

CD26の自己免疫病、免疫異常症の先端治療法としての分子標的療法の基礎的研究

Basic Approach for the Development of Molecular Target Therapy for Autoimmune Diseases and Immune-Mediated Disorders.

森本 幾夫 (Morimoto Chikao)

東京大学・医科学研究所・教授



研究の概要

CD26は110kDaの膜蛋白でDPPIV酵素を含むヒトT細胞共刺激分子である。本研究はCD26共刺激リガンドの同定と共にその詳しいシグナル伝達機構及び可溶性CD26のCD86の発現上昇機構を明らかにし、これら分子の自己免疫疾患における臨床的意義の解明及び臨床応用を目指す。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床学・膠原病・アレルギー・感染症内科学

キーワード：膠原病、リウマチ学、臨床免疫学

1. 研究開始当初の背景・動機

CD26分子は110kDaの膜蛋白でありDPPIV酵素を含むヒトT細胞共刺激分子である。現在まで、CD26共刺激のリガンドは明らかにされていない。組み換え可溶性CD26 (sCD26)は*in vitro*で抗原特異的メモリーT細胞反応を増強し、このメカニズムとしてマクロファージ(Mφ)上のCD86が発現誘導されることを明らかにした。

2. 研究の目的

CD26の機能と構造との関係を解明し、自己免疫病を中心として免疫病の先端治療を目的とした分子標的療法の確立を目指した基礎研究を行う。平成17年～21年で次の3点を明らかにする。

- (1) 可溶性CD26によるCD86発現亢進の分子機構とその活性ドメインの研究
- (2) CD26共刺激・リガンドの同定とシグナル伝達機構及び機能発現の解析
- (3) CD26及びその関連分子の臨床的意義及び臨床応用の研究

3. 研究の方法

CD26のラフトへの動員機構や、CD26とcaveolin-1やその変異分子などの細胞内動態や相互作用を分子蛍光でdynamicに観察するために蛍光顕微鏡画像解析システム及び共焦点レーザー顕微鏡で観察する。さらにsite directed mutagenesisを用いてcaveolin, CD26の変異体を作製しcaveolin及びCD26の結合ドメインを決定する。

4. これまでの成果

<目的(1)について>

sCD26を用いてCD26結合分子の探索を行った。MφとTHP-1細胞株が特異的に結合し、MALDI-TOF/MSで解析するとcaveolin-1が新たなCD26結合タンパクであることが示唆された。caveolin-1の82-101アミノ酸残基はCD26の201-211アミノ酸残基及びDPPIVの活性中心630残基のセリンを介して結合し、Mφ上のcaveolinは抗原処理12-24時間後に細胞表面上に露出することを明らかにした。またCD26とcaveolin-1との相互作用でcaveolin-1はリン酸化されNK-κBが活性化され、Mφ上のCD86が発現増強した。

<目的(2)について>

caveolin-1が追い求めていたCD26の共刺激リガンドであるか検討した。caveolin-1-Fc融合蛋白を用いた実験で、CD26が共沈し、caveolin-1-Fc融合蛋白はCD26 Jurkat トランスフェクタント細胞と結合した。この結合には、caveolin-1のscaffolding domainと呼ばれる82-101番目のアミノ酸残基が必要であった。またCD3抗体+caveolin-1-Fc融合蛋白による固相化刺激により、T細胞のIL-2産生が認められ、この刺激はCD26抗体によってブロックされたが、CD28抗体ではブロックされなかった。

さらにCD26-CD10キメラ分子を構築してトランスフェクトしたJurkat T細胞株を用いて、CD3抗体とcaveolin-1刺激ではCD26 wild type JurkatはIL-2産生を行ったが、CD26-CD10 Jurkatでは産生されず、

しかし CD3 plus PMA では IL-2 産生が生じることから、細胞質ドメインが CD26 の共刺激に必要なことが明らかになった。また CD26 の細胞質ドメインには 120kDa の CARMA-1 分子が結合することを同定した。

<目的(3)について>

ヒト PBL を SCID マウスに移植することでヒト T 細胞がエフェクターとなる異種 GVHD マウスを確立した。この系を用いてヒト化 CD26 抗体を投与したところ、異種 GVHD マウスの脱毛、下痢などの臨床症状や病理学的変化の顕著な抑制効果が認められ、長期生存をもたらした。CD26 陽性 T 細胞がエフェクター T 細胞としてこの系で働き、CD26 抗体投与が治療法として有効であることが明らかになった。

関節リウマチの炎症の場である滑膜での CD26 及び caveolin-1 の発現を免疫組織学的に解析した。この結果 CD26 陽性 T 細胞はリウマチ滑膜の sublining 部分に浸潤し、リウマチの滑膜の血管増生部分や滑膜細胞部分に caveolin-1 は高発現していた。

5. これまでの進捗状況と今後の計画

<目的(1)について>

可溶性 CD26 は抗原と抗原提示細胞に取込まれ、その際、caveolin-1 が表出し、CD26 の 201-211 アミノ酸と DPPIV の catalytic site 630 アミノ酸が caveolin-1 の scaffold ドメインへの結合に関与する。Tollip と IRAK-1 は caveolin-1 と相互作用する蛋白で、CD26 で刺激後 caveolin-1 から Tollip, IRAK-1 が分離し、その後 IRAK-1 がリン酸化され、NK- κ B の活性化を通して CD86 が upregulation される。今後さらに詳しい分子メカニズム及び活性化ドメインの臨床応用を解析。

<目的(2)について>

caveolin-1 融合蛋白を作製し、caveolin-1 が CD26 の共刺激リガンドであることを同定。caveolin-1 の N 末端ドメインが CD26 由来共刺激を介して T 細胞増殖、サイトカイン産生を誘導すること、及び CARMA1 は CD26 の細胞質ドメインに結合し、CD26 と CARMA-1 との相互作用は CD26 共刺激に重要な役割を果たしていることを解明した。今後 caveolin-1 による T 細胞における CD26 の詳しいシグナル伝達機構及びマウスとヒト CD26 の違いを解析。

<目的(3)について>

ヒト化 CD26 抗体投与でヒト免疫病モデルの異種 GVHD マウスの臨床症状の改善をもたらしたが、ヒト PBL を投与して生じさせた異種 GVHD マウスに CD26 の共刺激リガントの caveolin-1 融合蛋白を投与することで異種 GVHD の臨床症状の改善や長期生存をもたらすことが出来るか検討する。

CD26 陽性 T 細胞は関節リウマチ滑膜の sublining region に多く浸潤し、滑膜での血管や滑膜細胞に caveolin-1 が高発現していることを明らかにした。今後も CD26 及びその関連分子の臨床的意義を解析し、さらに新たな治療法開発をめざして、CD26 分子及びその関連分子の免疫病への臨床応用を研究。

6. これまでの発表論文等

(研究代表者は太字、研究分担者には下線) 発表論文

1. Inamoto T, Yamada T, Ohnuma K, Kina S, Takahashi N, Yamochi T, Inamoto S, Katsuoka Y, Hosono O, Tanaka H, Dang NH, **Morimoto C**. Humanized Anti-CD26 monoclonal antibody as a treatment for malignant mesothelioma tumors. Clin Cancer Res. 2007; 13: 4191-200.
2. Ohnuma K, Uchiyama M, Yamochi T, Nishibashi K, Hosono O, Takahashi N, Kina S, Tanaka H, Lin X, Dang NH, **Morimoto C**. Caveolin-1 triggers T-cell activation via CD26 in association with CARMA1. J Biol Chem. 2007; 282: 10117-31.
3. Inamoto T, Yamochi T, Ohnuma K, Iwata S, Kina S, Inamoto S, Tachibana M, Katsuoka Y, Dang NH, **Morimoto C**. Anti-CD26 monoclonal antibody-mediated G1-S arrest of human renal clear cell carcinoma Caki-2 is associated with retinoblastoma substrate dephosphorylation, cyclin-dependent kinase 2 reduction, p27(kip1) enhancement, and disruption of binding to the extracellular matrix. Clin Cancer Res. 2006; 12: 3470-7.
4. Ohnuma K, Yamochi T, Uchiyama M, Nishibashi K, Iwata S, Hosono O, Kawasaki H, Tanaka H, Dang NH, **Morimoto C**. CD26 mediates dissociation of Tollip and IRAK-1 from caveolin-1 and induces upregulation of CD86 on antigen-presenting cells. Mol Cell Biol. 2005; 25: 7743-57.
5. Sato T, Yamochi T, Yamochi T, Aytac U, Ohnuma K, McKee KS, **Morimoto C**, Dang NH. CD26 regulates p38 mitogen-activated protein kinase-dependent phosphorylation of integrin beta1, adhesion to extracellular matrix, and tumorigenicity of T-anaplastic large cell lymphoma Karpas 299. Cancer Res. 2005; 65: 6950-6.

受賞

第 51 回日本リウマチ学会賞 2005 年度 “CD26 up-regulates expression of CD86 on antigen presenting cells by means of caveolin-1” の論文による。