

荒瀬 尚

大阪大学微生物病研究所・教授

ペア型レセプターを標的とした免疫・感染制御技術の開発

§1. 研究実施体制

(1)「荒瀬」グループ

- ① 研究代表者: 荒瀬 尚 (大阪大学微生物病研究所、教授)
- ② 研究項目
 - ・ ペア型レセプターと病原体との相互作用の機能解析
 - ・ ペア型レセプターと宿主分子との相互作用の機能解析

(2)「前仲」グループ

- ① 主たる共同研究者: 前仲 勝実 (北海道大学大学院薬学研究院、教授)
- ② 研究項目
 - ・ ペア型受容体—リガンド複合体の解析
 - ・ PILR/Siglec—リガンド複合体の結晶解析と改良

§2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

NK 細胞やマクロファージ等の特異的抗原認識機構を持たないリンパ球は、自己の細胞を識別するために、MHC クラス I 抗原等の自己抗原を認識する抑制化レセプターを用いて自己応答性を抑制する。ところが、持続感染する病原体には、抑制化ペア型レセプターのリガンドを獲得することにより、免疫システムから逃避するものがある。一方、活性化ペア型レセプターは、抑制化レセプターに対する病原体リガンドを認識することにより、宿主の感染抵抗性に関与する。これらのことから、ペア型レセプターは、自己に対する応答性を制御すると同時に、病原体とともに進化してきた生体防御分子ではないかと考えられる。実際、ウイルスの中には MHC 類似分子を含めて様々な宿主類似分子が存在し、それらはペア型レセプターである NK 細胞レセプター等に認識される。また、NK 細胞レセプターばかりでなく免疫細胞に広く発現するペア型レセプターも存在し、免疫応

答の制御に関与していると考えられる。

我々は、いままでに、ほとんど全ての哺乳動物に保存されており、ある種の樹状細胞やマクロファージ等に発現しているペア型レセプターとして PILR を明らかにしてきた。さらに、PILR の宿主リガンドを検索することにより、PILR が CD99 を認識し、免疫制御に関与していることを明らかにした。抑制化レセプターは免疫応答の制御に重要な機能を担っている一方、病原体の中には抑制化レセプターを利用して病原体に対する免疫応答を抑制するものが知られている。PILR は哺乳動物に幅広く存在するペア型抑制化レセプターであり、抑制化 PILR が病原体の免疫逃避に利用されている可能性が考えられる。実際、今までの研究により PILR は単純ヘルペスウイルスのエンベロープ分子 Glycoprotein B (gB) と特異的に会合し、免疫応答を抑制するのに利用されるばかりでなく、PILR と gB の相互作用が単純ヘルペスウイルスの細胞内侵入時の膜融合に関与することが明らかになった。また、昨年度までの研究では、PILR の新たな宿主リガンドとして新規分子である PANP を同定した。しかし、ペア型レセプター PILR が宿主免疫応答においてどのような機能を担っているかは明らかでなかった。そこで、本年度では、PILR を欠損したマウスを作成し、免疫応答における PILR の機能解析を実施した。その結果、PILR 欠損マウスにおいて免疫細胞の分化は正常であったが、細菌のエンドトキシンに対する応答を解析すると、PILR 欠損マウスはエンドトキシンに対して感受性で、エンドトキシンショックで容易に死亡することが判明した。さらに、PILR 欠損マウスにおいては、ケモカイン刺激に対する好中球のインテグリンの活性化が亢進し、その結果好中球の炎症局所への浸潤が顕著に亢進することを明らかにした((3) Wang et al. Nat. Immunol. 2013)。

一方、PILR α とヘルペスウイルス HSV-1 表面抗原 Glycoprotein B (gB) 由来のシアル酸付加 O 型糖鎖ペプチドとの複合体の立体構造解析を基に、ウイルス侵入阻害化合物の設計と同時に *in silico* スクリーニングと化合物スクリーニングを並行して進めている。分子量が小さくなるように設計した阻害化合物について、Surface Plasmon Resonance (SPR) を利用した *in vitro* 結合実験や HSV-1 感染実験の阻害効果を検証した。その結果、この化合物による活性をある程度の低下が見られたものの、PILR α を介する HSV-1 の感染を阻害できることを確かめることができた。また、熱力学的に解析を進めたところ、揺らぎの大きな認識ではない事が示唆され PILR 阻害剤の改良において重要な知見が得られた。続いて、北海道大学薬学研究院創薬科学研究教育センターを利用して、*in silico* スクリーニングおよび化合物ライブラリースクリーニングを進めており、東京大学の保有する 20 万化合物ライブラリーから結合が高いと予想された 500 化合物に絞り込み、実際の結合解析を行っている。他に、免疫系細胞表面受容体について、自己免疫疾患に関わる分子基盤について報告すると同時に、これに作用するバイオ医薬品の開発につながる基礎データを得ることができた。

また、MHC を認識するペア型レセプターの解析から、MHC クラス II 分子がペプチドばかりでなく、細胞内のミスフォールド蛋白質を提示することが判明した。さらに、MHC クラス II 分子に提示されたミスフォールド蛋白質は抗原特異的な B 細胞を活性化することが判明した((1) Jiang et al. Int. Immunol.)。このように、いままで T 細胞にのみ抗原を提示すると考えられてきた MHC クラ

ス II が B 細胞の応答にも関わっていることが判明した。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Eiji Kurimoto, Kimiko Kuroki, Yoshiki Yamaguchi, Maho Yagi-Utsumi, Takahiro Igaki, Takeshi Iguchi, Katsumi Maenaka, and Koichi Kato. Structural and functional mosaic nature of MHC class I molecules in their peptide-free form. **Mol. Immunol.** (in press)
2. Kuroki K, Hirose K, Okabe Y, Fukunaga Y, Takahashi A, Shiroishi M, Kajikawa M, Tabata S, Nakamura S, Takai T, Koyanagi S, Ohdo S, Maenaka K. The long-term immunosuppressive effects of disulfide-linked HLA-G dimer in mice with collagen-induced arthritis. **Hum. Immunol.** 74:433-438, 2013 (DOI: 10.1016/j.humimm.2012.11.060.)
3. Jiang, Y., Arase, N., Kohyama, M., Hirayasu, K., Suenaga, T., Jin, H., Matsumoto, M., Shida, K., Lanier, L., Saito, T. and Arase, H. “Transport of misfolded endoplasmic reticulum proteins to the cell surface by MHC class II molecules.” **Int. Immunol.** 25:235-246, 2013 (DOI: 10.1093/intimm/dxs155)
4. Wang, J., Shiratori, I., Uehori, J., Ikawa, M., Arase, H. “Neutrophil infiltration during inflammation is regulated by PILRa via modulation of integrin activation.” **Nat. Immunol.** 14:34-40, 2013 (DOI: 10.1038/ni.2456)
5. Ihara, S., Kida, H., Arase, H., Tripathi, L.P., Chen, Y.A., Kimura, T., Yoshida, M., Kashiwa, Y., Hirata, H., Fukamizu, R., Inoue, R., Hasegawa, K., Goya, S., Takahashi, R., Minami, T., Tsujino, K., Suzuki, M., Kohmo, S., Inoue, K., Nagatomo, I., Takeda, Y., Kijima, T., Mizuguchi, K., Tachibana, I., Kumanogoh, A. “Inhibitory Roles of Signal Transducer and Activator of Transcription 3 in Antitumor Immunity during Carcinogen-Induced Lung Tumorigenesis.” **Cancer Res.** 72:2990-2999, 2012 (DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-4062)
6. Giles J, Shaw J, Piper C, Wong-Baeza I, McHugh K, Ridley A, Li D, Lenart I, Antoniou AN, Digleria K, Kuroki K, Maenaka K, Bowness P, Kollnberger S. HLA-B27 Homodimers and Free H Chains Are Stronger Ligands for Leukocyte Ig-like Receptor B2 than Classical HLA Class I. **J. Immunol.** 188: 6184-6193, 2012 (DOI: 10.4049/jimmunol.1102711.)
7. Payeli SK, Kollnberger S, Osiris Marroquin B, Thiel M, McHugh K, Giles J, Shaw J, Kleber S, Ridley A, Wong-Baeza I, Keidel S, Kuroki K, Maenaka K, Wadle A, Renner

- C, Bowness P. Inhibiting HLA-B27 homodimer-driven immune cell inflammation in spondyloarthritis. **Arthritis Rheum.** 64:3139-3149, 2012 (DOI: 10.1002/art.34538.)
8. Yoshida S, Mohamed RH, Kajikawa M, Koizumi J, Tanaka M, Fugo K, Otsuka N, Maenaka K, Yagita H, Chiba H, Kasahara M. Involvement of an NKG2D Ligand H60c in Epidermal Dendritic T Cell-Mediated Wound Repair. **J. Immunol.** 188:3972-3979, 2012 (DOI: 10.4049/jimmunol.1102886.)