

## 新規 GEF Zizimin ファミリーの免疫老化における機能と役割の解明

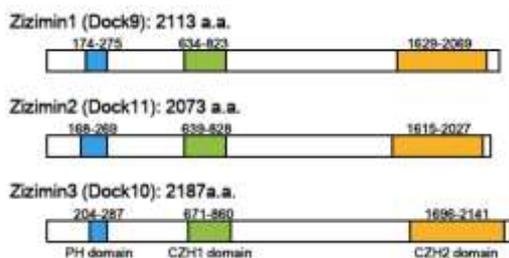
### [1] 組織

代表者：丸山 光生  
(国立長寿医療研究センター研究所)  
対応者：佐竹 正延  
(東北大学加齢医学研究所)  
分担者：  
松田 剛典  
(国立長寿医療研究センター研究所)

研究費：物件費10万円，旅費10万円

### [2] 研究経過

新規グアニンヌクレオチド交換因子(GEF)である **Zizimin2/DOCK11(Ziz2)** は、T細胞依存的抗原刺激後のマウス脾臓胚中心成熟B細胞で高発現する遺伝子として私たちが単離同定した機能分子である。その後の研究で **Ziz2** は、B細胞に限らず、獲得免疫系の中心的な役割を果たすT細胞や樹状細胞等、免疫担当細胞特異的に広く発現が確認できたこと、マウス個体においても脾臓、胸腺、リンパ節等の免疫組織に特異的に発現する事が明らかになり、免疫応答において機能的に重要な役割を果たすと推察している。また **Ziz2** 遺伝子の構造解析から、C末端の **CZH2** ドメインを介し低分子量 G 蛋白質 **Cdc42** と結合し、活性化するという点で **Zizimin1,3** と併せて **Zizimin** ファミリーを形成しており(図)、遺伝子発現の違いによりファミリー間の役割分担、機能解析も注目されている。



Nishikimi A et al., FEBS Lett., 2005 を改変

図1：Zizimin ファミリー蛋白の構造的類似性

本研究では **C57/BL6** 老齢マウス (24ヶ月齢) の脾臓において、遺伝子レベルのみならずタンパク分子でもその発現が低下する事を見出した免疫系特異的に発現する **Ziz2** 遺伝子を中心に、その遺伝子発現

調節における **Runx** との関連や、同遺伝子欠失マウスを用いた個体老化の免疫能低下における **Ziz2** の役割について、加齢研免疫遺伝子制御分野の佐竹正延教授と共に解析することで、高齢者の抱える感染症による重篤度の改善につながる研究を推進することを目的として研究を行った。以下、研究活動状況の概要を記す。本共同研究の研究打ち合わせについては研究計画を実施する上での立案と改善 (2013年5月)、さらにこの一年間の進捗状況成果の確認について (2014年2月末)、いずれも東北大学加齢医学研究所の佐竹教授と代表者が訪問する形で行われた。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。  
まず第1に、シグナル伝達を含めた *in vitro* における免疫系細胞のホーミング(遊走能)に関わる **Ziz2** の機能解析をするとともに個体老化との関わりを解析する目的で作出、維持している **Ziz2** 遺伝子欠失マウス (**Ziz2 KO** マウス) を用いた *in vivo* の機能解析を行った。具体的には、骨髄における B細胞分化において、**Fr.A** が増加している一方で抹消に放出される程度に分化した **Fr.E** には減少がみられた。また抹消リンパ組織に脾臓における B細胞分化においては濾胞性 B細胞には上昇が見られたが、辺縁帯 B細胞は減少していることを見いだした。しかし、当初より計画していた **Ziz2** 遺伝子発現と **Runx** 遺伝子との関わりについては T細胞依存的免疫応答で **Ziz2** 遺伝子発現上昇がみられることから、期待はされたところではあるが佐竹教授と共同での解析では現在までに明らかな相関をみることはできていない。第2にマウス骨髄由来樹状細胞を **LPS** で刺激すると一過的に **Ziz2** の発現が上昇することから **Toll Like Receptor 4** のシグナル伝達下で機能することが推察され、**C57BL/6** 野生型 MEF を用いた **LPS** 刺激による **Zizimin** ファミリー遺伝子の誘導をみたところ、免疫系組織で発現が見られない **Ziz1** を除いて、**Ziz2**、**Ziz3** では顕著な発現誘導が確認できた。第3に高齢者に重篤な影響を及ぼすことが知られているインフルエンザウイルスや細菌感染に対する **Ziz** ファミリーの役割を **Ziz2** あるいは **Ziz3 KO** マウスを

用いた感染時における生存率や症状の重篤化を検討しはじめている。残念ながらこの *in vivo* の実験系の確立にはまだ時間がかかる状況ではあるが、これまで行ってきた予備実験は生存率や症状の重篤化には有意な差がみられてはいない。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

個体老化との関わりを解析する目的でも作出した *Ziz2 KO* マウス、ならびに *Ziz2* 同様に免疫組織、免疫担当細胞において特異的な発現パターンを示す *Ziz3KO* マウスを用いた *in vivo* の機能解析は、これまでに明らかになっていない *Zizimin* ファミリー分子の蛋白質局在のリアルタイム解析や、結合分子の解明を目指す *Ziz2,3* が関与する複合体のプロテオミクス解析に発展する可能性も高く評価される成果につながったと考えている。また、*Ziz2* 遺伝子が免疫老化関連遺伝子として同定されていることで、高齢者の抱える感染症による重篤度の改善を目的とした免疫機能の賦活化を目指す研究として我が国を代表する老化研究の拠点となる当該施設(東北大学加齢医学研究所と国立長寿医療研究センター研究所)が共同研究を行ったことで、今後にもつながる免疫老化研究の基盤的な成果が期待できる。

#### [4] 成果資料

(1) Maruyama M, Matsuda T, Hayakawa T, Takaoka A

Putative physiological function of a novel GEF, *Zizimin* family in immunosenescence.

Gordon Research Conferences Aging, Biology of, August 13 and 15, 2013, Lucca, Pisa, Italy

(2) Matsuda T, Oguri S, Hayakawa T, Maruyama M The Functional Analysis of *Zizimin* Family Genes in Immune Responses and Immunological Aging. The 15th International Congress of Immunology (Satellite Meeting 3. Aging and the Immune System). August 20 and 21, 2013. Milan, Italy.