

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15471

研究課題名(和文) 肺ウイルス感染による宿主免疫応答に対するPI3キナーゼ 阻害剤の効果の解明

研究課題名(英文) Effects of a PI3 kinase delta inhibitor on host immune responses induced by respiratory virus infection

研究代表者

神尾 敬子(Kan-o, Keiko)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：50813771

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：患者より採取した気道上皮細胞を用いて、PI3K 阻害剤によるヒトメタニューモウイルス感染時の共抑制分子PD-L1とPD-L2の発現増強に対する作用を検討することで、気道ウイルス感染時にはPI3K を介した自然免疫と獲得免疫のクロストークがあり、PI3K 阻害剤は自然免疫・獲得免疫両面からウイルスの排除に対し促進的に作用する可能性があることを報告した(Ogawa and Kan-o et al, Front Immunol.)。またマウス肺PCLS (precision-cut lung slices)へのヒトメタニューモウイルス感染モデルを作成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喘息や慢性閉塞性肺疾患増悪の主原因は、気道へのウイルス感染である。増悪は病態の進行や、呼吸機能の低下を引き起こし患者のQOLを大きく損なうことから、増悪の予防・抑制は重要な管理目標である。実臨床で使用される吸入ステロイドは、増悪抑制効果がある一方で、感染症の悪化が懸念される。吸入PI3K 阻害剤はヒトへの投与により安全性がすでに報告されている。本研究結果から、PI3K 阻害剤は多種の気道ウイルス感染症を予防し、喘息やCOPD増悪を抑制することで、患者の将来リスクを低減する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Using airway epithelial cells collected from patients, we investigated the effects of a PI3K delta inhibitor on the enhanced expression of PD-L1 and PD-L2, co-suppressor molecules during human metapneumovirus infection. We reported that there is cross-talk between innate and acquired immunity mediated by PI3K delta during respiratory virus infection, and PI3K inhibitors may promote innate and acquired immune responses to viral elimination (Ogawa and Kan-o et al, Front Immunol.). We also developed a model of human metapneumovirus infection in mouse precision-cut lung slices (PCLS).

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：抗ウイルス薬 喘息・慢性閉塞性肺疾患増悪抑制薬 PI3K 阻害剤 自然免疫と獲得免疫のクロストーク

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

I 型・III 型インターフェロン (IFN) は、感染初期の非特異的ウイルス防御機構 (自然免疫) として最も重要である。またウイルスは感染細胞上に免疫チェックポイント分子 programmed death 1 ligand 1 (PD-L1) を誘導し、PD-L1 と細胞障害性 T 細胞上の PD-1 との結合は獲得免疫を減弱することが知られている。申請者は以前に、主要な呼吸器系ウイルスの複製過程で生じる 2 本鎖 RNA が気道上皮細胞の核酸認識受容体により認識され、自然免疫応答や細胞上への PD-L1 発現を誘導することを報告した (Kan-o et al. Int Arch Allergy Immunol. 2013)。そして最近、下記に示す poly I:C (合成 2 本鎖 RNA) が誘導する免疫応答に対する phosphoinositide 3-kinase (PI3K) 阻害剤の効果とその機序を、マウス肺とヒト初代培養気道上皮細胞を用い明らかにした (Kan-o et al. Biochem Biophys Res Commun. 2013 & Fujita, Kan-o et al. Front Immunol. 2020)。

申請者が報告した 2 本鎖 RNA 誘導免疫応答に対する PI3K 阻害剤の効果  
炎症性サイトカイン・ケモカイン産生を抑制  
抗ウイルス免疫応答 (I 型・III 型 IFNs 産生) を増強  
細胞上の免疫チェックポイント分子 PD-L1 発現増強を抑制

すなわち PI3K 阻害剤は過剰な炎症を抑え、宿主の防御機構 (自然・獲得免疫) を増強することで、抗ウイルス作用を有する可能性を示した。申請者はさらに、ヒト初代培養気道上皮細胞に感染したヒトメタニューモウイルス (human metapneumovirus; hMPV) の増殖を、PI3K 阻害剤が抑制することを確認している。一方、PD-L2 は PD-L1 と同様に PD-1 と結合する共抑制分子であることが知られているが、肺においては RGmb と結合し、T 細胞を活性化する共刺激分子でもあることが報告されている。しかしながら、ウイルス感染時の気道上皮の PD-L2 発現や、マウス肺の免疫応答・ウイルス増殖能における PI3K 阻害剤の効果は明らかでない。

### 2. 研究の目的

(1) poly I:C 刺激時または hMPV 感染時のヒト初代培養気道上皮細胞上の PD-L1, PD-L2 発現に対する PI3K 阻害剤の効果とそのメカニズムを検討する。

(2) マウス肺 PCLS (precision-cut lung slices) を用いて ex vivo での hMPV 感染時に誘導する免疫応答およびウイルス増殖能に対する PI3K 阻害剤の効果を検討する。

### 3. 研究の方法

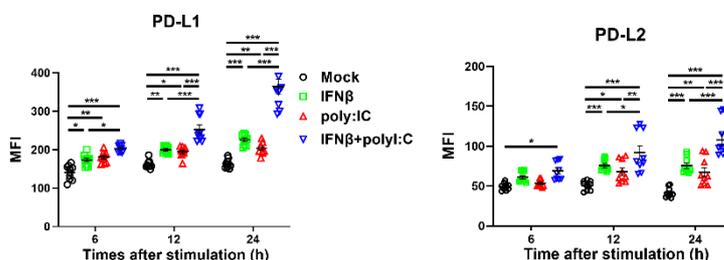
(1) 気管支鏡下に細気管支の気道上皮細胞を採取・培養し、ヒト初代培養気道上皮細胞 (primary bronchial epithelial cells: PBEC) として研究に使用した (九州大学医系地区部局観察研究倫理審査委員会許可あり)。IFN または PI3K 阻害剤 (IC87114) を前処置し、PD-L1, PD-L2 の発現を、フローサイトメトリーを用いて調べた。またその発現変化のメカニズムを、western blot 法や定量 PCR 法を用いて検討した。

(2) 安楽死後のマウス気管内にアガロースゲルを注入し、振動刃マイクロームを用いて厚さ 300  $\mu\text{m}$  の PCLS を作成・培養した (九州大学動物実験計画承認済み)。hMPV による感染をおこない、ウイルス増殖能や IFN 産生能を定量 PCR 法を用いて検討した。

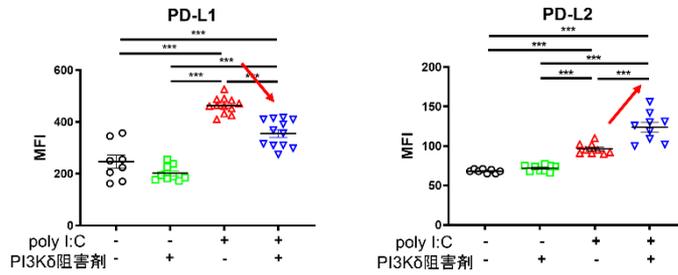
### 4. 研究成果

#### (1)

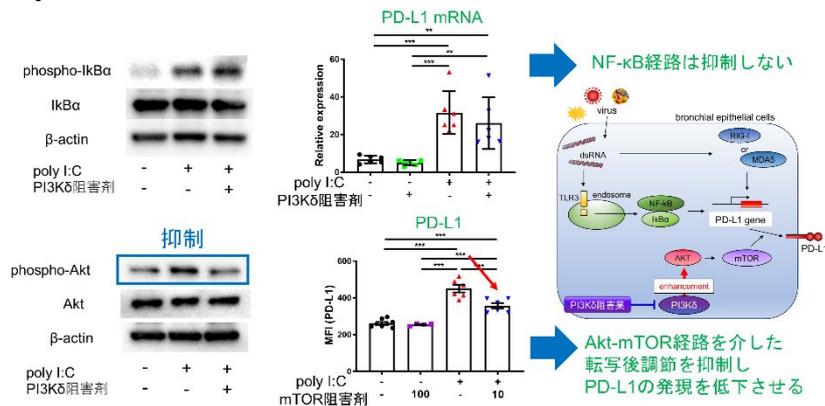
IFN および 2 本鎖 RNA は相乗的に PBEC の PD-L1, PD-L2 発現を増強した。



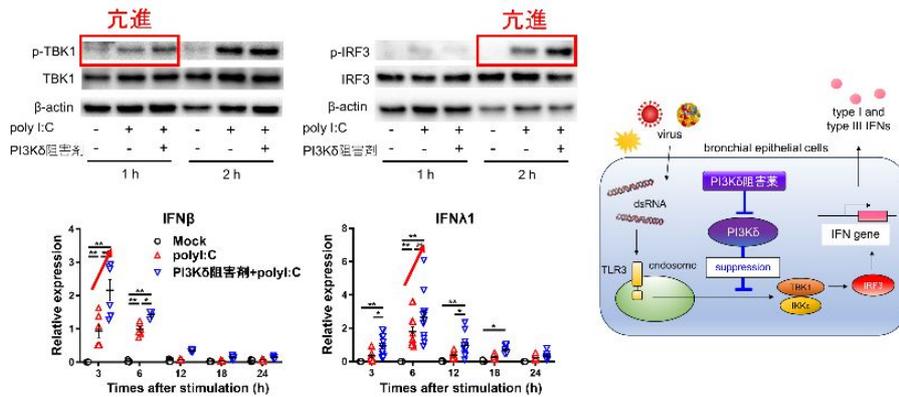
PI3K 阻害剤は 2 本鎖 RNA 誘導性 PD-L1 発現を抑制し、PD-L2 発現を増強することから、PD-L1, PD-L2 発現に対し異なる効果を示した。



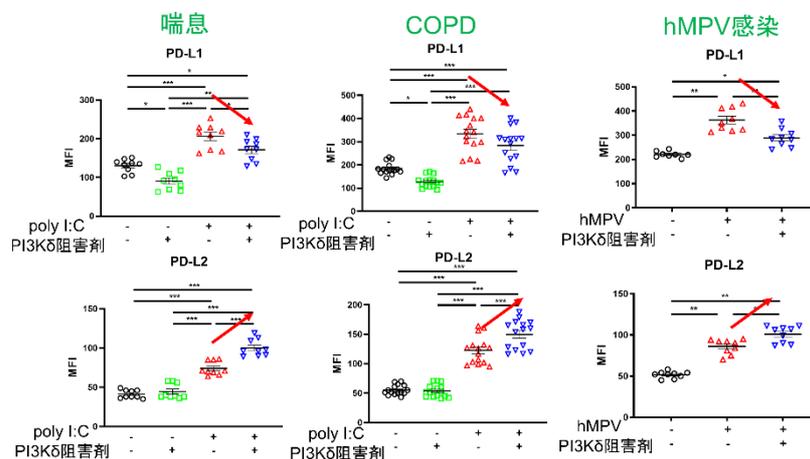
PI3K 阻害剤は Akt-mTOR 経路を介した転写後調節を抑制し、2 本鎖 RNA 誘導性 PD-L1 の発現を抑制した。



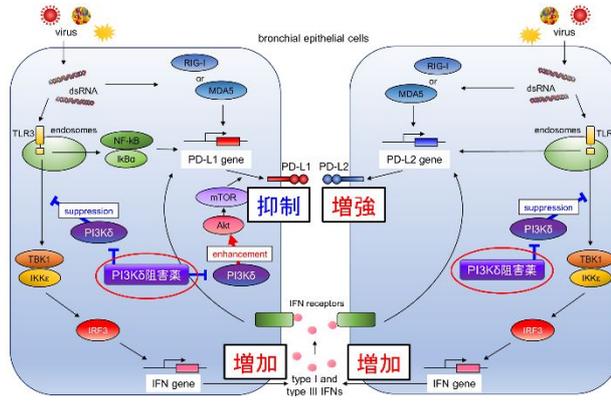
PI3K 阻害剤は 2 本鎖 RNA 誘導性 IFN の産生を増強することで、PD-L2 の発現を増強させた。



喘息・慢性閉塞性肺疾患患者の気道上皮や、hMPV 感染時にも PI3K 阻害剤は PD-L1, PD-L2 の発現に対し同様の効果を示した。



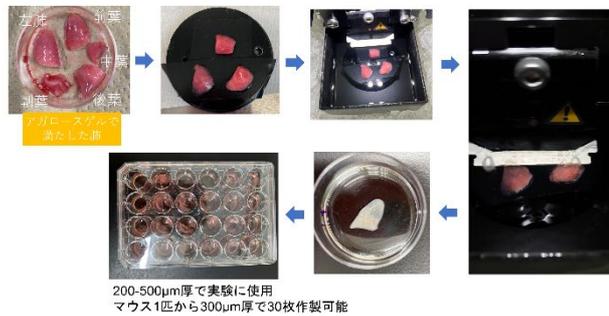
( 1 ) の研究の要約図



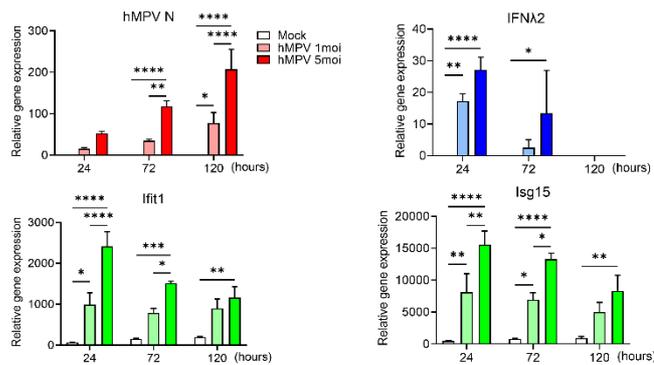
PI3K 阻害剤は、異なる機序によりウイルス感染時の気道上皮細胞上の PD-L1 と PD-L2 発現を制御し、汎用性の高い増悪抑制薬・抗ウイルス薬となる可能性を示した。

( 2 )

マウス肺 PCLS の作成、培養の method を確立した



PCLS への hMPV 感染によるウイルスの増殖と IFN 応答の誘導を確認した



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 神尾敬子、小川知洋、松元幸一郎	4. 巻 281
2. 論文標題 ウイルス感染と喘息増悪	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 62 - 66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 神尾敬子、松元幸一郎	4. 巻 41
2. 論文標題 喘息と感染症	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Current Therapy(カレントセラピー)	6. 最初と最後の頁 25 - 30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Tomohiro, Kan-o Keiko, Shiota Ayaka, Fujita Akitaka, Ishii Yumiko, Fukuyama Satoru, Matsumoto Koichiro	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7件（うち招待講演 6件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 神尾敬子
2. 発表標題 気道ウイルス感染症に対する選択的PI3Kdelta阻害剤の効果の検討
3. 学会等名 第63回日本呼吸器学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 神尾敬子
2. 発表標題 気道ウイルス感染症の成人喘息増悪と喘息病態悪化への関与
3. 学会等名 第4回日本喘息学会総会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 神尾敬子
2. 発表標題 気道ウイルス感染と喘息病態形成機構
3. 学会等名 第91回日本呼吸器学会・日本結核非結核性抗酸菌症学会・日本サルコイドーシス/肉下種性疾患学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 神尾 敬子
2. 発表標題 日本呼吸器学会平成33年度女性研究者奨励賞受賞講演 気道ウイルス感染症における自然免疫と獲得免疫のクロストークと新規治療薬の探索
3. 学会等名 第62回日本呼吸器学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神尾 敬子
2. 発表標題 ヒトメタニューモウイルス感染症による閉塞性肺疾患の増悪
3. 学会等名 第71回日本アレルギー学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神尾 敬子
2. 発表標題 ウイルス感染による喘息・COPDの増悪と新規治療薬の探索
3. 学会等名 第89回日本呼吸器学会・日本結核非結核性抗酸菌症学会・日本サルコイドーシス/肉芽種性疾患学会 九州支部秋季学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小川知洋、神尾敬子、篠崎聖児、山本宜男、福山聡、松元幸一郎
2. 発表標題 気道上皮細胞ウイルス感染時のPI3-kinase deltaによるインターフェロン応答とPD-L1, PD-L2の発現制御
3. 学会等名 第61回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 神尾敬子、小川知洋、松元幸一郎	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 154
3. 書名 喘息の発症メカニズムと治療・管理 ウイルス感染と喘息増悪	

〔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