

## サイトカインのシグナル伝達

佐藤 慎太郎\*, 審 良 静 男\*

### はじめに

サイトカインは細胞間の情報伝達を担う可溶性タンパク質の総称である。免疫反応、炎症反応だけではなく、細胞増殖、分化、生殖といったほぼすべての生命機能に何らかのサイトカインが関わっている。サイトカインは標的細胞上に存在する特異的受容体（レセプター）に結合し、細胞内シグナル伝達経路を介して種々の遺伝子発現を制御し、個々の生理活性を示す。サイトカイン遺伝子が同定されてからわずか20年足らずの間にこれらのレセプターとシグナル伝達分子、転写因子が次々と同定され、それらの機能が明らかにされるのに伴い、サイトカインが細胞に作用して遺伝子発現に至るまでの過程が明らかとなってきた。特に、JAK/STAT 経路は免疫系において最も重要なサイトカインシグナル伝達経路である。また、IL-1 と IL-18 のレセプターは、細胞内に Toll/IL-1R 相同領域（TIR ドメイン）を有しており、リポポリサッカライド（LPS）などの菌体成分の認識に関わる Toll 様レセプター（TLR）と共通のシグナル伝達経路を利用しており、近年注目されている。本稿では、サイトカインレセプターと、上記2つのシグナル伝達経路について概説する。

### サイトカインレセプター

サイトカインレセプターはその構造的特徴から大きく7種類に分類される（図1）<sup>1,2)</sup>。ほとんどのサイトカインレセプターの下流にはリン酸化酵素（キナーゼ）が存在しており、その酵素活性がシグナルを伝達するのに重要であることが知られ

ている。TGF- $\beta$  や EGF のレセプターはその分子の細胞内領域にキナーゼ領域を持ち、リガンド（=サイトカイン）の結合によりレセプターが凝集することでキナーゼ活性が上昇する。最も多くのサイトカインが利用するI型、II型レセプターにはキナーゼ領域が存在しないが、Janus kinase (JAK) ファミリーと呼ばれるチロシンキナーゼがレセプターの細胞内領域に恒常的に会合しており、レセプターの凝集によってJAKが活性化して下流にシグナルを伝えている。

サイトカインの特徴としてよく挙げられるのがその機能の多様性である<sup>3)</sup>。例えば、もともとB細胞の活性化因子としてクローニングされたインターロイキン（IL）-6は、その後の研究から肝細胞の急性期タンパク質産生、巨核球からの血小板産生、破骨細胞の活性化、神経細胞の分化誘導など、多彩な機能を有していることが明らかになっている。このように、1つのサイトカインが様々な細胞に作用し、しかも異なった作用を発揮するのである。しかし、1つのサイトカインに対するレセプターが細胞ごとに異なるわけではない。したがって、サイトカインの機能の多様性はサイトカインレセプターの多様性を反映したものではなく、各細胞ごとの細胞内シグナル伝達分子、または転写因子の発現の違いを反映したものと考えられている。

一方、複数のサイトカインが同一の作用を示す重複性もまたサイトカインの大きな特徴の一つである<sup>3)</sup>。例えば、肝細胞に作用し、急性期タンパク質を誘導するのはIL-6だけではなく、leukemia inhibitory factor (LIF), oncostatin M (OSM) などによっても同様の現象が認められる。このサイトカインの機能重複性はサイトカインレセプターのクローニングによって次々と明確に説明されるよ

\*大阪大学微生物病研究所癌抑制遺伝子研究分野

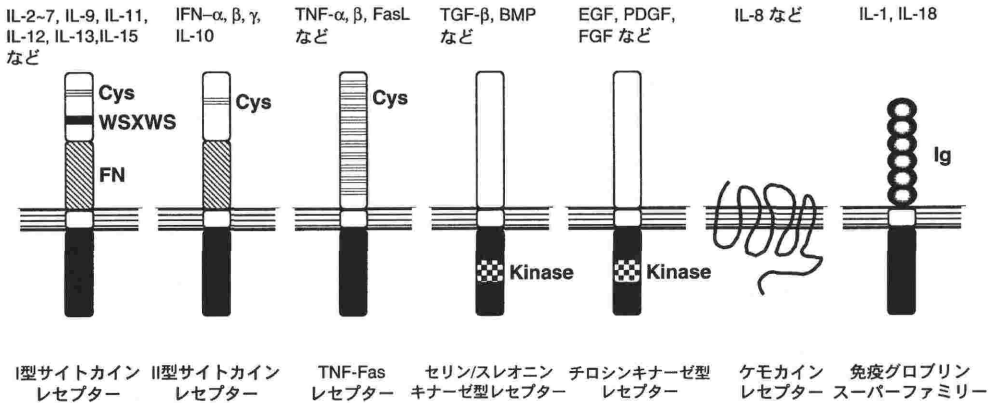


図1 サイトカインレセプターファミリー

サイトカインレセプターは構造的な特徴から7種類に分類される。これらのレセプターに結合するサイトカインを上に表示している。

I型サイトカインレセプターは細胞外領域にフィブロネクチン様領域 (FN) を持ち、また WSXWS というアミノ酸モチーフを有している。また、4つのシステイン残基 (Cys) が規則正しく並ぶ構造も有している。II型レセプターも FN と Cys を持つが、Cys の並び方が異なる。TNF-Fas レセプターの細胞外領域は Cys に富んでいる。レセプターの細胞内領域にキナーゼ領域 (kinase) を有するものもあり、リン酸化するアミノ酸の種類により、セリン/スレオニンキナーゼ型とチロシンキナーゼ型が存在する。ケモカインレセプターは7回膜貫通型のGタンパク質結合型レセプターである。IL-1ファミリーサイトカインのレセプターは免疫グロブリン (Ig) スーパーファミリーに属し、細胞外は Ig 様領域に富んでいる。

うになった。すなわち、複数のサイトカインがレセプターを共有することが明らかになったのである。例を挙げると、IL-6, LIF, OSM のレセプターはどれも gp130 と呼ばれるサブユニットを共有している。また、いずれも好酸球の増殖を促進する IL-3, IL-5, GM-CSF のレセプターは β 鎖を共有し、IL-2, IL-7, IL-15 も γ 鎖を共有している。しかし、レセプターサブユニットを共有しないサイトカインにおいても機能の重複が認められる場合がある。例えば、巨核球の前駆細胞は IL-3, TPO のどちらによっても増殖が誘導されるが、これらはレセプターのサブユニットを共有していない。そのかわり、これらのレセプターが始動するシグナルはよく似ている。つまり、サイトカインの機能重複性はシグナル伝達経路の共有によっても説明されるのである。

このように、サイトカインの個々の機能を理解するには、そのレセプターとシグナルの性質を理解することが重要である。

JAK / STAT 経路

I 型, II 型レセプターのシグナル伝達経路は

JAK / STAT 経路と呼ばれている<sup>4)5)</sup>。このシグナル伝達経路は、非レセプター型チロシンキナーゼの JAK と、転写因子としての働きを有する signal transducers and activators of transcription (STAT) で構成され、細胞膜 (レセプター) から核 (遺伝子発現) までを直結した非常にシンプルな経路である (図2)。レセプターの凝集によって活性化された JAK はレセプターの細胞内領域の特定のチロシン残基をリン酸化する (図2b)。このリン酸化チロシン残基に、細胞内に存在する STAT 分子がその src-homology 2 (SH2) ドメインを介してレセプターに会合し、JAK によってチロシンリン酸化を受ける (図2c)。チロシンリン酸化を受けた STAT はレセプターから離れ、それぞれのリン酸化チロシン残基と SH2 ドメイン同士で会合し二量体を形成する。この二量体 STAT は迅速に核内に移行し、転写因子として働いて遺伝子発現を誘導する (図2d)。JAK / STAT 経路はサイトカインシグナル伝達の機能を明確に説明できるものとして期待され、JAK と STAT ファミリーのクローニングが精力的に行われた。現在までに JAK ファミリーは4種類 (Jak1, 2, 3,

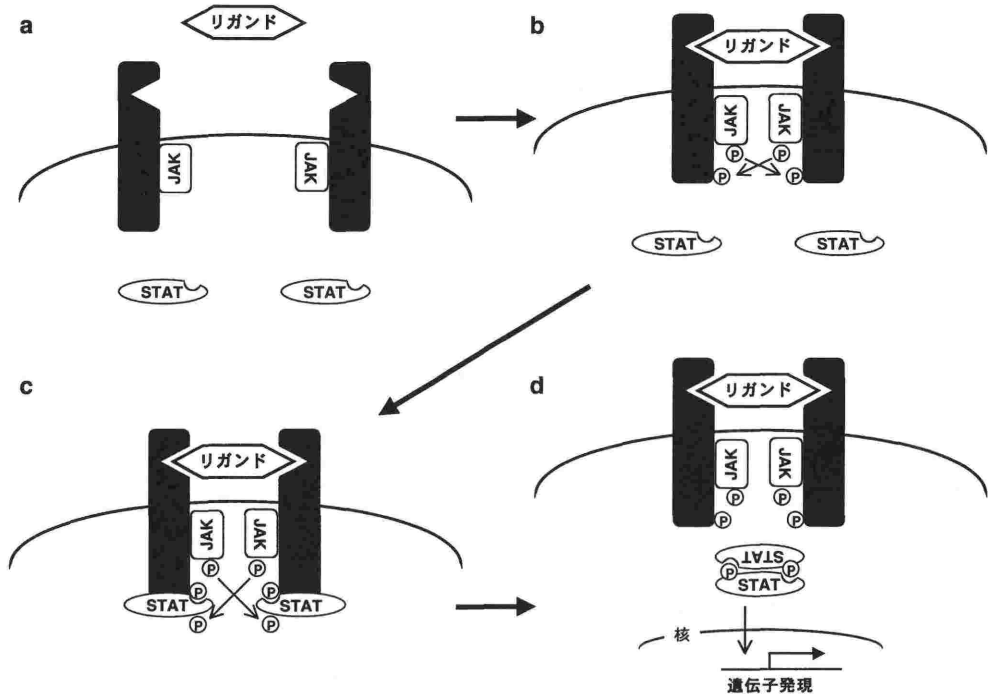


図2 JAK / STAT 経路  
(本文参照)

Tyk2) が, STAT ファミリーは 7 種類 (STAT1, 2, 3, 4, 5a, 5b, 6) が報告されている (図3). それぞれの JAK, STAT ファミリーのノックアウトマウスの表現系とそれらを用いた解析から, 活性化を誘導するサイトカインとレセプターが同定され, 個々のサイトカインの機能における JAK, STAT ファミリーの重要性が明らかになってきた<sup>6,7)</sup>.

**JAK / STAT 経路のネガティブフィードバック機構**

サイトカインの JAK / STAT による正のシグナルを負に制御する分子群も同定されてきている. cytokine inducible SH2-protein (CIS) は当初サイトカインによって共通に転写誘導される応答遺伝子としてクローニングされた分子で, その後 STAT5 によって転写誘導されることが明らかになった<sup>8)</sup>. 誘導された CIS は IL-2 や IL-3 などのレセプターに会合し, STAT5 の活性化を阻害する. すなわち, CIS は STAT5 のネガティブフィードバックを調節していると考えられる. CIS の発見から 2 年後の 1997 年, 構造的に CIS に類似し

た分子の Suppressors of cytokine signaling (SOCS)-1 が 3 つのグループから報告された<sup>9~11)</sup>. SOCS-1 は JAK ファミリーに直接会合してキナーゼ活性を抑制し, インターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) のシグナルを負に調節していることが明らかにされている. SOCS-1 は IFN- $\gamma$  によって強く誘導されるため, SOCS-1 は IFN- $\gamma$  のネガティブフィードバック調節因子である. 現在までのところ, CIS / SOCS ファミリーに属する分子として 8 種類 (CIS, SOCS-1~7) が報告されている<sup>12)</sup>.

**IL-1R を介するシグナル伝達**

他のサイトカインと同様に, IL-1 の機能も多岐にわたるが, とりわけ細菌感染に伴いマクロファージから産生されると血管内皮細胞やリンパ球を活性化したり, また発熱や急性期タンパク質を誘導するなど, 生体防御において重要な役割を果たしている<sup>13)</sup>. IL-1 刺激による標的遺伝子の発現誘導には, 2 種類の異なるファミリーの転写因子である NF- $\kappa$ B と AP-1 が深く関与しており, これらの分子の活性化には前述した JAK / STAT 経路とは異なる 2 種類のキナーゼカスケードが中

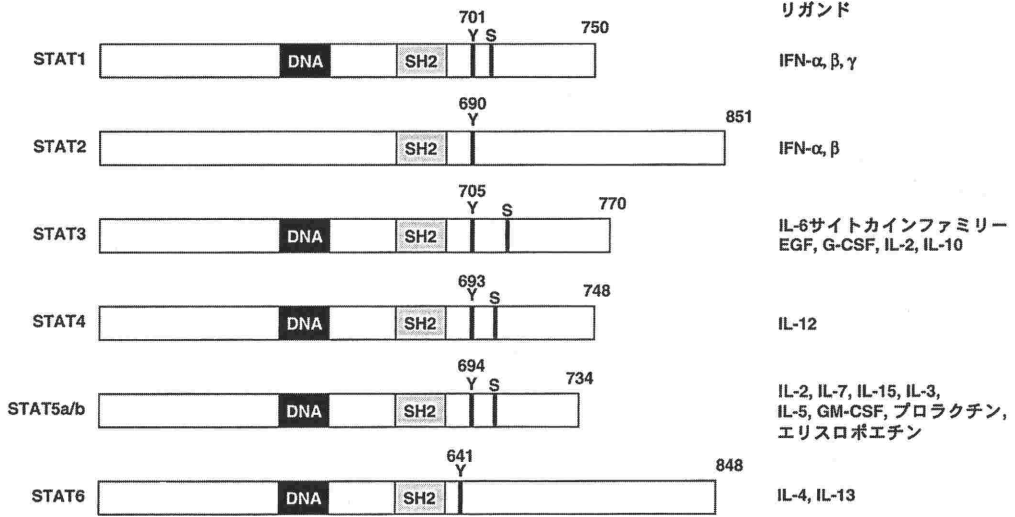


図3 STATファミリーの構造とそれぞれを活性化するリガンド

STATファミリーは約100 kDa前後のタンパク質で、ほぼ中央部にDNA結合領域(DNA)、C末端にSH2ドメイン、STATの活性化に必須のチロシン残基(Y)、およびMAPキナーゼに認識されるセリン残基(S)が存在する。STAT3とSTAT5は様々なサイトカインで活性化されるが、その他は比較的特異的なサイトカインで活性化される。

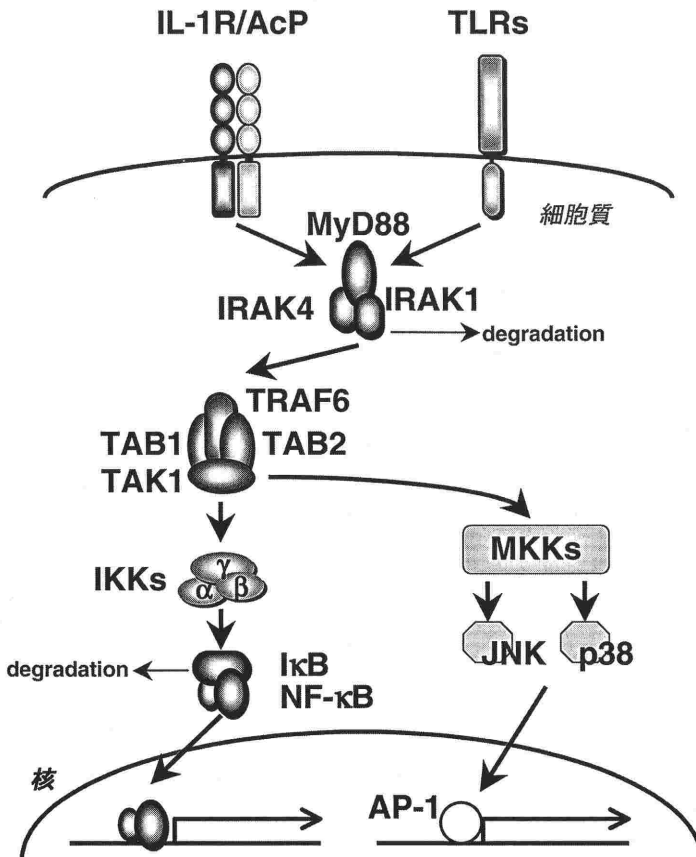


図4 IL-1Rを介するシグナル伝達経路  
(本文参照)

心的な役割を担っている (図4)。未刺激時、NF- $\kappa$ B は抑制因子である I $\kappa$ B と結合しており、通常細胞質内に存在している<sup>14)</sup>。I $\kappa$ B は刺激依存的にリン酸化を受け、それに続くユビキチン・プロテアソームの機構により分解される。その結果、I $\kappa$ B から解放された NF- $\kappa$ B は核内に移行し、遺伝子発現を誘導する。1995年以来 I $\kappa$ B をリン酸化するキナーゼの同定が試みられ、1997年に I $\kappa$ B を特異的にリン酸化するキナーゼ、IKK $\alpha$ 、IKK $\beta$  が同定された<sup>14)</sup>。IKK $\alpha$ 、 $\beta$  は互いに高い相同性を有し、700~900 kDa の大きな複合体 (IKK 複合体) の中に存在している。IKK 複合体の中には IKK の活性化分子である NEMO / IKK $\gamma$  も含まれている<sup>15,16)</sup>。IKK 分子それぞれのノックアウトマウスを用いた解析から、いずれも NF- $\kappa$ B の活性化に必要であることがわかっているが、IL-1 や LPS などの炎症性刺激による NF- $\kappa$ B の活性化には特に IKK $\beta$  が必須であることが明らかになっている<sup>17~22)</sup>。

IL-1 はまず IL-1R に結合し、その複合体がシグナル伝達能を有する IL-1R-AcP と会合することでシグナルを惹起する。IL-1R、IL-1R-AcP の細胞内領域には酵素活性を有する機能的ドメインが存在しない。これらの複合体にはアダプター分子である MyD88 が TIR ドメインを介して刺激依存的にレセプターの TIR ドメインに会合することが明らかにされている<sup>23,24)</sup>。MyD88 は分子内にもう一つのタンパク質-タンパク質会合ドメインである Death ドメインを有している。この Death ドメインを介して、MyD88 はセリン・スレオニンキナーゼの IRAK (IL-1R Associated Kinase) と会合し、そこで IRAK は活性化される。IRAK はこれまでのところ4種類 (IRAK-1, -2, -M, -4) が同定されているが、NF- $\kappa$ B の活性化に至る経路においては IRAK-1 と、その上流に位置し IRAK-1 キナーゼとして働いていることが最近報告された IRAK-4 が重要であると考えられている<sup>25~27)</sup>。活性化した IRAK-1 はレセプター / MyD88 複合体から離れ、下流のシグナル伝達分子である TRAF6 と会合する。ついで、TRAF6 は TAB1 / TAB2 / TAK1 複合体と会合し、これにより TAK1 が活性化される<sup>28,29)</sup>。活性化した TAK1 は NIK のリン酸化を誘導し、リン酸化された NIK は IKK カスケードを介して最終的に

NF- $\kappa$ B を活性化する。活性化した TAK1 は同時に MAPKK ファミリーもリン酸化することにより MAPK ファミリーである JNK, p38 の活性化とそれに続く AP-1 の活性化も誘導する。

IL-18R は IL-1R ファミリーに属しており、その構造やシグナル伝達経路は IL-1 のそれと同様である。

近年、IL-1 のシグナル伝達に参与する分子のノックアウトマウスが次々と作製・解析され、MyD88, IRAK, TRAF6 の経路は生体内においても NF- $\kappa$ B の活性化に必要であることが示されている。

## おわりに

JAK / STAT 経路も IL-1R を介する経路もショウジョウバエからヒトに至るまでよく保存されており、その生体内での重要性はこのことから容易に想像ができる。レセプター、シグナル伝達分子のクローニングが進み、機能の多様性と重複性をもつサイトカインの複雑な働きが理解されるようになってきた。また、種々のノックアウトマウスを用いた解析から、それぞれの分子が生体内のどこでどのように働いているかも解明されつつある。サイトカインの作用機構が明らかになってきた今、今後はサイトカインシグナル伝達系の臨床的な応用が実現されることが期待される。

## 文 献

- 1) Miyazima A, Kitamura T, Harada N, et al : Cytokine receptors and signal transduction. *Annu Rev Immunol* 10: 295-331, 1992
- 2) Taga T, Kishimoto T : Signaling mechanisms through cytokine receptors that share signal transducing receptor components. *Curr Opin Immunol* 7: 17-23, 1995
- 3) Kishimoto T, Taga T, Akira S : Cytokine signal transduction. *Cell* 76: 253-262, 1994
- 4) Schindler C, Darnell JE Jr : Transcriptional responses to polypeptide ligands: The JAK-STAT pathway. *Annu Rev Biochem* 64: 621-651, 1995
- 5) Ihle JN : STATs: Signal transducers and activators of transcription. *Cell* 84: 331-334, 1996
- 6) Leonard WJ, O'Shea JJ : JAK and STATs: Biological implications. *Annu Rev Immunol* 16: 293-332, 1998
- 7) Akira S : Functional roles of STAT family proteins: Lessons from knockout mice. *Stem Cells* 17: 138-146, 1999
- 8) Yoshimura A, Ohkubo T, Kiguchi T, et al : A novel cytokine-inducible gene CIS encodes an SH2-containing

- protein that binds to tyrosine-phosphorylated interleukin 3 and erythropoietin receptors. *EMBO J* 14 : 2816-2826, 1995
- 9) Starr R, Willson TA, Viney EM, et al : A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling. *Nature* 387 : 917-921, 1997
  - 10) Endo TA, Masuhara M, Yokouchi M, et al : A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases. *Nature* 387 : 921-924, 1997
  - 11) Naka T, Narazaki M, Hirata M, et al : Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor. *Nature* 387 : 924-929, 1997
  - 12) Yasukawa H, Sasaki A, Yoshimura A : Negative regulation of cytokine signaling pathways. *Annu Rev Immunol* 18 : 143-164, 2000
  - 13) Dinarello CA : Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87 : 2095-2147, 1996
  - 14) Israel A : The IKK complex: an integrator of all signals that activate NF-kappaB? *Trends Cell Biol* 10 : 129-133, 2000
  - 15) Yamaoka S, Courtois G, Bessia C, et al : Complementation cloning of NEMO, a component of the IkappaB kinase complex essential for NF-kappaB activation. *Cell* 93 : 1231-1240, 1998
  - 16) Rothwarf DM, Zandi E, Natoli G, et al : IKK-gamma is an essential regulatory subunit of the IkappaB kinase complex. *Nature* 395 : 297-300, 1998
  - 17) Takeda K, Takeuchi O, Tsujimura T, et al : Limb and skin abnormalities in mice lacking IKKalpha. *Science* 284 : 313-316, 1999
  - 18) Hu Y, Baud V, Delhase M, et al : Abnormal morphogenesis but intact IKK activation in mice lacking the IKKalpha subunit of IkappaB kinase. *Science* 284 : 316-320, 1999
  - 19) Li Q, Van Antwerp D, Mercurio F, et al : Severe liver degeneration in mice lacking the IkappaB kinase 2 gene. *Science* 284 : 321-325, 1999
  - 20) Tanaka M, Fuentes ME, Yamaguchi K, et al : Embryonic lethality, liver degeneration, and impaired NF-kappa B activation in IKK-beta-deficient mice. *Immunity* 10 : 421-491, 1999
  - 21) Li Q, Lu Q, Hwang JY, et al : IKK1-deficient mice exhibit abnormal development of skin and skeleton. *Genes Dev* 13 : 1322-1328, 1999
  - 22) Rudolph D, Yeh WC, Wakeham A, et al : Severe liver degeneration and lack of NF-kappaB activation in NEMO/IKKgamma-deficient mice. *Genes Dev* 14 : 854-862, 2000
  - 23) Wesche H, Henzel WJ, Shillinglaw W, et al : MyD88: an adapter that recruits IRAK to the IL-1 receptor complex. *Immunity* 7 : 837-847, 1997
  - 24) Musio M, Ni J, Feng P, et al : IRAK (Pelle) family member IRAK-2 and MyD88 as proximal mediators of IL-1 signaling. *Science* 278 : 1612-1615, 1997
  - 25) Martin MU, Kollerwe C : Interleukin-1 receptor-associated kinase-1 (IRAK-1): a self-regulatory adapter molecule in the signaling cascade of Toll/IL-1 receptor family. *Signal Transduct* 1-2 : 37-50, 2001
  - 26) Li S, Strelow A, Fontana EJ, et al : IRAK-4: a novel member of the IRAK family with the properties of an IRAK-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 99 : 5567-5572, 2002
  - 27) Suzuki N, Suzuki S, Duncan GS, et al : Severe impairment of interleukin-1 and Toll-like receptor signaling in mice lacking IRAK-4. *Nature* 416 : 750-756, 2002
  - 28) Ninomiya-Tsuji J, Kishimoto K, Hiyama A, et al : The kinase TAK1 can activate the NIK-I kappaB as well as the MAP kinase cascade in the IL-1 signalling pathway. *Nature* 398 : 252-256, 1999
  - 29) Takaesu G, Kishida S, Hiyama A, et al : TAB2, a novel adaptor protein, mediates activation of TAK1 MAPKKK by linking TAK1 to TRAF6 in the IL-1 signal transduction pathway. *Mol Cell* 5 : 649-658, 2000