

研究題目 PD-1 がアレルギー性疾患の発症と病態に与える影響の解明

研究組織

研究代表者：杉浦 大祐（東京大学定量生命科学研究所）

共同研究者：竹本 龍也（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

細胞性免疫応答において司令塔と実行役の両方の役割を担う T 細胞の活性化は、細胞表面に発現する T 細胞受容体による刺激に加えて、様々な興奮性もしくは抑制性の補助受容体を介した刺激によって厳密に制御されている。申請者らは最近、CD28 および CTLA-4 のリガンドとして知られる CD80 が、抗原提示細胞上で PD-1 のリガンドである PD-L1 と隣り合わせに結合（シス結合）すること、CD80 が PD-L1 にシス結合すると PD-1 が PD-L1 に結合できなくなること、その結果 PD-1 による抑制が回避され、T 細胞が適切に活性化されることを見出した (Sugiura et al., Science, 2019;364(6440): 558-566)。生体内でのシス PD-L1/CD80 結合の重要性を評価するため、CD80 または PD-L1 に変異を導入してシス結合がおこらない遺伝子改変ノックインマウスを C57BL/6N 背景で作出したところ、免疫した抗原に対する T 細胞応答の減弱、抗腫瘍免疫応答の著しい低下、実験的自己免疫性脳脊髄炎の症状の軽減が認められた。以上から、T 細胞が抗原提示細胞に活性化される段階においては、CD80 が興奮性補助受容体 CD28 を活性化する一方で、PD-L1 とシス結合することにより PD-1 による抑制シグナルを制限し、強く免疫応答を誘導することができるという巧妙なメカニズムが解明された。

これまでの報告および我々の解析では、PD-1 欠損あるいは PD-1 阻害抗体の投与によるアレルギー応答の増強は、極めて限定的であったが、上述の研究結果から、PD-1 の機能がシス PD-L1/CD80 結合により制限されているため、アレルギー応答の誘導に PD-1 はそもそもほとんど関与していない可能性が考えられた。そこで本

研究では、シス PD-L1/CD80 結合がアレルギー性疾患の発症と病態に与える影響を明らかにすることを目的とした。

[1-2] 研究の方法・経過

シス PD-L1/CD80 結合がおこらない遺伝子改変ノックインマウスを、アレルギー性疾患に感受性の高い遺伝子背景のマウスで作出する。具体的には CD80 の 107 番目のロイシンをグルタミン酸に置換した CD80 L107E 変異を CRISPR/Cas9 システムを利用して導入する。マウス受精卵に Cas9 タンパク質とガイド RNA、および変異を導入するための鋳型となるオリゴ DNA を混合してエレクトロポレーションによって導入する。受精卵を仮親マウスに移植して得られた仔マウスの遺伝子を解析し、変異が導入された個体をスクリーニングする。変異が高頻度に導入されたマウスを交配してホモ変異マウスを得る予定である。現在、CD80 L107E 変異をもつヘテロ変異マウスが生まれてきているので、交配を繰り返しホモ変異マウスを作出し、解析を行う予定である。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

C57BL/6N 背景以外の遺伝子背景において、CD80 L107E 変異をもつマウスを作出することに成功した。これにより、汎用系統である C57BL/6N 系統以外でも、CRISPR/Cas9 システムを利用して CD80 L107E 変異をもつマウスの作出が可能であることがわかった。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発

展性

PD-1 およびシス PD-L1/CD80 結合がアレルギー性疾患の発症と病態に与える影響を明らかにすることで、新たな疾患制御メカニズムの解明や、治療法の開発が期待できる。

様々なマウス系統において効率的にゲノム編集マウスを作出することが可能となれば、モデル動物を用いた病態解析がより発展すると期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

Daisuke Sugiura, Restriction of PD-1 function by cis-PD-L1/CD80 interactions is required for optimal T cell response, 第20回日本抗加齢医学会総会, オンライン, 9月25日, 2020年

杉浦大祐, シス PD-L1/CD80 結合が T 細胞活性化段階における PD-1 の抑制機能を制限する, 第7回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス, 東京 アキバホール, 10月24日, 2020年

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

ホモ変異マウスを繁殖させ、アレルギー応答の誘導を行い、導入した遺伝子変異による影響を詳細に解析する予定である。

より大きな改変を伴うゲノム編集が可能になるとともに、ゲノム編集効率がさらに向上することが期待される。