

HBZ により誘導される共抑制分子 TIGIT 発現の意義と治療戦略

安永純一朗

京都大学ウイルス・再生医科学研究所 ウィルス制御分野

【研究の背景】

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) は成人 T 細胞白血病 (ATL) と HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) などの炎症性疾患を惹起する。HTLV-1 のマイナス鎖にコードされる *HTLV-1 bZIP factor (HBZ)* は感染細胞、ATL 細胞で恒常に発現する唯一のウイルス遺伝子であり、感染細胞の維持に必須の分子であると考えられる (Ref1)。HBZ を CD4 陽性 T 細胞に特異的に発現する HBZ トランスジェニック (HBZ-Tg) マウスは皮膚炎等の慢性炎症と T リンパ腫を発症することから (Ref2)、HTLV-1 病原性にも重要な役割を果たしていることが示唆されている。申請者は HBZ が T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains (TIGIT)、C-C motif chemokine receptor 4 (CCR4)、programmed cell death 1 (PD1) など CD4 陽性 T 細胞の免疫形質を決定する数多くの分子を誘導することを見出し、ATL 細胞でも高発現していることを確認した。元来 TIGIT は活性化 T 細胞などで発現し、その増殖を抑制すると同時に樹状細胞上の CD155 を認識し IL-10 の産生を促進し免疫応答を抑制する。TIGIT 同様、HBZ により誘導される負のシグナル因子 PD1 も感染細胞に発現しており、HAM 患者の解析では Tax 特異的 CTL が TIGIT 抗体、PD1 抗体処理により活性化することを見出した。これらの所見は感染細胞上の TIGIT、PD-1 が宿主免疫からの回避に寄与していることを示唆した。さらに、HBZ は PD1 下流の細胞増殖抑制シグナルを阻害することも明らかになった。これらの所見から、HBZ は TIGIT、PD1 の発現を介して、DC や CTL 等の宿主免疫細胞の機能を抑制する一方で、感染細胞自身に対しては負のシグナルを阻害し、増殖と生存を有利にしていると考えられた。

【目的】

HBZ は感染細胞表面に抑制性分子である TIGIT、PD1 の発現を誘導することで、宿主免疫からの回避に寄与する一方で、細胞内シグナルに関して抑制的に作用し、細胞の増殖を促進している。本課題では細胞内シグナル抑制の分子機構解明を目的とした。また、TIGIT は HTLV-1 感染細胞に高発現する格好の分子標的であることから、TIGIT を標的とした新規免疫療法の開発を目的とした。

【方法】

1) HBZ による TIGIT、PD1 細胞内シグナル抑制の分子機構の解析

これまでの研究から、HBZ の存在下では PD1 下流の SHP-2 のリン酸化が阻害されていることを見出していた。SHP-2 のリン酸化に関わる宿主因子に関して、HBZ との結合、HBZ による転写制御、翻訳後修飾異常等について解析し、HBZ が直接標的としている分子の同定を試みた。さらに、HBZ による TIGIT 及び PD1 シグナルの抑制における役割を解析した。

2) HBZ による CCR4 発現誘導の分子機構と ATL 病態における意義に関する研究

研究の過程で TIGIT、PD-1 と同様にケモカインレセプター CCR4 が HBZ により発現誘導されることに着目した。CCR4 遺伝子転写活性化に関してリポーター アッセイを行い、CCR4 高発現の意義について、細胞増殖および遊走能を解析した。

3) TIGIT を標的とした HTLV-1 関連疾患の新規分子標的療法の開発 (TIGIT アンタゴニストの探索)

TIGIT-Fc (TIGIT 細胞外ドメインとヒト IgG Fc レセプターの融合タンパク質) とそのリガンド CD155 発現細胞の結合を検出する系を確立した。

【結 果】

1) HBZ による TIGIT、PD1 細胞内シグナル抑制の分子機構の解析

T 細胞に特異的に発現する thymocyte selection associated (THEMIS) は growth factor receptor bound protein 2 (Grb2) と結合し SHP-2 を TIGIT 及び PD1 の ITIM motif にリクルートし、TCR シグナルを抑制する。HBZ は THEMIS と結合することで、Grb2、SHP-2、ITIM motif の結合を抑制し、結果として SHP-2 の機能を阻害することを見出した。本知見は原著論文として現在国際誌に投稿中である。

2) HBZ による CCR4 発現誘導の分子機構と ATL 病態における意義に関する研究

HBZ は転写因子 GATA3 の発現誘導を介して CCR4 の転写を活性化することが判明した。HBZ-Tg マウスの CD4 陽性 T 細胞は CCR4 を強く発現すると同時に、細胞増殖マーカーである Ki67 が陽性であった。また CD103 も高発現しており、実際の ATL 症例における皮膚病変を用いて組織解析を行ったところ、ATL の皮膚浸潤の特徴であるポートリエ微小膿瘍に存在する ATL 細胞が CCR4 及び CD103 を高発現し、同時に Ki67 陽性であることが判明した。CD103 リガンドである E-カドヘリンは皮膚表皮細胞で高発現することが知られており、HBZ は CCR4 発現を誘導することで感染細胞及び ATL 細胞の皮膚浸潤を促進し、さらに CD103 を介したシグナルを受けることで増殖を亢進させる結果、ATL 特有の皮膚病変を形成すると考えられた。本結果は『Cancer Research』に発表した(Ref3)。

3) TIGIT を標的とした HTLV-1 関連疾患の新規分子標的療法の開発 (TIGIT アンタゴニストの探索)

CD155 を安定発現する CHO-K1 細胞を用いた細胞ベースの解析法を作成した。細胞を 96-well プレートに播種し 24 時間培養後、hTIGIT-hIgG(Fc) タンパク質及び HRP 標識抗ヒト IgG 抗体を反応させ、TMB 基質溶液を加え吸光度を測定することにより TIGIT-CD155 結合を検出した。今後 TIGIT-CD155 結合阻害剤のスクリーニングに応用する予定である。

【考 察】

ATL 細胞は CD4 陽性、CD25 陽性、CCR4 陽性、TIGIT 陽性であるが、本研究により HBZ がこれらの多くの表面抗原を誘導することが判明した。また CD25、TIGIT、CCR4 は制御性 T リンパ球(Treg) のマーカーでもあり、感染細胞に対する免疫応答を抑制する作用があることから生体内での感染細胞の生存に重要な役割を果たすと考えられる。一方で、感染細胞内部のシグナルは阻害され、むしろ細胞増殖を促進することが示された。HTLV-1 の巧妙な生き残り戦略と考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本邦には約 80 万人の HTLV-1 キャリアが存在し、今後高齢化に伴う ATL 患者の増加は大きな問題となることが予想される。本研究は生体内における HTLV-1 感染細胞の維持機構解明に繋がり、さらに、その機序に基づく新規治療法、発症予防法開発に貢献できる。

【参考・引用文献】

1. Ma G, Yasunaga JI, Matsuoka M. Multifaceted functions and roles of HBZ in HTLV-1 pathogenesis. *Retrovirology*, 13:16, 2016.
2. Satou Y, Yasunaga JI, Zhao T, Yoshida M, Miyazato P, Takai K, Shimizu K, Ohshima K, Green PL, Ohkura N, Yamaguchi T, Ono M, Sakaguchi S, Matsuoka M. HTLV-1 bZIP Factor Induces T-Cell Lymphoma and Systemic Inflammation In Vivo. *PLoS Pathog*, 7; e1001274, 2011.
3. Sugata K, Yasunaga JI, Kinoshita H, Mitobe Y, Furuta R, Mahgoub M, Onishi C, Nakashima K, Ohshima K, Matsuoka M. HTLV-1 Viral Factor HBZ Induces CCR4 to Promote T-cell Migration and Proliferation. *Cancer Res*, 76:5068-5079, 2016.