

総 説

Gas6/Axl による感染免疫制御 Immune regulation by Gas6/Axl axis during infectious diseases

柴田 岳彦 中村 茂樹
Takehiko SHIBATA Shigeki NAKAMURA

東京医科大学微生物学分野
Department of Microbiology, Tokyo Medical University

【要旨】 病原体感染は免疫系のバランスに影響を与え、アレルギーや重症感染症をひき起こすことがある。例えば、真菌の反復感染は気管支喘息の原因のひとつとなり、呼吸器感染症をひき起こすRSウイルスの感染は、しばしば二次性細菌性肺炎を誘導する。すなわち、これら病原体感染がどのように免疫系の異常をもたらすのか、その機構を解明することは疾患の予防や治療法の開発につながる。本稿では、筆者らが見出した新規免疫制御因子 growth arrest specific 6 (Gas6)/Axl によるアレルギーや重症感染症の発症機構について概説する。

1. はじめに

感染症の病態は、病原体の特性と宿主の免疫応答により変化する。生体は免疫系を駆使し、病原体を排除しようとするが、時として正常な免疫応答に破綻が生じ、重症感染症やアレルギーをひき起こす。長年にわたり世界中でこれらの発症機構の解明が試みられてきたが、現在もなお新しい知見が得られ続けている。そのひとつとして、筆者らは growth arrest specific 6 (Gas6)/Axl によるアレルギーや重症感染症の発症機構を見出した。それまでは生体での免疫制御機構が明らかになっておらず、それほど注目されてこなかった分子だったが、今まさに脚光を浴びようとしている。本稿では、病原体感染における Gas6/Axl による新しい免疫制御機構について概説する。

2. Gas6 と Axl

Gas6 は 1988 年に Schneider らにより増殖休止期に発現が上昇する遺伝子として報告され¹⁾、1993 年には Manfioletti らにより cDNA の構造が報告された²⁾。Gas6 のレセプターは、Tyro3、Axl、Mer (TAM レセプター) である。これら 3 種類のレセプターはそれぞれ類似した構造を有するが、親和性や発現組織・細胞が多岐に渡るために異なる生理作用を示す³⁾。Axl は Gas6 に対して最も高い親和性を有するため、TAM レセプターの中でも最も多くの役割を担っているとされる (図 1)⁴⁾。当初、Axl に結合する Gas6 は線維芽細胞の増殖因子として同定された⁵⁾。それ以降は細胞増殖因子としての役割はそれほど注目されてこなかったが、最近ではがん細胞の増殖因子として注目を集めている⁶⁾。また、最も有名な生理機能は、アポトーシス細胞の認識と貪食である。Gas6 がアポトーシス細胞に露出したホスファ

令和 2 年 11 月 27 日受付、令和 2 年 12 月 17 日受理

キーワード：感染症、アレルギー、病原体、免疫細胞、growth arrest specific 6 (Gas6)/Axl
(別冊請求先：〒160-8402 東京都新宿区新宿 6-1-1 東京医科大学微生物学分野)

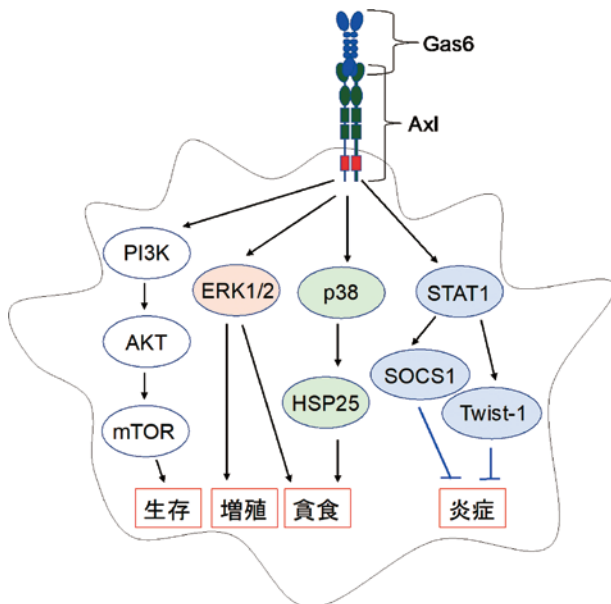


図1 Gas6/Axlと代表的な生理活性シグナル
Gas6/Axlシグナルは、生存、増殖、アポトーシス細胞の貪食、炎症の抑制など様々な生理活性を示す。

チジルセリンとマクロファージなどの貪食細胞のAxlに結合すると、貪食関連シグナルが活性化し、アポトーシス細胞が貪食除去される⁷⁾。すなわちGas6は橋渡し分子として働く。一方、これらとは性質が異なる生理活性として、免疫制御の機能が見出されている。in vitroの実験により、Gas6/Axlシグナルは suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1やTwist1を誘導し、Toll-like receptor (TLR) シグナルを抑制する機能が報告された^{8,9)}。そして、その後の筆者らの研究により、Gas6/Axlはアレルギーや感染症などの様々な疾患における免疫応答の制御因子として働くことが判明した。

3. 真菌感染に対する Gas6/Axl の役割

真菌の一種である *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) は、健常人であれば適切な免疫応答により速やかに気道から排除される。一方、*A. fumigatus* の反復感染は2型免疫応答が優位となる慢性アレルギー性気道炎症を惹起し、気管支喘息を誘導することがある。筆者らは、マウスを *A. fumigatus* 抗原で感作することで、マクロファージより産生された Gas6 が樹状細胞の Axl を介してそのフェノタイプを DC2 にシフトさせることを見出した (図2)。そして DC2 はナイーブヘルパー T 細胞 (Th0 細胞) を Th2 細胞へ分化誘導するが、ひき続く *A. fumigatus* の感染により多量の Th2 サイトカインが産生され、

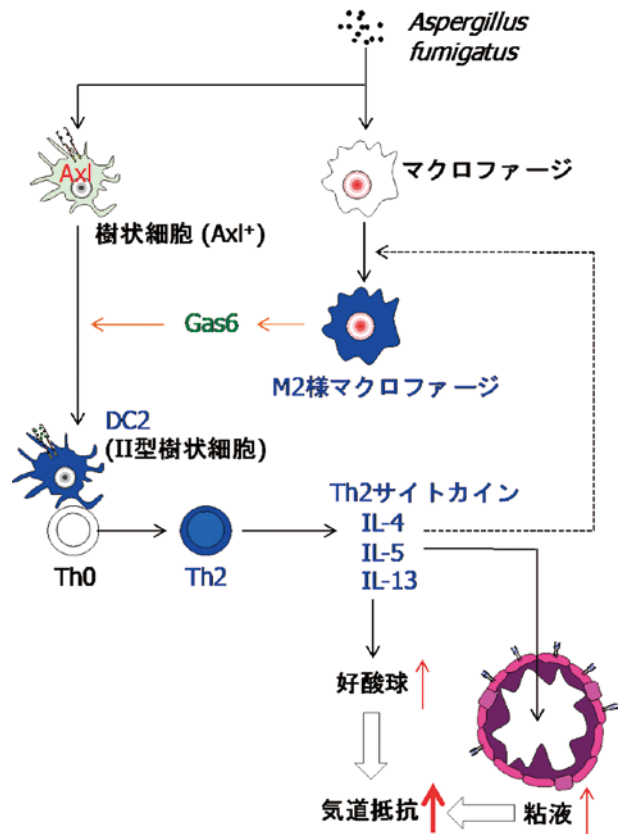


図2 Gas6/Axlシグナルによる気管支喘息の誘導
A.fumigatus 感染により誘導された Gas6 は、Axl を介して樹状細胞を DC2 に分極させる。DC2 は Th0 細胞から Th2 細胞を誘導し、*A. fumigatus* の再感染時には多量の Th2 サイトカイン産生を誘導する。

気管支喘息が発症することを明らかにした¹⁰⁾。さらに、抗 Axl 抗体を投与すると Th1 サイトカイン産生が促進される一方、Th2 サイトカイン産生が抑制され、気管支喘息の病態改善がみられた。すなわち、Gas6/Axl は免疫応答を 1 型から 2 型にシフトさせる機能を有することが示唆された。なお、気管支喘息患者の血清 Gas6 濃度は、健常人と比較して高値であった。

気管支喘息などのアレルギー性疾患は獲得免疫の破綻が主な原因であるが、Gas6/Axl の自然免疫応答への関与についても検討を行った。重篤な免疫抑制状態にある場合、*A. fumigatus* は全身に播種し、侵襲性肺アスペルギルス症 (IPA) などの重症感染症をひき起こすことがある。マウス IPA モデルに抗 Axl 抗体を投与すると、Th1 サイトカインであるインターフェロン (IFN)- γ が多量に産生され、コントロール群と比較し真菌の肺内クリアランスが向上し、生存率も回復した¹¹⁾。

以上の結果より、真菌感染に伴う獲得免疫と自然免疫応答の制御において Gas6/Axl は重要な役割を担うことが示された。すなわち、Gas6/Axl をターゲットとした気管支喘息や真菌感染症の新規予防法や治療法の開発につながることを期待される。

4. ウイルス感染に対する Gas6/Axl の役割

筆者らは、Gas6/Axl がウイルス感染に伴う免疫応答の制御にも関与するか検討した。インフルエンザウイルス感染において I 型 IFN は、抗ウイルス作用の観点から非常に重要な役割を担う。インフルエンザウイルス感染マウス致死モデルでは、I 型 IFN の産生量が回復モデルと比較して少なかった。そこでこの致死モデルに抗 Axl 抗体を投与したところ、生存率の回復が認められた (図 3A)¹²⁾。さらに抗 Axl 抗体投与群では I 型 IFN の発現量が上昇し (図 3B)、ウイルス価および気管支肺胞洗浄液中の好中球数の抑制がみられた。すなわち、Gas6/Axl はウイルス感染症において重要な免疫制御因子であることが明らかになった。インフルエンザウイルスに限らずウイルス排除において I 型 IFN は重要な役割を担うため、Gas6/Axl をターゲットにした創薬戦略の拡大が期待される。

5. ウイルス感染後の二次性細菌感染症の発症と Gas6/Axl の関連

呼吸器感染症をひき起こす respiratory syncytial virus (RS ウイルス) は、ほぼ 100% の乳幼児が 2 歳までに感染し、健康な成人であれば感染してもかぜの症状が現れる程度である。一方、乳児や高齢者では細気管支炎や肺炎を合併し重症化し、RS ウイ

ルスそのものではなく肺炎球菌などによる二次性細菌性肺炎がしばしば見受けられる。

筆者らは、RS ウイルス感染後の二次性肺炎マウスモデルを作製し、その発症メカニズムについて Gas6/Axl との関連に着目し解析を行った。RS ウイルス感染 8 日後、肺炎球菌を感染させると野生型のマウスでは一定の割合で生存率が低下するのに対して、Gas6 KO マウスではそのような低下はみられなかった (図 4A)。野生型マウスが RS ウイルスに感染すると、その後の肺炎球菌感染に伴う IFN- γ など炎症性サイトカインの産生 (図 4B) や免疫細胞の浸潤 (図 4C) などの免疫応答が抑制されることが判明した (図 4D)¹³⁾。そして、RS ウイルスに感染した野生型マウスでは肺炎球菌のクリアランスが遅れることが判明した。一方、Gas6 KO マウスでは二次感染グループであっても、これら免疫応答の抑制は解除された。すなわち、RS ウイルス感染によって誘導される Gas6/Axl が二次性肺炎の原因であることが示唆された。そこで、Gas6 の標的となり、かつ肺炎球菌感染に対して重要な役割を担うマクロファージに注目して解析した。肺炎球菌のクリアランスには抗菌能の高い M1 マクロファージの出現が不可欠だが、RS ウイルス感染後のマクロファージは抗菌能の低い M2 様マクロファージに分極していることがわかった。さらに、RS ウイルスの感染に伴い気道上皮細胞や肺胞マクロファージから産生される Gas6 と肺胞マクロファージに発現する Axl が結合すると、M2 様マクロファージを誘導することを見出した。この M2 様マクロファージは、IL-18 や CXCL2 の産生能が低いため、ナチュラルキラー (NK) 細胞からの IFN- γ 産生や好中球浸潤をほとん

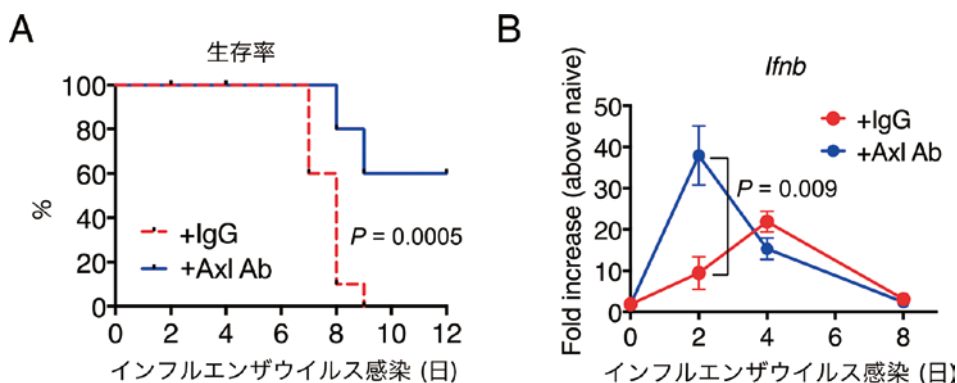


図 3 Gas6/Axl シグナル阻害抗体による I 型 IFN 亢進と生存率の改善 (インフルエンザ感染致死モデルを用いた解析) 抗 Axl 抗体を投与した C57BL/6 マウスにインフルエンザウイルス (H1N1) を感染させた後の生存率 (A) と IFN- β 発現 (B) の変化。

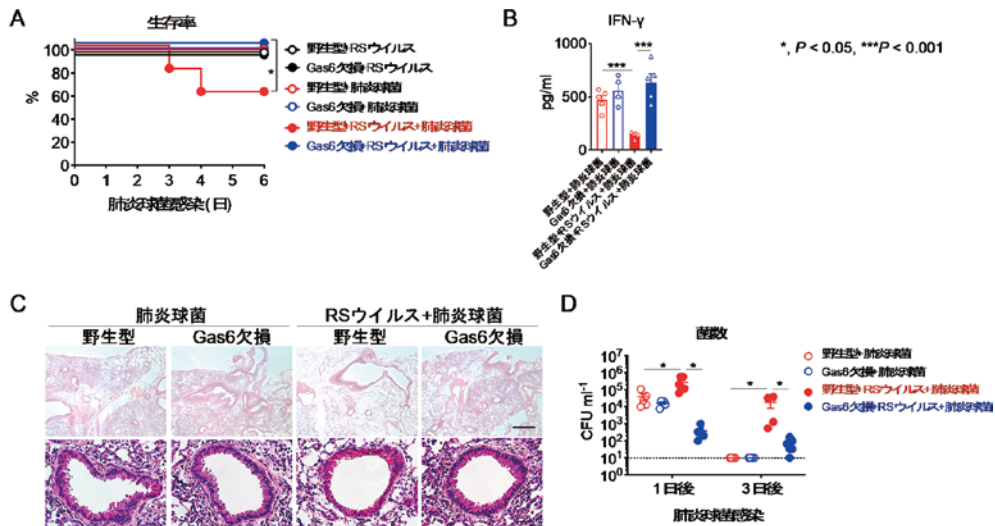


図4 RSウイルス感染に伴う Gas6/Axl シグナルの誘導と感染免疫の抑制
野生型または Gas6 欠損マウスに RS ウイルスを感染させ 8 日後に肺炎球菌を感染させた。肺炎球菌感染後の生存率の変化 (A) と、肺炎球菌感染 1 日または 3 日後の IFN- γ 産生 (B)、気道への細胞浸潤 (C)、肺炎球菌数 (D) を比較した。

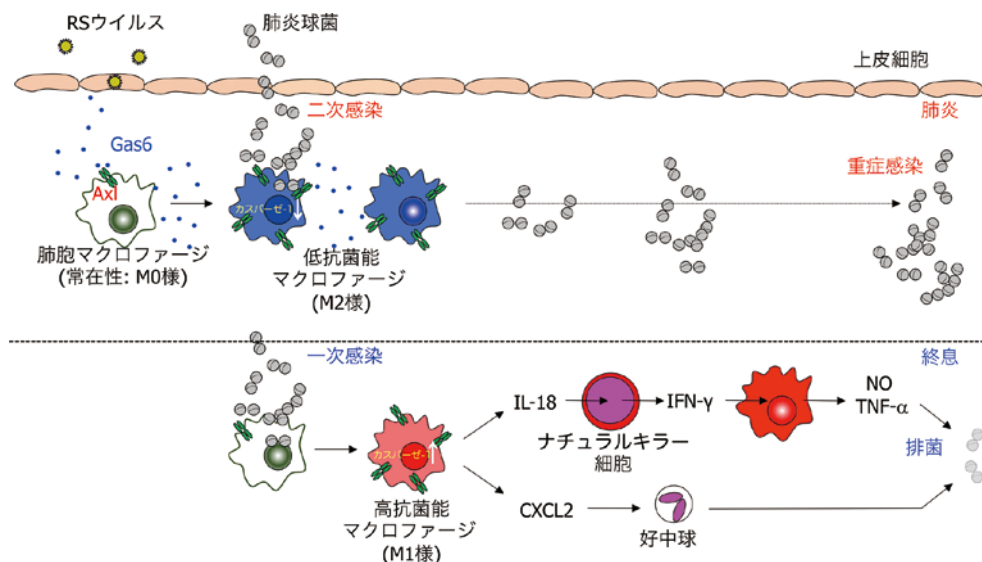


図5 RSウイルス感染に伴う Gas6/Axl シグナルによる二次性細菌感染の誘導
RSウイルスの感染に伴い上皮細胞と肺胞マクロファージから Gas6 が産生される。Gas6/Axl は、M0 様マクロファージから非抗菌性 (M2 様) マクロファージを誘導するため、肺炎球菌感染に伴うカスパーゼ-1/IL-18 の活性が阻害される。結果、好中球浸潤や NK 細胞からの IFN- γ 産生が抑制され、重度の二次性細菌感染症が引き起こされる。

ど誘導できず、結果的に肺炎球菌が爆発的に増え、重症感染に陥ることがわかった。一方、RSウイルス感染後でも、Axl に対する阻害抗体や阻害剤により Gas6 からのシグナルを阻害すれば、M2 様マクロファージへの分極が抑制され、適切な炎症応答を誘導でき肺炎球菌のクリアランスが正常化し、重症化しないことが判明した (図 5)¹³⁾。

肺炎は日本における死因の第 5 位である。その原因は様々だが、筆者らの発見は少なくとも RS ウィ

ルス感染に伴う二次性細菌性肺炎に対する新しい予防・治療法の開発につながることを期待される。今後、この発見がその他のウイルスなどの病原体の感染による免疫応答や重症化の理解に役立つとともに、二次感染モデルを用いた免疫応答に関する研究がますます有意義になってくることが予想される。

6. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19)

2020 年 11 月時点で、SARS-CoV-2 の世界的感染

拡大が続いている。安全かつ有効なワクチンや治療薬の実用化までにはもう少し時間がかかるだろう。なぜ、RSウイルスと同様にかぜ症候群の起因ウイルスであるコロナウイルスの一種がここまで大きな問題を起こしているか決定的な答えは得られていない。この短期間に膨大な数の研究が実施されているが、少なくともこの感染症の制御において重要なことのひとつは、重症化機構の解明である。筆者らのこれまでの研究結果は、ウイルス感染の制御には適切なタイミングと強度の炎症反応などの免疫応答が起こることが重要であり、何らかの原因でこれを回避してしまうと重症化することを示唆している。COVID-19においても、その回避の原因としてGas6/Axlの存在が予想される。事実、重症患者においてGas6レベルが有意に上昇することが報告された¹⁴⁾。また、筆者らのGas6/Axlシグナルの阻害によるI型IFN産生亢進の研究成果を基盤に、英国のCOVID-19の治験においてAxl阻害剤であるBGB324 (BerGenBio社)が採用された。Gas6/Axlと重症化の因果関係が解明されたわけではないが、これまでの筆者らの研究成果がこのパンデミック収束の一端を担うことを期待する。

7. おわりに

著者らの研究により、感染症やアレルギーにおけるGas6/Axlの役割が明らかになってきた。今後、病原体感染に伴うGas6産生機構やGas6/Axlシグナルの詳細なpathwayの解明、臨床レベルでのウイルス感染やアレルギーにおけるGas6/Axlの役割の解明が課題となる。これらがクリアされれば、「Gas6/Axlによる免疫制御」について認知度や関心が高まり、様々な感染症やアレルギーに対する予防薬や治療薬の開発と実用化に近づくだらう。

文 献

- 1) Schneider C, King RM, Philipson L. Genes specifically expressed at growth arrest of mammalian cells. *Cell* **54**: 787-793, 1988.
- 2) Manfioletti G, Brancolini C, Avanzi G, Schneider C. The protein encoded by a growth arrest-specific gene (gas6) is a new member of the vitamin K-dependent proteins related to protein S, a negative coregulator in the blood coagulation cascade. *Mol Cell Biol* **13**: 4976-4985, 1993.
- 3) Lemke G. Phosphatidylserine Is the Signal for TAM Receptors and Their Ligands. *Trends Biochem Sci* **42**: 738-748, 2017.
- 4) Nagata K, Ohashi K, Nakano T, Arita H, Zong C, Hanafusa H, Mizuno K. Identification of the product of growth arrest-specific gene 6 as a common ligand for Axl, Sky, and Mer receptor tyrosine kinases. *J Biol Chem* **271**: 30022-30027, 1996.
- 5) Tanabe K, Nagata K, Ohashi K, Nakano T, Arita H, Mizuno K. Roles of γ -carboxylation and a sex hormone-binding globulin-like domain in receptor-binding and in biological activities of Gas6. *FEBS Lett* **408**: 306-310, 1997.
- 6) Graham DK, DeRyckere D, Davies KD, Earp HS. The TAM family: phosphatidylserine sensing receptor tyrosine kinases gone awry in cancer. *Nat Rev Cancer* **14**: 769-785, 2014.
- 7) Rothlin CV, Carrera-Silva EA, Bosurgi L, Ghosh S. TAM receptor signaling in immune homeostasis. *Annu Rev Immunol* **33**: 355-391, 2015.
- 8) Rothlin CV, Ghosh S, Zuniga EI, Oldstone MBA, Lemke G. *Cell* **131**: 1124-1136, 2007.
- 9) Sharif MN, Sosic D, Rothlin CV, Kelly E, Lemke G, Olson EN, Ivashkiv LB. Twist mediates suppression of inflammation by type I IFNs and Axl. *J Exp Med* **203**: 1891-1901, 2006.
- 10) Shibata T, Ismailoglu UB, Kittan NA, Moreira AP, Coelho AL, Chupp GL, Kunkel SL, Lukacs NW, Hogaboam CM. Role of growth arrest-specific gene 6 in the development of fungal allergic airway disease in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* **51**: 615-625, 2014.
- 11) Shibata T, Habel DM, Coelho AL, Hogaboam CM. Axl receptor blockade protects from invasive pulmonary aspergillosis in mice. *J Immunol* **193**: 3559-3565, 2014.
- 12) Shibata T, Habel DM, Coelho AL, Kunkel SL, Lukacs NW, Hogaboam CM. Axl receptor blockade ameliorates pulmonary pathology resulting from primary viral infection and viral exacerbation of asthma. *J Immunol* **192**: 3569-3581, 2014.
- 13) Shibata T, Makino A, Ogata R, Nakamura S, Ito T, Nagata K, Terauchi Y, Oishi T, Fujieda M, Takahashi Y, Ato M. Respiratory syncytial virus infection exacerbates pneumococcal pneumonia via Gas6/Axl-mediated macrophage polarization. *J Clin Invest* **130**: 3021-3037, 2020.
- 14) Huckriede J, Anderberg SB, Morales A, de Vries F, Hultström M, Bergqvist A, Ortiz JT, Sels JW, Wichapong K, Lipcsey M, van de Poll M, Larsson A, Luther T, Reutelingsperger C, de Frutos PG, Frithiof R, Nicolaes GAF. Markers of NETosis and DAMPs are altered in critically ill COVID-19 patients. *Research Square* (Preprint)