

令和元年5月15日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08839

研究課題名(和文) 種間および種内において多様化した免疫受容体の感染症における役割

研究課題名(英文) The role of immune receptors with inter- and intraspecies diversity in infectious diseases

研究代表者

平安 恒幸 (Hirayasu, Kouyuki)

金沢大学・先進予防医学研究センター・特任准教授

研究者番号：30585170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、種間および種内で多様性を示す免疫レセプターに着目し病原体との相互作用解析を通して感染症における免疫レセプターの役割の解明を目的とした。

各種免疫レセプターの標的分子の探索を行ったところ、抑制化レセプターLILRB1が熱帯熱マラリア原虫感染赤血球の細胞表面に発現するRIFINを認識することで、B細胞およびNK細胞の機能を抑制し、マラリアの重症化との関連性が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マラリアは、マラリア原虫が引き起こす感染症であるが、これまでに有効なワクチンの開発は成功していない。マラリアは感染しても十分な免疫が獲得されないため、マラリア原虫には我々の免疫システムから逃れるメカニズムが存在すると考えられる。本研究によって、マラリア原虫には抑制化レセプターを利用して免疫応答を抑えるという新たなメカニズムが存在し、マラリア重症化に関与していることが明らかとなった。本研究成果は、今後、予防効果の高いマラリアワクチンや治療薬の開発に大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to clarify the role of immune receptors with inter- and intraspecies diversity in infectious diseases.

In the process of search for interaction between pathogens and host immune receptors, it was found that inhibitory receptor LILRB1 recognized RIFINs expressed on *P. falciparum*-infected red blood cells. RIFINs inhibited activation of LILRB1-expressing B cells and natural killer (NK) cells. Furthermore, *P. falciparum*-infected erythrocytes isolated from patients with severe malaria were more likely to interact with LILRB1 than erythrocytes from patients with non-severe malaria, suggesting that LILRB1-RIFIN interaction may be involved in the development of severe malaria.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫レセプター 免疫逃避機構 活性化レセプター 抑制化レセプター 白血球レセプター複合体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

免疫レセプターは進化速度が早く、遺伝子変異や遺伝子重複および欠失を繰り返し同一の遺伝子であったとしても遺伝子の数が種間および種内で異なることが多い。実際に申請者は、LILRA3 遺伝子の欠失が有意にアジア人集団に多く、この遺伝子に選択圧が働いた痕跡を見出した (Hirayasu et al., Hum Genet, 2006, Hirayasu et al., Am J Hum Genet, 2008, Hirayasu et al., J Hum Genet, 2015)。しかしながら、免疫レセプターの多くが機能やリガンドが未知であり、免疫レセプターが多様化する要因は不明である。申請者のこれまでの研究から、遺伝的多様性に富む NK 細胞レセプターが脳性マラリアと関連を示す事が明らかとなった (Hirayasu et al., PLoS Pathogens, 2012)。したがって、免疫レセプターは、病原体と相互作用することにより多様化してきた可能性が示唆される。

### 2. 研究の目的

本研究では種間および種内で多様性を示す免疫レセプターと病原体分子との相互作用解析を網羅的に行い、宿主と病原体との関わりを明らかにする事でこれまでに知られていない感染症における多様性の役割の解明を目的とする。

### 3. 研究の方法

#### ➤ 免疫レセプターのリガンド探索

リガンド探索のツールとして、免疫レセプターの組換えタンパク質の作製およびリガンドと結合すると GFP を発現するレポーター細胞の作製を行った。腫瘍細胞、感染細胞、血清等をリガンドの対象とし、これらと免疫レセプターとの相互作用を上記ツールを用いてフローサイトメトリーにより行った。リガンドを含む対象が見出されたら、免疫レセプターの組換えタンパク質を用いて、免疫沈降および質量分析によりリガンドの同定を行った。

#### ➤ LILRB1 とマラリア原虫分子 RIFIN との相互作用解析

同定された LILRB1 のリガンドであるマラリア原虫分子 RIFIN との相互作用解析を行うために、RIFIN を発現する感染細胞等と LILRB1 を発現する B 細胞および NK 細胞と共培養し、免疫が抑制されるかどうかを解析した。また、マラリア患者由来の感染赤血球と LILRB1 との相互作用を解析し、マラリアの重症化との関連を調べた。

### 4. 研究成果

組換えタンパク質およびレポーター細胞を用いて、各種免疫レセプターの標的分子の探索を行ったところ、抑制化レセプター LILRB1 が熱帯熱マラリア原虫感染赤血球に結合することを見出した。マラリア原虫感染赤血球上に発現する LILRB1 のリガンドを同定するために、免疫沈降法によって LILRB1-Fc と共沈してくるタンパク質を質量分析で解析したところ、LILRB1 と共沈するタンパク質として RIFIN が同定された。RIFIN の免疫細胞における影響を調べたところ、RIFIN は LILRB1 を発現する B 細胞および NK 細胞の機能を抑制した。さらに、LILRB1 によるマラリア原虫感染赤血球の認識がマラリアの病態にどのように関わっているのかを調べるために、タンザニアのマラリア患者由来の感染赤血球と LILRB1 との相互作用を解析した。その結果、軽症マラリア患者と比べて、重症マラリア患者由来の感染赤血球は、有意に LILRB1 に結合しやすいということが明らかとなった。本研究から、熱帯熱マラリア原虫は宿主の免疫から逃れるために、宿主の抑制化レセプターを標的にして、多様な RIFIN を獲得し進化してきたことが考えられる。

引き続き、組換えタンパク質およびレポーター細胞を用いて各種免疫レセプターの標的分子の探索を行ったところ、活性化レセプター CHR のリガンドが血清中に存在することを見出した。血清に含まれる CHR のリガンドを同定するために、免疫沈降法によって CHR-Fc と共沈してくるタンパク質を質量分析で解析したところ、CHR と共沈するタンパク質として補体抑制因子が同定された。病原微生物は宿主の補体免疫から逃れるために補体抑制因子を細胞表面に結合する事が知られているが、本研究により、宿主側はこの病原微生物の補体免疫逃避機構に対抗するために補体抑制因子を結合した病原微生物を認識する活性化レセプター CHR を進化させてきた可能性が考えられる。免疫沈降によって同定された補体抑制因子は、1 種類であったが、複数種類の補体抑制因子が知られているため、どの補体抑制因子を CHR が認識するのかについて明らかにするために、補体抑制因子の組換えタンパク質を作製し、CHR のレポーターアッセイを行ったところ、補体抑制因子 1、2 が CHR と相互作用し、レポーター細胞を活性化させることが明らかとなった。本研究から、補体抑制因子を介して活性化レセプター CHR は感染防御に関わる可能性が示唆される。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 13 件)

1. 平安恒幸. LILR ファミリーを標的とした病原体および腫瘍の免疫逃避機構. 臨床免疫・アレルギー科. 2019.71(3) 283-287. 査読無  
<https://iss.ndl.go.jp/books/R000000004-1029550437-00>

2. 平安恒幸. 細菌の抗体免疫逃避と生体防御. 臨床免疫・アレルギー科. 2018.70(5) 452-458. 査読無  
<http://www.kahyo.com/item/M201811-705>
3. Deng, M., Gui, X., Kim, J., Xie, L., Chen, W., Li, Z., He, L., Chen, Y., Chen, H., Luo, W., Lu, Z., Xie, J., Churchill, H., Xu, Y., Zhou, Z., Wu, G., Yu, C., John, S., Hirayasu, K., et al. LILRB4 signalling in leukaemia cells mediates T cell suppression and tumour infiltration. *Nature* 562, 605-609 (2018). 査読有  
doi: 10.1038/s41586-018-0615-z.
4. 齋藤史路、平安恒幸、荒瀬 尚. 熱帯熱マラリア原虫による免疫逃避機構. 臨床免疫・アレルギー科. 2018.70(3) 289-294. 査読無  
<http://www.kahyo.com/item/M201809-703>
5. 平安恒幸、齋藤史路、荒瀬 尚. LILR ファミリーを介した宿主病原体相互作用. 医学のあゆみ. 2018.265 1171-1176. 査読無  
<http://mol.medicalonline.jp/library/journal/abstract?GoodsID=aa7ayuma/2018/026513/018&name=1171-1176j&UserID=133.28.206.43>
6. 齋藤史路、平安恒幸、荒瀬 尚. 抑制化受容体を標的とした熱帯熱マラリア原虫による免疫逃避機構. 実験医学. 2018.36(6) 994-997. 査読無  
<http://mol.medicalonline.jp/library/journal/abstract?GoodsID=ai4jigkb/2018/003606/022&name=0994-0997j&UserID=133.28.206.43>
7. Murakami, Y., Wataya Kaneda, M., Kitayama, K., Arase, N., Murota, H., Hirayasu, K., Arase, H. & Katayama, I. Heightened BRAF and BRAF pseudogene expression levels in 2 Japanese patients with Erdheim-Chester disease. *Journal of Cutaneous Immunology and Allergy* 1, 16-22 (2018). 査読有  
doi: 10.1002/cia2.12010
8. Hirayasu, K. & Arase, H. Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor (LILR). *Encyclopedia of Signaling Molecules 2nd Edition*, (2018). 査読有  
[https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-1-4614-6438-9\\_101689-1.pdf](https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-1-4614-6438-9_101689-1.pdf)
9. Hiwa, R., Ohmura, K., Arase, N., Jin, H., Hirayasu, K., Kohyama, M., Suenaga, T., Saito, F., Terao, C., Atsumi, T., Iwatani, H., Mimori, T. & Arase, H. Myeloperoxidase/HLA Class II Complexes Recognized by Autoantibodies in Microscopic Polyangiitis. *Arthritis Rheumatol* 69, 2069-2080 (2017). 査読有  
doi: 10.1002/art.40170.
10. Saito, F., Hirayasu, K., Satoh, T., Wang, C. W., Lusingu, J., Arimori, T., Shida, K., Palacpac, N. M. Q., Itagaki, S., Iwanaga, S., Takashima, E., Tsuboi, T., Kohyama, M., Suenaga, T., Colonna, M., Takagi, J., Lavstsen, T., Horii, T. & Arase, H. Immune evasion of *Plasmodium falciparum* by RIFIN via inhibitory receptors. *Nature* 552, 101-105 (2017). 査読有  
doi: 10.1038/nature24994.
11. 平安恒幸、荒瀬尚. 病原微生物の抗体免疫逃避と生体防御. 感染・炎症・免疫 2017.47(2) 90-97. 査読無
12. 平安恒幸. 微生物による抗体免疫逃避を検出する新たな生体防御機構. 医学のあゆみ. 2017.261(7) 762-763. 査読無  
<http://mol.medicalonline.jp/library/journal/abstract?GoodsID=aa7ayuma/2017/026107/012&name=0762-0763j&UserID=133.28.206.43>
13. Hirayasu, K., Saito, F., Suenaga, T., Shida, K., Arase, N., Oikawa, K., Yamaoka, T., Murota, H., Chibana, H., Nakagawa, I., Kubori, T., Nagai, H., Nakamaru, Y., Katayama, I., Colonna, M. & Arase, H. Microbially cleaved immunoglobulins are sensed by the innate immune receptor LILRA2. *Nat Microbiol* 1, 16054 (2016). 査読有  
doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.54.

〔学会発表〕(計 9 件)

1. 平安恒幸. 白血球レセプター複合体の多様性と機能. 第1回日本医学会連合 Rising Star リトリート. 2019年3月5日. 千葉.
2. Sakoguchi A, Saito F, Hirayasu K, Shida K, Kohyama M, Suenaga T, Iwanaga S, Horii T, Arase H. RIFINs of *Plasmodium falciparum* target multiple inhibitory receptors for immune evasion. 第47回日本免疫学会学術集会. 2018年12月12日. 福岡
3. 平安恒幸. Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor (LILR)にみる微生物と宿主の攻防. 第91回日本細菌学会総会. 2018年3月28日. 福岡.
4. Hirayasu K, Saito F, Suenaga T, Shida K, Arase N, Oikawa K, Yamaoka T, Murota H, Chibana H, Nakagawa I, Kubori T, Nagai H, Nakamaru Y, Katayama I, Colonna M, Arase H. Microbially cleaved immunoglobulins are sensed by the innate immune receptor LILRA2. 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society.

- October 29, 2017. Kanazawa.
5. Hirayasu K, Saito F, Suenaga T, Shida K, Arase N, Oikawa K, Yamaoka T, Murota H, Chibana H, Nakagawa I, Kubori T, Nagai H, Nakamaru Y, Katayama I, Colonna M, Arase H. Microbially cleaved immunoglobulins are sensed by the innate immune receptor LILRA2. 第45回日本免疫学会学術集会. 2016年12月. 沖縄.
  6. Hirayasu K, Saito F, Suenaga T, Shida K, Arase N, Oikawa K, Yamaoka T, Murota H, Chibana H, Nakagawa I, Kubori T, Nagai H, Nakamaru Y, Katayama I, Colonna M, Arase H. Microbially cleaved immunoglobulins are sensed by the innate immune receptor LILRA2. 16th Meeting of the Society for Natural Immunity. October 2, 2016. Taormina, Italy.
  7. 平安恒幸. 細菌の抗体免疫逃避を検出する新たな免疫システム. 第69回日本細菌学会関西支部総会・学術講演会. 2016年11月19日. 大阪.
  8. 平安恒幸、齋藤史路、末永忠広、信田京子、荒瀬規子、及川敬太、山岡俊文、室田浩之、知花博治、中川一路、久堀智子、永井宏樹、中丸裕爾、片山一朗、Marco Colonna、荒瀬尚. HLAクラスI認識受容体群LILRの新展開 - 病原微生物によって壊された抗体を認識する生体防御機構 -. 第25回日本組織適合性学会大会. 2016年10月. 北海道.
  9. Hirayasu K, Saito F, Suenaga T, Shida K, Arase N, Oikawa K, Yamaoka T, Murota H, Chibana H, Nakagawa I, Kubori T, Nagai H, Nakamaru Y, Katayama I, Colonna M, Arase H. Microbially cleaved immunoglobulins are sensed by the innate immune receptor LILRA2. 15th Awaji International Forum on Infection and Immunity. September, 2016. Awaji Island.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: マラリア治療薬、マラリアの治療方法、マラリア治療用候補物質のスクリーニング方法、マラリア重症化マーカー、マラリアの重症化の危険度を試験する方法および試験試薬

発明者: 平安史路、平安恒幸、荒瀬尚

権利者: 同上

種類: 特許権

番号: 特願 2017-228226

出願年: 2017年11月28日

国内外の別: 国際

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

齋藤史路、平安恒幸、荒瀬尚. 熱帯熱マラリア原虫のもつRIFINによる宿主の免疫抑制化受容体を介した免疫からの逃避の機構. ライフサイエンス 新着論文レビュー 2017.

<http://first.lifesciencedb.jp/archives/17623>

マラリアの重症化メカニズムを解明(荒瀬グループがNature誌に発表)

<http://www.ifrec.osaka-u.ac.jp/jpn/research/20171130-0252.htm>

Nature Japan Nature Microbiology 著者インタビュー

荒瀬尚氏、平安恒幸氏: 微生物 vs. ヒトの感染攻防最前線 微生物は抗体を破壊する能力を獲得したが、ヒトは壊れた抗体を感知して感染を防ぐ機構を進化させた

<https://www.natureasia.com/ja-jp/nmicrobiol/interview/4>

該当なし

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、研究者個人に帰属されます。