

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、新たに単純ヘルペスウイルスの gB レセプターとして non-muscle myosin heavy chain IIA の同定に成功した他、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。本年度はさらに、ペア型レセプターと宿主リガンドおよび病原体リガンドとの相互作用の解析をすすめ、新たな病原体リガンドおよび宿主リガンドの制御機構を明らかにした。また、MHC を認識するペア型レセプターの解析から、全く新たな MHC の機能を解明し、自己抗体の産生や自己免疫疾患の発症に関与していることを明らかにした(投稿中)。

昨年度検証に成功したペプチド領域を短くした化合物について、PILR α との複合体の結晶化に成功し、結合様式が明らかとなった。我々が予測していたペプチドの結合様式とは少しずれた形で結合していた。単純に不要と思われたペプチド領域を削る事が予想外の結合様式への影響を産み、それが結合の低下に結びついたと考えられる。現在、結合に寄る熱力学的パラメータ(エントロピー、エンタルピーなど)を決定する事で、より精度の高いリガンド認識の理解と、それに基づく新たな低分子化合物への合理設計と最適化を進めようとしている。

次に、ヘルペスウイルス gB に結合する MAG/Siglec4 については、ヒト培養細胞系で封入体としてしか大量発現せず、コンストラクトの見直し等を進めている段階である。他方、他の免疫系受容体の分子認識機構についても解析を進め(文献3および6、招待講演)、結合様式やその性格付けを行い、物理化学的性質を明らかにする事で、PILR α との比較を行い、その一般的な特徴を見出す事を進めている。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiryo J, Maenaka K & Yanagi Y. “Crystallization Strategy for the Glycoprotein-Receptor Complex Between Measles Virus Hemagglutinin and Its Cellular Receptor SLAM.” *Protein Pept. Lett.* 2012 (in press)
2. Hirayasu, K., Ohashi, J., Kashiwase, K., Hananantachai, H., Naka, I., Ogawa, A., Takanashi, M., Satake, M., Nakajima, K., Parham, P., Arase, H., Tokunaga, K., Patarapotikul, J., Yabe, T. “Significant Association of KIR2DL3-HLA-C1 Combination with Cerebral Malaria and Implications for Co-evolution of KIR and HLA. *PLoS Pathog.*” 2012 (in press).
3. 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.* 2012 (in press).
4. Yamaji, O., Nagaishi, T., Totsuka, T., Onizawa, M., Suzuki, M., Tsuge, N., Hasegawa, A., Okamoto, R., Tsuchiya, K., Nakamura, T., Arase, H., Kanai, T., Watanabe, M. 2012. “The Development of Colitogenic CD4+ T Cells Is Regulated by IL-7 in Collaboration with NK Cell Function in a Murine Model of Colitis.” *J. Immunol.* Vol.188, No.6, pp.2524-2536, 2012 (DOI: 10.4049/jimmunol.1100371)
5. Arai R, Tsuda M, Watanabe T, Ose T, Obuse C, Maenaka K, Minami A, Ohba Y. “Simultaneous inhibition of Src and Aurora kinases by SU6656 induces therapeutic synergy in human synovial sarcoma growth, invasion and angiogenesis in vivo.” *Eur J Cancer.* 2012 (in press).
6. Kojima R, Kajikawa M, Shiroishi M, Kuroki K, Maenaka K. “Molecular Basis for Herpesvirus Entry Mediator Recognition by the Human Immune Inhibitory Receptor CD160 and Its Relationship to the Cosignaling Molecules BTLA and LIGHT.” *J. Mol. Biol.* Vol.413, No. 4, pp.762-772, 2011 (DOI: 10.1016/j.jmb.2011.09.018)
7. Matsushita H, Endo S, Kobayashi E, Sakamoto Y, Kobayashi K, Kitaguchi K, Kuroki K, Söderhäll A, Maenaka K, Nakamura A, Strittmatter SM, Takai T. “Differential but competitive binding of Nogo protein and class I major histocompatibility complex (MHCI) to the PIR-B ectodomain provides an inhibition of cells.” *J. Biol. Chem.* Vol.286, No.29, pp.25739-25747. 2011(DOI:

- 10.1074/jbc.M110.157859)
8. Kamishikiryo J, Fukuhara H, Okabe Y, Kuroki K, Maenaka K. “Molecular basis for LLT1 recognition by human CD161 (NKR1A/KLRB1).” *J. Biol. Chem.* Vol.286, No.27, pp.23823-23830. 2011 (DOI: 10.1074/jbc.M110.214254)
 9. Sakamoto S, Pongkitwitoon B, Sasaki-Tabata K, Putalun W, Maenaka K, Tanaka H, Morimoto S. “A fluorescent single domain antibody against plumbagin expressed in silkworm larvae for fluorescence-linked immunosorbent assay (FLISA).” *Analyst.* Vol.136, No.10, pp.2056-2063. 2011 (DOI: 10.1039/C1AN15027H)
 10. Sakamoto S, Pongkitwitoon B, Nakamura S, Sasaki-Tabata K, Tanizaki Y, Maenaka K, Tanaka H, Morimoto S. “Construction, expression, and characterization of a single-chain variable fragment antibody against 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the hemolymph of silkworm larvae.” *Appl Biochem Biotechnol.* Vol.164, No.6, pp.715-728. 2011 (DOI: 10.1007/s12010-011-9168-4)