

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：82406

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22916

研究課題名(和文) PIP3関連分子異常による原発性免疫不全症の病態解明と新規治療法開発への応用

研究課題名(英文) Investigation for pathogenesis of primary immunodeficiencies caused by PIP3-related deficiencies and its application to the development of new therapies

研究代表者

關中 佳奈子 (Kanakano, Sekinaka)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・小児科学・救急調整官)

研究者番号：00871344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：APDS (Activated PI3K-Delta syndrome; 活性化PI3K 症候群)は、易感染性、リンパ組織腫大、抗体産生不全、リンパ球減少症等を呈する原発性免疫不全症で、PIP3(Phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate) 過剰により、下流のAKT, mTOR, S6の恒常的リン酸化亢進が起こり発症する。PIK3CD変異、PIK3R1変異によるAPDS患者及びPTEN異常によるAPDS-L患者の検体を用いた解析により、AKT-FOXO1シグナル伝達経路が免疫不全に関与すること、リンパ組織増殖にERK経路の異常活性化が関与することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

APDS患者は原発性免疫不全症患者の中でも大きな割合を占めることが明らかになってきたが、APDS, APDS-Lにおける免疫異常(免疫不全およびリンパ組織増殖)の発症機序は不明であり、いまだに適切な治療法は確立されていない。本研究により、AKT-FOXO1シグナル伝達経路が免疫不全に、リンパ組織増殖にERK経路の異常活性化が関与することが示された。これらの成果をもとに、詳細な疾患分類や新規治療薬の開発につなげていくことが今後の目標である。

研究成果の概要(英文)：APDS (Activated PI3K-Delta syndrome) is a primary immunodeficiency characterized by increased susceptibility to infection, enlarged lymphoid tissue, defective antibody production, and lymphopenia. APDS is considered to have a pathology based on the overexpression of PIP3 through overactivation of the PI3K signaling pathway and the constant phosphorylation of AKT/mTOR/S6 downstream of PIP3. We analyzed samples from APDS patients with PIK3CD or PIK3R1 mutations and APDS-L patients with PTEN mutations and revealed that AKT-FOXO1 signaling pathway is involved in immunodeficiency and that abnormal activation of ERK signaling pathway is involved in lymphoid tissue proliferation.

研究分野：小児科学、原発性免疫不全症

キーワード：PIP3 APDS PIK3CD PIK3R1 PTEN FOXO1 ERK

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

原発性免疫不全症 APDS (Activated PI3K-Delta syndrome ; 活性化 PI3K $\delta$  症候群)は、PIP3(Phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate) 過剰により、下流の AKT, mTOR, S6 の恒常的リン酸化亢進が起こり発症する。易感染性、リンパ組織腫大、抗体産生不全、リンパ球減少症等を呈し、原因遺伝子は PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) のサブユニット p110 $\delta$  (遺伝子 PIK3CD) と、p85 $\alpha$  (遺伝子 PIK3R1) である。さらに、我々は APDS の新規原因遺伝子 PTEN を同定した。

APDS における免疫異常 (免疫不全およびリンパ組織増殖) の発症機序は不明であり、適切な治療法は確立されていない。

### 2. 研究の目的

APDS における免疫不全症およびリンパ組織増殖の発症機序を解明することを目的とする。免疫不全症に AKT-FOXO1 シグナル伝達経路が関与すること、リンパ組織増殖に ERK 経路の異常活性化が関与するという研究成果を検証するとともに、APDS における免疫異常発症機序の解明および APDS の病態に応じた新規治療法の開発を目指す。

### 3. 研究の方法

#### ①AKT-FOXO1 シグナル伝達経路の異常による免疫不全発症機構の解明

APDS 患者リンパ球を用い、FOXO1 リン酸化亢進と免疫不全重症度の相関を検討

#### ②ERK 経路異常活性化によるリンパ組織増殖症発症機序の解明

APDS 患者リンパ球を用い、ERK のリン酸化亢進とリンパ組織増殖症重症度に関して検討

### 4. 研究成果

#### ①AKT-FOXO1 シグナル伝達経路の異常による免疫不全発症機構の解明

APDS 及び APDS-L 患者の患者活性化 T 細胞を樹立 (4 症例とそれぞれの健常コントロール) し、転写因子 FOXO1 のリン酸化解析を行ったところ、APDS 患者では転写因子 FOXO1 のリン酸化亢進を認めた。一方、免疫不全症状を呈さない Cowden 症候群患者 (PTEN 変異) の活性化リンパ球では FOXO1 のリン酸化亢進は認められなかった。(図 1)

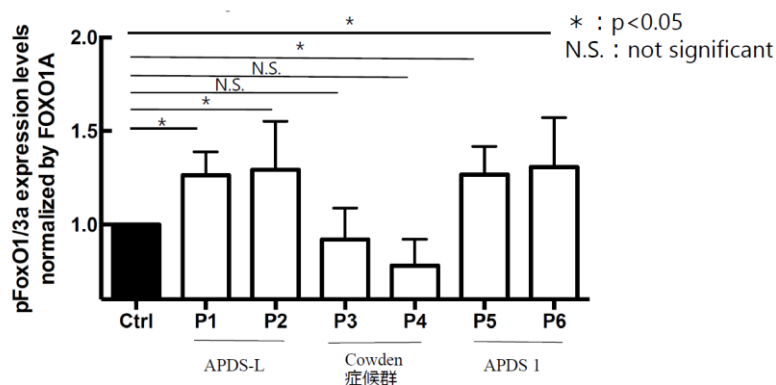


図 1 患者活性化 T 細胞における FOXO1 リン酸化解析 (ウェスタンブロット法)

FOXO1 のリン酸化亢進は FOXO1 転写活性の抑制を反映し、アポトーシスや細胞周期の制御及び細胞増殖に関与する下流の遺伝子群の発現を抑制する。FOXO1 のリン酸化亢進が免疫不全発症に寄与していると考えられた。

#### ②ERK 経路異常活性化によるリンパ組織増殖症発症機序の解明

APDS 及び APDS-L 患者の EBLCL を樹立 (3 症例とそれぞれの健常コントロール) し、ERK のリン酸化解析を行ったところ、APDS 及び APDS-L 患者の EBLCL では、ERK のリン酸化が亢進していた。特にリンパ腫の合併頻度の高い APDS 2 患者においてこの傾向は著明であった。(図 2)

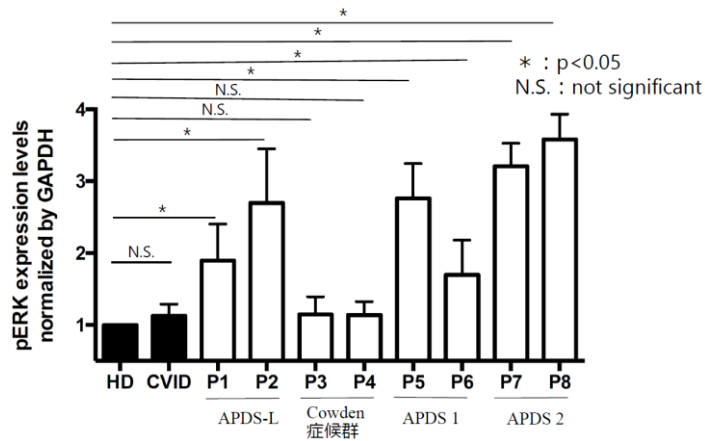


図2 患者 EBLCL における ERK リン酸化解析 (ウェスタンブロッティング)

ERK は細胞増殖に関わる分子であり、リンパ組織増殖や、B 細胞性リンパ腫の発症に関与していると考えられた。

以上の解析結果から、APDS 及び APDS-L における免疫異常は、AKT-FOXO1 経路の制御異常による T 細胞活性化障害及び B 細胞における ERK 経路の過剰活性化によるリンパ組織腫大として発症していることが考えられた。

本研究において着目した AKT-FOXO1 経路、ERK 経路の阻害剤は、APDS 患者に対する新規治療薬となる可能性があり、in vitro でその効果を検証する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mitsui-Sekinaka Kanako, Sekinaka Yujin, Endo Akifumi, Imai Kohsuke, Nonoyama Shigeaki	4. 巻 12
2. 論文標題 The Primary Immunodeficiency Database in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2021.805766	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 -

1. 著者名 Hoshino A, Toyofuku E, Mitsui N, Yamashita M, Okamoto K, Yamamoto M, Kanda K, Yamato G, Keino D, Yoshimoto-Suzuki Y, Kamizono J, Onoe Y, Ichimura T, Nagao M, Yoshimura M, Tsugawa K, Igarashi T, Mitsui-Sekinaka K, Sekinaka Y, Doi T, Yasumi T, Nakazawa Y, Takagi M, Imai K, Nonoyama S, Morio T, Latour S, Kanegane H.	4. 巻 12
2. 論文標題 Clinical Courses of IKAROS and CTLA4 Deficiencies: A Systematic Literature Review and Retrospective Longitudinal Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2021.784901	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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------