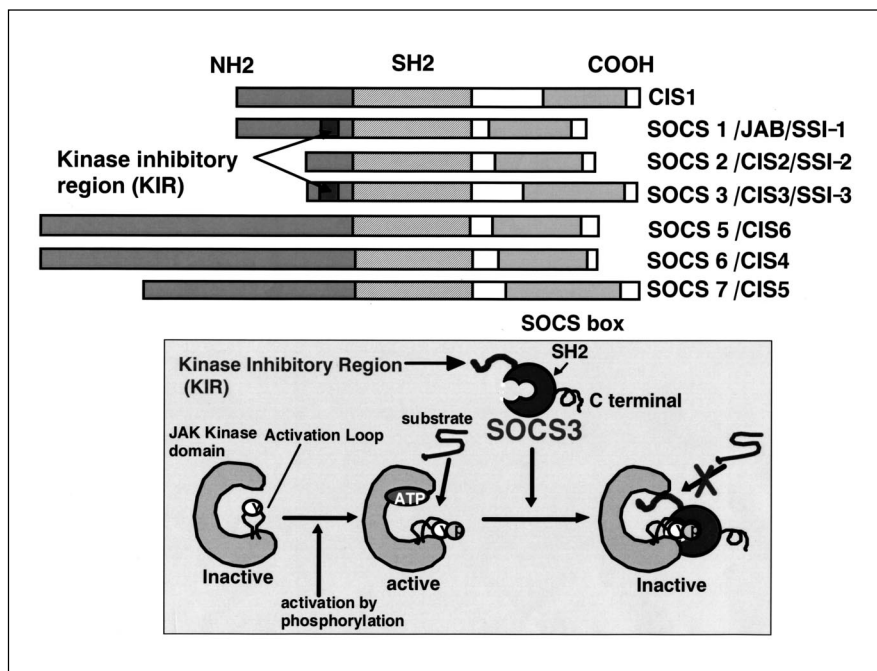


図1 SOCS: Suppressor of cytokine signaling

CISとSOCS1の構想が非常によく似ていたことから、ファミリー分子の存在が予想され、データベース検索からさらに6個の相同性の高い分子の存在が同定された(図1)⁵⁻⁷⁾。SOCS3は、最もSOCS1と高い相同性を持つ分子であり、これに対してSOCS5は分子サイズが大きく、N末端が非常に長い分子である。SOCSファミリー分子はいずれも分子中央にチロシンリン酸化したキナーゼと会合するドメイン構造SH2を有しており、ファミリー間で25~60%程度のアミノ酸の同一性が保たれている⁶⁾。また、ファミリー分子のC末端側には40アミノ酸からなる特徴的な配列が保存されており、SOCSボックスと呼ばれている⁵⁾。SOCSボックスの機能については不明であったが、von Hippel-Leiden 癌抑制遺伝子と類似性がみられること、さらにElongin B・Cと会合してユビキチンリガーゼとして働くことが示されており、結合した標的蛋白の分解を促進することにより抑制を制御している可能性が示唆されている⁸⁾。このSOCSボックスの機能は、SOCSボックスを欠くSOCS1ノックインマウスの解析から、機能発現におけるこの領域の重要性が示されている⁵⁾。SOCS3とSOCS1分子は、N末端側にキナーゼであるJakの活性中心への基質の進入を阻害する働きを持つkinase inhibitory region(KIR)を持ち、SH2ドメインによりリン酸化したキナーゼに会合して、立体的にKIRが基質の進入を阻害することにより、その抑制活性を制御している(図1)^{9,10)}。

SOCS3の発現および機能に関する解析は、これまで細胞株を用いて行われてきた。その発現は非常に多くのサイ

トカインやホルモンによって発現が誘導され、多くの場合、誘導したサイトカインのシグナル伝達系を抑制することから、オートクライン抑制ループを形成していると考えられてきた。これまで報告されているサイトカイン・ホルモンには、IL-2, IL-4, IL-6, IL-9, IL-11, IL-12, IFN α/β , IFN γ , LIF, EPO, growth hormone, prolactin, insulin, leptin などがある^{7,11-13)}。また、最近ではLPS, CpG DNAなどの菌体成分(PAMPs)が非常に強くマクロファージにおける発現を誘導することが報告されている^{14,15)}。しかしながら、現在までのところ、SOCS3がPAMPsシグナルに対してオートクライン抑制ループを形成している報告はない。また、最近では発現と抑制されるサイトカインシグナルが細胞種によって異なることがわかってきている。すなわち、マクロファージではIL-6やIL-10が強くSOCS3の発現を誘導するのに対し¹⁶⁾、T細胞ではIL-2, IL-4がその発現を抑制していることがわかってきた^{12,13)}。また、ノックアウトマウス(KO)あるいはトランスジェニック(Tg)マウスを用いた生体内での解析から、その働きを必ずしもオートクラインだけで機能するわけではないことが明らかにされてきている。

SOCS3遺伝子の欠損は、胎生致死であることが最初報告され、従来その原因はEPOレセプターシグナル伝達系の平衡状態を制御できないため、多血により死に至るためと考えられていた¹⁷⁾。しかしながら、SOCS3 KOマウス4倍体レスキュー法にて致死から回避され、致死から回避したマウスでは血球形成能には全く異常が認められない

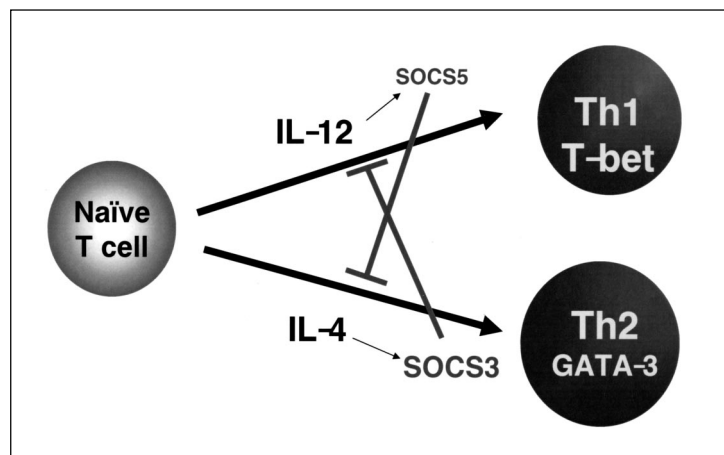


図2 Th1/Th2分化制御におけるSOCS5とSOCS3の働き

T細胞においてSOCS3はIL-4によってその発現が制御されている。発現したSOCS3はIL-12受容体に結合して、IL-12の働きを抑制し、Th1分化を抑制的に制御する。その結果、Th2反応が亢進し、アレルギー病態の増悪へつながっていく。SOCS5はIL-12によって誘導され、IL-4の働きを抑制する。

ことから、栄養膜形成の際におけるLIFシグナルの異常により多核細胞へと分化が進んだための胎盤発達時における異常が胎生致死の原因と考えられるようになった。しかしながら、致死から回避したマウスは成長が著しく悪く、心臓肥大を起こしており、生後25日以内に死亡する¹⁸⁾。生体内においてSOCS3は炎症性大腸炎など炎症性疾患の発症に深く関与し、マクロファージ特異的SOCS3 KOマウスの解析から、マクロファージにおけるSOCS3の抑制ターゲットは、IL-6受容体を介したシグナル伝達系であることが明らかにされている²⁰⁻²²⁾。

これに対して、SOCS5の発現および機能に関する解析はわずかにしか行われていない。in vitro系では、IL-6とLeukemia inhibitory factor (LIF)を抑制するという報告がある²³⁾。ヒトではこのSOCS5は、非常に幅広い組織で発現がみられ、特にリンパ系組織でその発現は高い²⁴⁾。最近、SOCS5遺伝子KOマウスが報告されたが、このマウスでは組織病理学的解析、神経系、造血系いずれにおいても全く正常マウスとの違いは認められなかった²⁵⁾。

SOCS3とSOCS5のTh1とTh2分化における役割

ナイーブT細胞がTh1およびTh2細胞への分化過程において、SOCS3とSOCS5は全く逆の発現パターンをとる²⁶⁾。SOCS5はIL-12によってTh1特異的に誘導され、SOCS3はIL-4によってTh2特異的に発現する。そして、お互いが誘導されたサイトカインと相対するヘルパーT細胞の分化に関わるサイトカインシグナルを抑制していた。すなわち、SOCS5はIL-4依存的に起こるSTAT6の活性化を、SOCS3はIL-12依存的に起こるSTAT4の活性化を抑制的に働くことにより、Th2あるいはTh1分化を抑制的に制御する。その結果、Th1あるいはTh2分化をそれぞれ促進

する^{13,27)}(図2)。SOCSファミリーの中のSOCS5とSOCS3は、分化誘導に必要なサイトカインIL-12とIL-4によって発現がそれぞれ制御され、これによってサイトカインバランスを修飾することによりヘルパーT細胞の分化の方向性を変化させ、ひいては抗原刺激によって誘導された免疫応答全体を制御していた。実際、T細胞特異的にSOCS3あるいはSOCS5を発現させたLck-eμ-SOCS3およびLck-eμ-SOCS5 Tgマウスでは、それぞれTh1およびTh2分化の抑制、Th2およびTh1分化が亢進していることが証明されている。しかしながら、SOCS5に関してはその欠損マウスでTh1・Th2反応に全く変化がみられなかったことから、生体内で実際にこの分子がTh1/Th2分化制御に働いているかは疑問となっている²⁵⁾。

そこで、アトピー性皮膚炎および喘息患者におけるSOCSファミリー分子の発現を解析することにより、ヒトにおけるアレルギー性疾患とSOCS分子の発現との関係を検討したところ、SOCS3の発現がアトピー性皮膚炎および喘息の病態の重度、さらには末梢血におけるIgE濃度と高い相関性を持つことが明らかとなった^{13,19)}。

SOCS3とSOCS5の喘息モデルにおける役割

アトピー性喘息はI型アレルギー反応によって起こる疾患であり、抗原感作によって気道性過剰反応の亢進を誘導するマウスモデルが存在している。われわれは、喘息病態におけるSOCSの働きを解析するため、T細胞特異的にSOCS3あるいはSOCS5を発現するLck-eμ-SOCS3およびLck-eμ-SOCS5トランスジェニック(Tg)マウス、kinaseとの会合に関与するkinase inhibitory region(KIR)2の変異体SOCS3 F25Aをlck promoterにより発現させたTgマウス(SOCS3 F25A Tg)をそれぞれC57BL/6バックグラウンドに

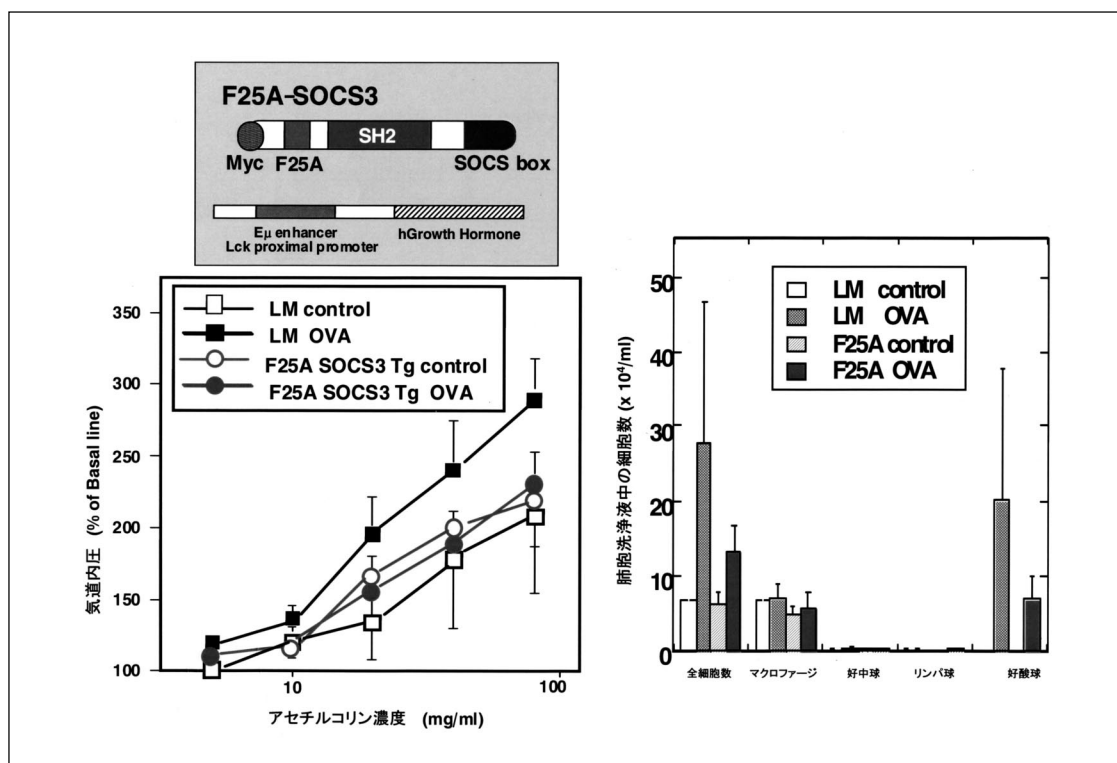


図3 機能阻害型変異体SOCS3を発現するTgマウスにおける気道過敏反応の抑制

左上はTg作製のためのコンストラクトを示す。左下側はTgマウスにおける気道過敏反応を、右側はTgマウスにおける肺洗浄液中へのリンパ球、好酸球、マクロファージの浸潤を示す。

て作製した。そして、これら遺伝子改変マウスに対して喘息モデルとして卵白アルブミン(OVA)誘導性気道性過敏反応の系を用い、アレルギー反応に対するSOCS3の役割を解析した。また、SOCS3のノックアウトが胎生致死であることからSOCS3^{+/-}ヘテロ接合体マウスを用い、同様の系で解析を行った。

その結果、Lck-eμ-SOCS3 Tgマウスは、これまでの*in vitro*の解析ではTh2反応が抑制されることが示されていたが、喘息モデルの系では予想に反してコントロールマウスに比べ気道内圧の亢進がみられた。しかしながら、肺への好酸球・好中球・リンパ球などの浸潤、OVA特異的IgE抗体の産生にはコントロール群と差はみられなかった。これに対し、Lck-eμ-SOCS3 Tgマウスは、これまでの*in vitro*の解析から顕著なTh2反応の亢進が示され、喘息モデルの系においてもこれをよく反映してコントロールマウスに比べ気道内圧の亢進が顕著に認められた。また、これに伴い肺への好酸球の浸潤、IL-4、IL-5、IL-13などのTh2サイトカインの顕著な産生亢進、血中にいける全IgE抗体価および抗原特異的に反応するIgE抗体価の上昇が観察された。T細胞における恒常的SOCS3の発現は、OVA誘導性の気道性過敏反応を亢進する働きがあること

がわかったので、SOCS3の発現がない状況での気道性過敏反応を検討した。

SOCS3ヘテロ接合体(SOCS3^{+/-})マウスは、SOCS3の発現が正常の半分以下であることから、SOCS3の発現が低い環境下における気道過敏反応を観察することを可能にする。SOCS3^{+/-}マウスにおけるOVA誘導性気道性過敏反応は、コントロールマウスに比べ優位に抑制傾向にあった。肺への好酸球の浸潤、IL-4、IL-5、IL-13などのTh2サイトカイン、IgE抗体価などいずれもコントロールに比べ、顕著に抑制傾向にあった。

さらにT細胞特異的にSOCS3の発現を欠失させる目的で、SOCS3^{f/f}をlck-Creに掛け合わせたマウスを作製し、OVA誘導性気道性過敏反応を検討した。SOCS3^{f/f}lck-Creでも、SOCS3^{+/-}マウス同様、気道過敏反応の抑制が観察された。肺への好酸球の浸潤、IL-4、IL-5、IL-13などのTh2サイトカイン、IgE抗体価などもコントロールであるSOCS3^{+/-}lck-Creマウスに比べ顕著に抑制されていた。ところが、これに対してマクロファージ特異的にSOCS3の発現を欠失させたSOCS3^{f/f}lysM-Creマウスでは、気道過敏反応の抑制は認められず、肺への好酸球の浸潤、IL-4、IL-5、IL-13などのTh2サイトカイン、IgE抗

体価などもコントロールマウス(SOCS3+/+XlysM-Cre)と比べ大きな変化は認められなかった。

次に Dominant Negative として働くことが予想される F25A Tg を T 細胞特異的に発現させた Lck-cre-SOCS3 F25A Tg において同様の解析を行ったところ, OVA 特異的に誘導される気道過敏反応は, コントロールマウス以下まで抑制されていた (図 3)。

これらの結果より, T 細胞における SOCS3 の発現や働きを抑制することにより, その病態を軽減することが可能となることが明らかとなった。以上のことから, T 細胞における SOCS3 の発現は喘息症状と密接なつながりがあることを強く示唆するものであった。このことから, 喘息病態において SOCS3 の発現や機能を抑制することは, その病態をコントロールする上で有用な手段となりうると考えられた。

文 献

- 1) Yoshimura A, Ohkubo T, Kiguchi T, Jenkins NA, Gilbert DJ, Copeland NG, Hara T, Miyajima A: A novel cytokine-inducible gene CIS encodes an SH-2-containing protein that binds to tyrosine-phosphorylated interleukin 3 and erythropoietin receptors. *Embo J*, 14: 2816-2826, 1995.
- 2) Endo TA, Masuhara M, Yokouchi M, Suzuki R, Sakamoto H, Mitsui K, Matsumoto A, Tanimura S, Ohtsubo M, Misawa H, Miyazaki T, Leonor N, Taniguchi T, Fujita T, Kanakura Y, Komiya S, Yoshimura A: A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinase. *Nature*, 387: 921-924, 1997.
- 3) Naka T, Narazaki M, Hirata M, Matsumoto T, Minamoto S, Aono A, Nishimoto N, Kajita T, Taga T, Yoshizaki K, Akira S, Kishimoto T: Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor. *Nature*, 387: 924-929, 1997.
- 4) Starr R, Willson TA, Viney EM, Murray LJ, Rayner JR, Jenkins BJ, Gonda TJ, Alexander WS, Metcalf D, Nicola NA, Hilton DJ: A family of cytokine-inducible inhibitors of signaling. *Nature*, 387: 917-921, 1997.
- 5) Zhang JG, Farley A, Nicholson SE, Willson TA, Zugaro LM, Simpson RJ, Moritz RL, Cary D, Richardson R, Hausmann G, Kile BJ, Kent SB, Alexander WS, Metcalf D, Hilton DJ, Nicola NA, Baca M: The conserved SOCS box motif in suppressors of cytokine signaling binds to elongins B and C and may couple bound proteins to proteasomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 2071-2076, 1999.
- 6) Yasukawa H, Sasaki A, Yoshimura A: Negative regulation of cytokine signaling pathways. *Annu Rev Immunol*, 18: 143-164, 2000.
- 7) Fujimoto M, Naka T: Regulation of cytokine signaling by SOCS family molecules. *Trends Immunol*, 24: 659-666, 2003.
- 8) Tyers M, Willems AR: One ring to rule a superfamily of E3 ubiquitin ligases. *Sciences*, 284: 601, 603-604, 1999.
- 9) Giordanetto F, Kroemer RT: A three-dimensional model of Suppressor Of Cytokine Signalling 1 (SOCS-1). *Protein Eng*, 16: 115-124, 2003.
- 10) Yasukawa H, Misawa H, Sakamoto H, Masuhara M, Sasaki A, Wakioka T, Ohtsuka S, Imaizumi T, Matsuda T, Ihle JN, Yoshimura A: The JAK-binding protein JAB inhibits Janus tyrosine kinase activity through binding in the activation loop. *Embo J*, 18: 1309-1320, 1999.
- 11) Alexander WS: Suppressors of cytokine signaling(SOCS) in the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2: 410-416, 2002.
- 12) Cohnen SJ, Sanden D, Cacalano NA, Yoshimura A, Mui A, Migone TS, Johnston JA: SOCS-3 is tyrosine phosphorylated in response to interleukin-2 and suppresses STAT5 phosphorylation and lymphocyte proliferation. *Mol Cell Biol*, 19: 4980-4988, 1999.
- 13) Seki Y, Inoue H, Nagata N, Hayashi K, Fukuyama S, Matsumoto K, Komine O, Hamano S, Himeno K, Inagaki-Ohara K, Cacalano N, O'Garra A, Oshida T, Saito H, Johnston JA, Yoshimura A, Kubo M: SOCS-3 regulates onset and maintenance of T(H)2-mediated allergic responses. *Nat Med*, 9: 1047-1054, 2003.
- 14) Stoiber D, Kovarik P, Cohnen S, Johnston JA, Steinlein P, Decker T: Lipopolysaccharide induces in macrophages the synthesis of the suppressor of cytokine signaling 3 and suppresses signal transduction in response to the activating factor IFN-gamma. *J Immunol*, 163: 2640-2647, 1999.
- 15) Bode JG, Nimmesgern A, Schmitz J, Schaper F, Schmitt M, Frisch W, Haussinger D, Heinrich PC, Graeve L: LPS and TNFalpha induce SOCS3 mRNA and inhibit IL-6-induced activation of STAT3 in macrophages. *FEBS Lett*, 463: 365-370, 1999.
- 16) Cassatella MA, Gasperini S, Bovolenta C, Calzetti F, Vollebregt M, Scapini P, Marchi M, Suzuki R, Suzuki A, Yoshimura A: Interleukin-10(IL-10) selectively enhances CIS3/SOCS3 mRNA expression in human neutrophils: evidence for an IL-10-induced pathway that is independent of STAT protein activation. *Blood*, 94: 2880-2889.
- 17) Marine JC, McKay C, Wang D, Topham DJ, Parganas E,

- Nakajima H, Pendeville H, Yasukawa H, Sasaki A, Yoshimura A, Ihle JN: SOCS3 is essential in the regulation of fetal liver erythropoiesis. *Cell*, 98: 617-627, 1999.
- 18) Takahashi Y, Carpino N, Cross JC, Torres M, Parganas E, Ihle N: SOCS3: an essential regulator of LIF receptor signaling in trophoblast giant cell differentiation. *Embo J*, 22: 372-384, 2003.
 - 19) Kubo M, Hanada T, Yoshimura A: Suppressors of cytokine signaling and immunity. *Nat Immunol*, 4: 1169-1176, 2003.
 - 20) Yasukawa H, Ohishi M, Mori H, Murakami M, Chinen T, Aki D, Hanada T, Takeda K, Akira S, Hoshijima M, Hirano T, Chien KR, Yoshimura A: IL-6 induces an anti-inflammatory response in the absence of SOCS3 in macrophages. *Nat Immunol*, 4: 551-556, 2003.
 - 21) Croker BA, Krebs DL, Zhang JG, Wormald S, Willson TA, Stanley EG, Robb L, Greenhalgh CJ, Forster I, Clausen BE, Nicola NA, Metcalf D, Hilton DJ, Roberts AW, Alexander WS: SOCS3 negatively regulates IL-6 signaling in vivo. *Nat Immunol*, 4: 540-545, 2003.
 - 22) Lang R, Pauleau AL, Parganas E, Takahashi Y, Mages J, Ihle JN, Rutschman R, Murray PJ: SOCS3 regulates the plasticity of gp130 signaling. *Nat Immunol*, 4: 546-550, 2003.
 - 23) Nicholson SE, Willson TA, Farley A, Starr R, Zhang JG, Baca M, Alexander WS, Metcalf D, Hilton DJ, Nicola NA: Mutational analyses of the SOCS proteins suggest a dual domain requirement but distinct mechanisms for inhibition of LIF and IL-6 signal transduction. *Embo J*, 18: 375-385, 1999.
 - 24) Magrangeas F, Apiou F, Denis S, Weidle U, Jacques Y, Minvielle S: Cloning and expression of CIS6, chromosome assignment to 3p22 and 2p21 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet*, 88: 78-81.
 - 25) Brender C, Columbus R, Metcalf D, Handman E, Starr R, Huntington N, Tarlinton D, Odum N, Nicholson SE, Nicola NA, Hilton DJ, Alexander WS: SOCS5 is expressed in primary B and T lymphoid cells but is dispensable for lymphocyte production and function. *Mol Cell Biol*, 24: 6094-6103, 2004.
 - 26) Inoue H, Kubo M: SOCS proteins in T helper cell differentiation: implications for allergic disorders ? *Expert Rev Mol Med*, 6: 1-11, 2004.
 - 27) Seki Y, Hayashi K, Matsumoto A, Seki N, Tsukada J, Ransom J, Naka T, Kishimoto T, Yoshimura A, Kubo M: Expression of the suppressor of cytokine signaling-5 (SOCS5) negatively regulates IL-4-dependent STAT6 activation and Th2 differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 13003-13008.