

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08626

研究課題名(和文) 気道ウイルス感染におけるPD-L2の意義解明とそれに基づく新規治療法の探索

研究課題名(英文) Biological significance and insight for new therapeutic strategy about PD-L2 expression in airway viral infection

研究代表者

松元 幸一郎 (MATSUMOTO, KOICHIRO)

九州大学・医学研究院・准教授

研究者番号：60325462

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ウイルス由来の2本鎖RNAによって気道上皮に発現し抗ウイルス免疫を減弱させる分子PD-L1に着目し、PI3キナーゼデルタ阻害薬(以下デルタ阻害薬)がPD-L1発現を抑制することを先行研究で報告した。本研究では、ヒト培養気道上皮において2本鎖RNA刺激によるPD-L2発現をデルタ阻害薬は逆に増強することを見出した。2本鎖RNA刺激により上皮からI型、III型インターフェロン(IFN)が産生されるが、デルタ阻害薬はIFN産生を増強することを見出した。IFN産生抑制によってPD-L2産生増強反応が消失することから、PD-L1とPD-L2誘導へのデルタ阻害薬の効果の違いはIFN依存性の違いに基づく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性閉塞性肺疾患(COPD)や気管支喘息は罹患人口も多く、しばしば急性増悪を起こして社会活動に支障をもたらす。気道ウイルス感染はCOPDや気管支喘息の増悪の誘因となるが、その早期排除の方策は確立していない。我々はウイルス由来の2本鎖RNAによって気道上皮に発現し、抗ウイルス免疫を減弱させる免疫チェックポイント分子PD-L1に着目し、PI3キナーゼデルタ阻害薬がそのPD-L1発現を抑制すること報告した。一方デルタ阻害薬はもう一つの分子PD-L2の発現をインターフェロン依存性に増強することを本研究で明らかにした。これらの成果はデルタ阻害薬を抗ウイルス薬として臨床応用をめざすうえで重要な知見となる。

研究成果の概要(英文)：Respiratory virus infections induce PD-L1 and PD-L2 expression in bronchial epithelium. We previously reported that a selective phosphoinositide 3-kinase (PI3K) inhibitor attenuated PD-L1 expression induced by double-stranded RNA (dsRNA), product of RNA virus infection, in human primary bronchial epithelial cells (PBECS). We assessed the effect PI3K inhibitor on PD-L1 and PD-L2 expression on PBECS stimulated with dsRNA or human metapneumovirus (hMPV). PI3K inhibitor or PI3K knockdown suppressed dsRNA-induced PD-L1, whereas enhanced PD-L2. PI3K inhibitor also enhanced dsRNA-induced antiviral IFNs via increased phosphorylation of IRF3. IRF3-siRNA knockdown counteracted enhancement of dsRNA-induced PD-L2. Similar effects of PI3K inhibitor on PD-L1 and PD-L2 expression were observed in PBECS infected with hMPV. Our findings suggest that, during viral infections, PI3K differentially regulates PD-L1 and PD-L2 expression in bronchial epithelium through induction of antiviral IFNs.

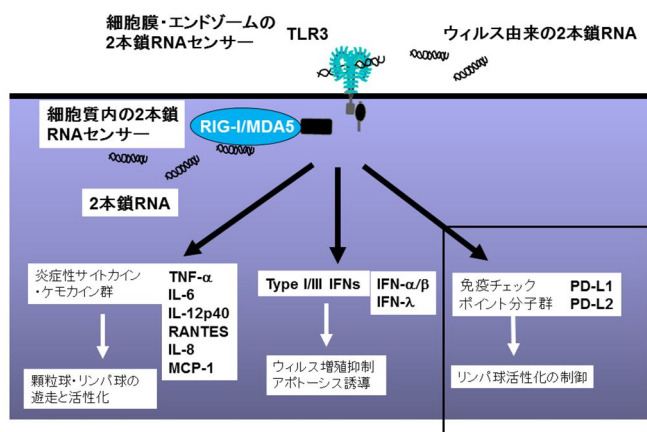
研究分野：呼吸器学

キーワード：ウイルス 2本鎖RNA インターフェロン PD-L2 PI3キナーゼ 呼吸器 PD-L1

1. 研究開始当初の背景

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) と気管支喘息の増悪は、定期外の受診や入院を要し、医療費増加の一因となる。主たる増悪誘因は気道ウイルス感染であり、ライノウィルスやヒトメタニューモウィルス (hMPV) パラインフルエンザウィルス、コロナウィルスなどの RNA ウィルスが多数を占める。RNA ウィルスが細胞に感染すると遺伝子中間産物として 2 本鎖 RNA を生成し、2 本鎖 RNA に対して活性化する自然免疫反応が抗ウィルス免疫の初期相を構成する。一方、2 本鎖 RNA は免疫チェックポイント分子 PD-L1 (B7-H1) を感染細胞上に発現誘導し、ウィルス特異的細胞障害性リンパ球 (CTL) 上に発現する PD-1 と結合することによってリンパ球を疲弊させ抗ウィルス免疫を抑制する。

以前に、応募者はマウスを用いた研究で PI3 キナーゼデルタ (PI3K δ) の阻害薬が 2 本鎖 RNA 刺激による PD-L1 の発現を抑制することを示した。一方、PI3K δ 阻害薬はもう一つのリガンドである PD-L2 (B7-DC) の発現を増強することを見出した。PD-L1、-L2 はともに PD-1 に作用し免疫抑制を誘導する分子として位置づけられており上流シグナルの阻害で相反する制御を受けるのは奇異なことである。PD-L2 は一部のアレルギーや腫瘍のモデルで免疫を増強する作用を示すことが報告されているが、ウィルス感染における PD-L2 の詳細な制御機構や意義については解明されていない。



2. 研究の目的

『ヒト気道上皮細胞にウィルスが感染した場合、PD-L2 の発現はどのように制御されているか?』を目的とした。

3. 研究の方法

気管支内視鏡検査で採取した中枢気道由来の初代ヒト気道上皮細胞を 2 本鎖 RNA で刺激し、PD-L1 と PD-L2 の発現動態を RT-PCR による mRNA 発現、およびフローサイトメトリーによる蛋白発現で検討した。PI3K δ 阻害薬と別の PI3K アイソザイム阻害薬の PD-L2 の発現への影響を mRNA および蛋白レベルで検討した。また、2 本鎖 RNA 刺激で産生される I 型および III 型インターフェロンと PD-L1 および PD-L2 発現の関連性について検討した。COPD 患者や気管支喘息患者由来の気道上皮とそれらの疾患を有しない患者由来の気道上皮での PD-L1 と PD-L2 発現動態の異同も検討した。さらに、ヒトメタニューモウィルス (hMPV) を感染させた実験系で 2 本鎖 RNA 刺激と実際のウィルス感染での発現動態の異同を検討した。

4. 研究成果

ヒト初代気道上皮の培養細胞系において、PI3K δ 阻害薬である IC87114 は 2 本鎖 RNA 刺激による PD-L1 mRNA 発現には影響しなかったが PD-L1 蛋白発現を有意に抑制し、一方で PD-L2 mRNA 発現および蛋白発現に対しては有意に増強した。PI3 キナーゼデルタ遺伝子のノックダウンでも

同様の結果を得た。このような効果はPI3Kの別のアイソザイムである γ の阻害薬では認められなかった。また、2本鎖RNA刺激により上皮からI型およびIII型インターフェロンが産生されるが、PI3K δ 阻害薬はこのインターフェロン産生をTBK1および転写因子IRF3のリン酸化亢進を介して増強することを見出した。IRF3ノックダウンによってインターフェロン産生の抑制のみならず、PI3K δ 阻害薬によるPD-L2の発現増強は消失するが、PI3K δ 阻害薬によるPD-L1の発現抑制には影響を与えないことから、2本鎖RNA刺激によるPD-L2産生へのデルタ阻害薬の作用はインターフェロン産生の増強を介することが考えられた。このPI3K δ 阻害薬のPD-L2発現増強作用はCOPD患者や喘息患者由来の気道上皮細胞でも同様に認められた。さらにヒトメタニューモウイルスを感染させて誘導されるPD-L2発現においても同様に認められた。これらの実験結果から、2本鎖RNAやウイルス感染によるPD-L1とPD-L2誘導へのPI3キナーゼ阻害薬の効果の違いはインターフェロン依存性の違いに基づくことが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tomohiro Ogawa, Keiko Kan-O, Ayaka Shiota, Akitaka Fujita, Yumiko Ishii, Satoru Fukuyama, Koichiro Matsumoto	4. 巻 12
2. 論文標題 Inhibition of PI3K Differentially Regulates Poly I:C- and Human Metapneumovirus-Induced PD-L1 and PD-L2 Expression in Human Bronchial Epithelial Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 767666
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2021.767666.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究分担者	福山 聡 (Fukuyama Satoru) (50380530)	九州大学・大学病院・講師 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関