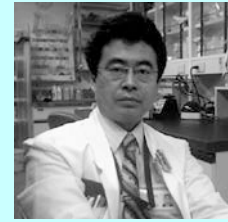


**ヒトT細胞共刺激分子CD26-カベオリン系を標的とした  
移植免疫寛容誘導の基盤研究**

Scientific research of transplantation tolerance  
targeting CD26/caveolin-1 costimulation pathway

大沼 圭 (OHNUMA KEI)

東京大学・医科学研究所・助教



研究の概要

T細胞共刺激経路の新たな分子基盤 CD26・caveolin-1 系を標的とした新規免疫抑制治療の開発を行なうことを目標としている。CD28/CD80/CD86 とは別経路の T細胞共刺激分子の活性化経路の CD26 の機能及び構造解析をさらに進め、炎症のエフェクター機能発現に重要な CD26 陽性 T細胞の特異的制御及びメモリーT細胞の抗原特異免疫反応の制御を可能にする。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科

キーワード：CD26、caveolin-1、T細胞共刺激、GVHD

1. 研究開始当初の背景

CD26 分子は110kDaの膜糖蛋白でヒトメモリーT細胞に選択的に発現し、抗原提示細胞(APC)上の caveolin-1(cav-1)を介したメモリーT細胞の増殖や炎症性サイトカインの産生に深く関わっているT細胞分子である。造血幹細胞移植は難治性の白血病や再生不良性貧血などの血液疾患や代謝異常症を治癒に至らしめる治療法として確立しているが、同種免疫反応のGVHD(graft-versus-host disease, 移植片対宿主病)は依然重要な合併症であり、一方で、GVHD 予防・治療薬の免疫抑制剤による日和見感染症は極めて重篤である。これら疾患の治療成績の向上は移植後免疫異常症の抑制とともに易感染性の排除であるが、いまだ最良のコントロールは得られていない。また、HLA 不一致臍帯血移植は移植ドナーの拡大をもたらしたが、GVHD はやはり重大な合併症となっている。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、新たなT細胞共刺激系 CD26-カベオリン系という新規分子基盤に基づき、免疫異常症、特に、GVHD などの先端治療開発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ことを目標とした。

3. 研究の方法

ヒトT細胞がエフェクターとして働き異種GVHD(x-GVHD)を発症するマウス

(hu-PBL-SCID)を用いて、GVHDにおけるヒトT細胞 CD26 分子の機能解析と、抗原特異的免疫における cav-1-Ig 融合タンパクによる CD26-カベオリン系のブロックによる免疫寛容誘導の可能性を検討する。すなわち、  
[1]CD26と caveolin-1の相互作用をトリガーとするT細胞の活性化機構の解明。  
[2]臍帯血T細胞のアロ抗原応答性における CD26 と caveolin-1 の分子生物学的解析。  
[3]CD26と caveolin-1の相互作用を標的とした分子特異的T細胞抑制療法の開発、  
特に、急性GVHD(aGVHD)の予防と治療に対する新規薬剤の開発。  
[4]移植免疫寛容誘導における CD26 と caveolin-1 の分子生物学的解析。

4. これまでの成果

(1) CD26・caveolin-1 共刺激系を介した新たなメカニズムとして、Th17 への分化と GVHD 病態形成、抑制性サイトカイン IL-10 産生経路の発見は、GVHD 等の免疫異常症の新規治療標的として多いに期待できる。  
(2) 臍帯血を用いた肺 GVHD マウスモデルの開発により、慢性 GVHD の致命的かつ難治性臓器合併症である肺 GVHD の病態解明と治療法の開発が飛躍的に進むものと期待できる。  
(3) 本研究の結果から、CD26 を介して活性化されたヒト CD8 陽性 T細胞は、細胞傷害における主要なエフェクター分子である Granzyme B と FasL の両分子の発現が顕著に亢進され、非常に強い細胞傷害活性を示すこ

とが明らかになった。このことから、CD26 共刺激による健全な CD8 陽性 T 細胞の活性化は、ウイルス感染や腫瘍からの生体防御において非常に重要な役割を担っていると考えられる。一方、自己免疫疾患や GVHD などのように何らかの要因で攻撃する矛先が正常な自己の細胞に向いてしまう場合では、CD26 共刺激によって強い細胞傷害活性を獲得した CD8 陽性 T 細胞は、重篤な組織破壊と炎症反応を引き起こす原因となることが示唆される。当研究室で作製に成功したヒト化抗 CD26 抗体は、CD26 共刺激シグナルを阻害することで、CD8 陽性 T 細胞の炎症性因子の発現低下と細胞傷害活性の抑制に作用することが予想される。本研究によって明らかになったヒト CD8 陽性 T 細胞における CD26 分子の役割、生理的意義についての新たな知見は、ウイルス感染や腫瘍に対する CD8 陽性 T 細胞依存的な生体防御システムの理解や、CD8 陽性 T 細胞が発症や回復に重要な役割を持つと考えられる自己免疫疾患や GVHD などの免疫異常症の病態解明と過度の免疫抑制を回避した治療法の開発につながるものと期待できる。

#### 5. 今後の計画

これまで得られた結果は、CD26 分子やその下流シグナルを標的としたあらたな免疫抑制薬の開発につながる基礎的な発見であると思われるため、今後、CD26 共刺激経路によって発現する IL-10 産生サブセットの同定とシグナル伝達分子の解明を進める。これらの解析により、T 細胞活性化或いは抑制経路がより詳細に判明し、GVHD の病態形成や免疫抑制治療法の開発につながるものと期待できる。さらに、有名な共刺激分子 CD28 経路とは独立して、CD26 刺激によって有意に増加、或いは、有意に低下する遺伝子が約 30 個認められた。なかでも抑制性サイトカインである IL-10 の産生経路が、CD28 刺激に比して CD26 刺激によって有意に活性化されていることが示された。そこで、CD26 刺激による IL-10 産生細胞を単離し、サブセット解析を行なう。今後、表面マーカー、発現遺伝子解析を行なう。本研究により、共刺激における CD28 系と CD26 系の異同が明らかにでき、免疫異常症のターゲットとしていずれのほうの有効性が高い可能性を持つかも探ることが可能となる。

臍帯血移植後の GVHD の病態解明と新たな分子基盤による治療法の開発を目的として、ヒト臍帯血がマウス体内でエフェクター細胞として作用し、免疫的に臓器障害を発症するマウスモデルの構築を行なったが、非感染性免疫性肺像炎が認められた。同時に、その他の GVHD 標的臓器である肝臓、消化管、皮膚では極めて軽度のリンパ球浸潤のみであった。臨床で行われている同種臍帯血移植においては皮膚・肝・消化管の GVHD 症状

の発症は軽度でコントロール可能なものが多いが、慢性期の肺 GVHD が比較的多く、治療成績の向上のためには、肺 GVHD のコントロールが課題であるが、本マウスモデルを用いることにより、臍帯血移植後の肺 GVHD の病態解明と治療法の開発に大きく寄与できる。特に、CD26 刺激による IL-17 の活性化を標的とした肺 GVHD の病態解明と cav-Ig(CD26 のリガンドである Caveolin-1 とヒト IgG1 Fc 領域との融合タンパク)を用いた CD26 刺激抑制治療法による免疫寛容誘導療法の開発に繋げることが可能である。

huPBL-NOG マウスを用いて、ヒト化抗 CD26 抗体(YS110)を投与することで、ヒト T 細胞がマウス体内に生着していながら著明な生存期間の延長と体重減少の軽減が認められた。また、CTLA4-Ig(abatacept)との比較検討を行ったところ、抗 CD26 抗体投与群のほうが生着抑制を来すことなく異種 GVHD を抑制することが示された。そこで、今後は抗 CD26 抗体がマウス体内でのヒト T 細胞の活性化(エフェクター分子の遺伝子発現など)に与える影響をより詳細に解明していく予定である。さらに、cav-Igについても、GVHD の治療薬としての有用性を CD26 抗体や CTLA4-Ig と比較検証する。これらの研究により、GVHD やその他の自己免疫疾患などの難治性ヒト免疫系疾患において CD26 が治療の分子標的になる可能性が示され、CD26 に基づくそれらの免疫異常症の病態解明と新規治療法開発を目指したトランスレーショナルリサーチに結びつけることができる。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- Ohnuma K, *et al.* Dipeptidyl peptidase in autoimmune pathophysiology. *Advances in Clinical Chemistry*. 2011;53:51-84.
- Takasawa W, Ohnuma K, *et al.* Inhibition of dipeptidyl peptidase 4 regulates microvascular endothelial growth induced by inflammatory cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Oct 8;401(1):7-12.
- Ohnuma K, *et al.* Blockade of CD26-mediated T cell costimulation with soluble caveolin-1-Ig fusion protein induces anergy in CD4+T cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;386(2):327-332.

ホームページ等

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cimmuno/index.html>