

細胞接着分子インテグリンごとに 異なる活性化メカニズムを発見

【本件のポイント】

- 免疫に関連するインテグリンの活性化メカニズムを解明
- リンパ球上のインテグリン（LFA1）の活性化には細胞内と細胞外からの同時刺激が必要、 $\alpha 4\beta 7$ インテグリンでは細胞外刺激に続いて細胞内刺激が起こることが必要と新たに判明
- 免疫疾患やがんの新しい予防法、治療薬の開発に期待

学校法人関西医科大学（大阪府枚方市 理事長・山下敏夫、学長・木梨達雄）附属生命医学研究所分子遺伝学部門（前教授・木梨達雄）の上岡裕治講師らの研究グループが、Tリンパ球に発現する細胞接着分子インテグリンの新しい制御メカニズムを発見しました。

本研究成果から、インテグリンの種類や、異なる種類の免疫系細胞ごとにそれぞれ特異的な制御が存在することが予想されます。リンパ球の集積を基本的病態とする慢性炎症・アレルギー、自己免疫疾患、あるいはがんの浸潤・転移など、インテグリンが関与する病態の解明や阻害剤の開発戦略に本研究成果が重要な基礎的知見となります。現在、多くの免疫・がんに対して抗インテグリン抗体が開発されていますが、成功例は潰瘍性大腸炎の治療薬として承認・使用されている $\alpha 4\beta 7$ 抗体など少数に限られています。今回の研究成果は次世代のインテグリン標的医薬を開発する上でも注目されるべき重要なポイントになると考えられます。

リンパ球は、全身の血管・リンパ節を循環しながら免疫監視をおこなっていますが、その細胞表面にある複数種類存在するインテグリンを使い分け、血管内皮に接着し組織に移動してウイルス・細菌に対する防御をしています。血流のある生体環境を再現し解析したところ、LFA1（ $\alpha L\beta 2$ インテグリン）とそのリガンド ICAM1 の組み合わせでは「outside-in シグナル」と「inside-out シグナル」が同時に起こることで接着制御因子 Rap1 が活性し、インテグリン結合分子 Talin1 がリクルートされローリングから停止接着を誘導し、停止する段階で Kindlin-3 がさらに必要であることがわかりました。興味深いことに、インテグリン $\alpha 4\beta 7$ とリガンド MAdCAM1での組み合わせでは、ローリングには Rap1 や Talin1、Kindlin-3 は必要なく、「outside-in シグナル」から「inside-out シグナル」が連続して起こることが停止接着に重要であることがわかりました。これはインテグリンの種類によって活性化の制御様式そのものが異なるという新しい発見になります。インテグリンはリンパ球が集積するアレルギー・自己免疫疾患、あるいはがんの浸潤・転移などに深く関わっています。今回の発見により、免疫疾患やがんの新しい予

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・両角）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

PRESS RELEASE



防法、治療薬の開発に期待がもたれます。

なお、本研究についてまとめた論文が「Cell Reports」(インパクトファクター：9.995)に6月1日(木)付(米国東部時間)で掲載されました。詳しい研究概要は次ページ以降の別添資料をご参照ください。

■書誌情報	
掲 載 誌	「Cell Reports」(https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112580)
論文タイトル	Distinct bidirectional regulation of LFA1 and $\alpha 4\beta 7$ by Rap1 and integrin adaptors in T cells under shear flow
筆 者	Yuji Kamioka, Yoshihiro Ueda, Naoyuki Kondo, Keizo Tokuhiko, Yoshiki Ikeda, Wolfgang Bergmeier, and Tatsuo Kinashi

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室(佐脇・両角)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

別 添 資 料

<本研究の背景>

リンパ球は、全身の血管・リンパ節を再循環しながら免疫監視をおこなっていますが、その際、複数種類存在する接着分子インテグリンを使い分けています。表在リンパ節や腸管リンパ組織、炎症組織の血管内皮に接着する過程、組織に移動してウイルス・細菌など異物由来の抗原を認識して獲得免疫を誘導する過程などでインテグリンは重要な役割を果たしています。インテグリンは通常、接着性が低く保たれていますが、細胞遊走を刺激するケモカインや抗原刺激を受けると、いわゆる「inside-out シグナル」と呼ばれる細胞内シグナルが伝達され、秒単位で接着性が亢進します。この過程でインテグリン結合分子 Talin1 および Kindlin-3 がインテグリン細胞内領域に結合し、細胞外領域のコンフォメーション・親和性を変化させてリガンドに結合すると考えられています。一方、リガンドに結合することによって細胞外領域の変化が起こり「outside-in シグナル」が細胞内領域に伝達され、インテグリン結合分子との結合が起こるという逆のプロセスも提唱されています。

リンパ球と血管内皮との接着様式には主にセレクチンと糖鎖の結合によってローリングとよばれる弱い接着がまず起こり、数秒以内にインテグリンによる強い接着によって停止します。表在リンパ節では、リンパ球上の LFA1(インテグリン $\alpha L\beta 2$)がケモカインの刺激を受けると血管内皮側の ICAM1 に結合し停止します。一方、腸管組織の血管内皮では、リンパ球上のインテグリン $\alpha 4\beta 7$ と血管内皮上の MAdCAM1 の結合によってローリングが起こり、次いでケモカイン刺激による停止が起こることが知られていました。これまで inside-out と outside-in シグナルの関係や作用機序について詳細は明らかになっていませんでした。上岡講師、木梨前教授らの研究グループはこれまで、インテグリンを活性化する「inside-out シグナル」が低分子量 G 蛋白質 Rap1 であることを同定しその機序を追求してきました。Rap1、Talin1、Kindlin-3 による LFA1 の接着制御については一分子レベルのイメージングを開発し、おもに抗原提示細胞との接着など静的環境下における LFA1 制御メカニズムを明らかにしていましたが、血流環境下の接着制御や異なるインテグリンにおける制御の相違については不明でした。

<本研究の概要>

今回、獲得免疫の司令塔であるリンパ球、T細胞について、Rap1、Talin1、Kindlin-3、それぞれの遺伝子を欠損させ、リンパ節への移動（ホーミング）および in vitro での接着を解析しました。その結果、Rap1 と Talin1 はホーミングに必須であるのに対して、Kindlin-3 の欠損効果は50%程度でした。Kindlin-3 欠損 T細胞は必ず応力が強く、細い内径の高内皮細静脈（high endothelial venule, HEV）への接着が阻害されていましたが、比較的内径が大きい HEV に接着しており、高濃度の ICAM1 に結合できることから、Kindlin-3 は高親和性 LFA1 の生成に必要であることが示唆されました。

次に、血管内皮との接着過程を正確に測定するために平行流路を用いてローリングから停止を再現する実験を行いました。ローリングを再現するために、糖鎖修飾された CD34(PNAd⁺CD34)の発現/精製

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・両角）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

方法、培養器材へのコーティング方法、データの半自動解析法などさまざまな研究手法を開発・改良し、血流環境下での接着評価系を樹立し解析しました。LFA1 と ICAM1 の組み合わせで調べたところ、ICAM1 のみではローリングが起きませんが、PNAd+CD34 のみと比較して、PNAd+CD34 と ICAM1 の両方が存在することでローリングの頻度が亢進し、Rap1 が活性化し、LFA1 の活性化を通じてローリング速度の低下(slow rolling)が起りました。Rap1 活性化および Talin1 の局在を検出する蛍光イメージングの手法を用いて詳細に解析した結果、slow rolling の開始時に LFA1 が ICAM1 と Talin1 にほぼ同時に結合し、Rap1 活性化因子 RasGRP2 および C3G によって瞬時に Rap1 が活性化すること、Talin1 が Rap1 の活性化に必要でしたが、Kindlin-3 は必要ないことがわかりました。一方、ケモカイン刺激による停止接着には Rap1、Talin1、Kindlin-3 が必要でした。これらのことから「outside-in シグナル」と「inside-out シグナル」が同時に起こることで Rap1 が活性し、Talin1 と ICAM1 に結合した LFA1 は、低親和性から slow rolling に適した中親和性に変化し、ケモカイン刺激によってさらに Rap1 が活性化されると、Talin1 と Kindlin-3 によって高親和性へ変化することが示唆されました。実際、Rap1 不活性化因子である Rasa3 および Sip1 を欠損した T 細胞では Rap1 が著しく活性化しましたが、高親和性 LFA1 に変化せず、膜上の ICAM1 に結合すると高親和性結合することがわかり、LFA1 の親和性変化に「outside-in シグナル」と「inside-out シグナル」が同時に必要であるモデルが支持されました(図1)。

$\alpha 4\beta 7$ と MAdCAM1 での組み合わせでは、これまでの研究と同様、MAdCAM1 のみでローリングと一部停止接着が起り、ケモカイン刺激で停止接着が増加しました。今回、 $\alpha 4\beta 7$ /MAdCAM1 によるローリングには Rap1、Talin1、Kindlin-3 は不要であることがわかりました。興味深いことに、Rasa3 および Sip1 の欠損によって Rap1 が活性化した T 細胞では、流れのない状態では $\alpha 4\beta 7$ /MAdCAM1 による接着が亢進しましたが、流れがある状態ではローリング・停止接着が阻害されるという、LFA1/ICAM1 と逆の現象が起りました。解析の結果、 $\alpha 4\beta 7$ は LFA1 と異なり、Rap1 の活性化によって高親和性に変化していることがわかりました。高親和性 $\alpha 4\beta 7$ は結合速度・解離速度がともに遅いことが報告されており、これらのことが流れ存在下で MAdCAM1 に結合することができない原因と推察されました。以上の結果から $\alpha 4\beta 7$ は MAdCAM1 に結合すると自動的にローリングに適切な親和性(中親和性)に変化し、ケモカイン刺激で Rap1 が活性化することによって高親和性結合となり停止すると考えられます。すなわち、「outside-in シグナル」から「inside-out シグナル」への連続したプロセスが $\alpha 4\beta 7$ によるローリングから停止に必要であると考えられました(図1)。

本研究によって、T 細胞のリンパ節移動を担う 2 つの重要なインテグリン LFA1 と $\alpha 4\beta 7$ を制御する Rap1、Talin1 と Kindlin-3 の役割とメカニズムの相違点が明確になり、インテグリン活性化の概念が大きく修正されることになりました。これまでは inside-out シグナルが最初に起り、次いで outside-in シグナルによってインテグリンが活性化するモデルが一般的に支持されていましたが、LFA1 の場合は 2 つのシグナルが同時に必要であり、一方 $\alpha 4\beta 7$ では outside-in シグナルから inside-out シグナルの順で起こることが重要であり、その結果、Rap1 の活性化レベルによって接着が促進または阻害することにつながりました。

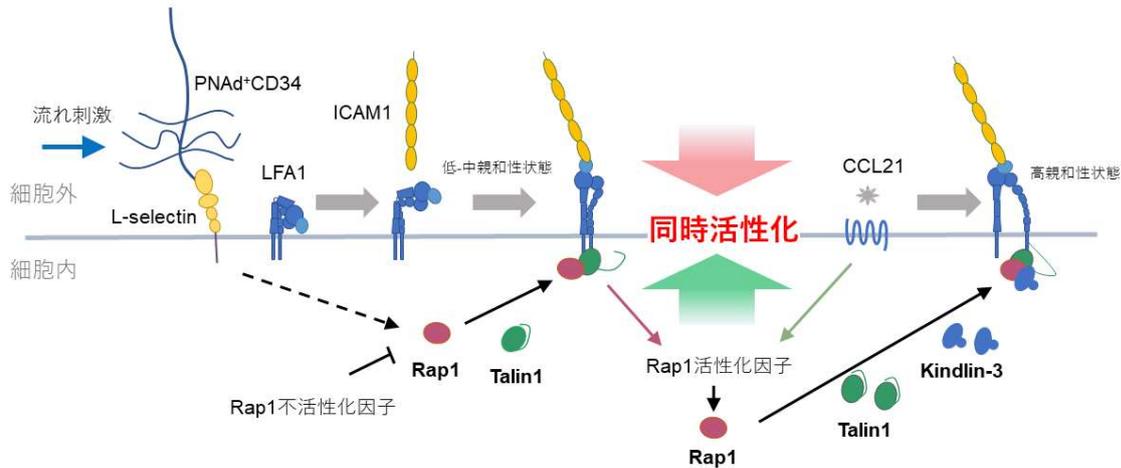
【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室(佐脇・両角)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

LFA1/ICAM1における同時活性化メカニズム



integrin $\alpha 4\beta 7$ /MAdCAM1による連続的活性化メカニズム

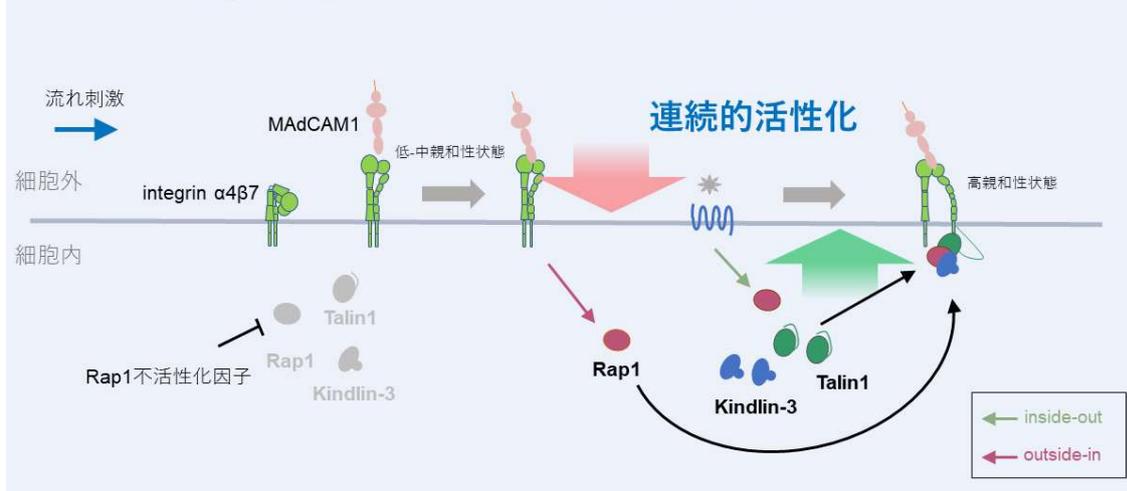


図1 本研究の概要

用語解説

インテグリン

免疫細胞にも存在し、獲得免疫の誘導にも重要な役割を果たす α 鎖と β 鎖からなるヘテロ二量体のタンパク質。18個の α 鎖と8個の β 鎖の組み合わせで24種類のインテグリンが形成される。

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・両角）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

PRESS RELEASE



Rap1

低分子量Gタンパク質のひとつ。活性化型（GTP 結合型）または不活性化型（GDP 結合型）の2つの状態をとることで、下流の細胞接着シグナルの ON/OFF を切り替える分子スイッチとして機能する。

PNAd

Peripheral lymph Node Addressin の略。シアリルルイス X という特殊な糖鎖付加をされたタンパク質の総称。

抗体医薬

血液中に多く含まれる免疫グロブリンという生体防御分子を疾患関連分子特異的に遺伝子組換え技術でデザインし、ヒト医療用に精製したもの。現在、日米欧で100品目を越える抗体医薬品がある。

<本件研究に関するお問合せ先>

学校法人関西医科大学附属生命医学研究所
分子遺伝学部門 講師
上岡 裕治
大阪府枚方市新町二丁目5番1号
TEL：072-804-0101
E-mail：kamiokay@hirakata.kmu.ac.jp

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・両角）
〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1
電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp