

論 文 要 旨

HTLV-1 specific CD8+ T cell function augmented by blockade of 2B4/CD48 interaction in HTLV-1 infection

HTLV-1 感染における 2B4/CD48 阻害による HTLV-1 特異的 CD8+ T 細胞機能の増幅

Chibueze Chioma Ezinne

【序論および目的】 (適宜、項目をたてて、必ず2頁で記載する)

CD8+T 細胞はウイルス感染において重要な役割を持つが、この系は抑制性受容体により調節されている。抑制系受容体の発現は CD8+T 細胞の機能的疲弊と関連していると言われてきた。実際、ウイルス感染における CD8+T 細胞の抑制性受容体を同時に阻害した際にみられる効果についての多くの研究発表がある。しかしながら個々の受容体とリガンドの系についてはいまだ不明である。2B4/CD48 系反応は CD3+T 細胞調整に関係しており、その下流に存在する SAP(SLAM-association protein) は 2B4/CD48 系の作動を促進的にもしくは抑制的に調節する機能を持っている。そこで、申請者は HTLV-1 感染症において、まず CD8+T 細胞の 2B4(CD244)(SLAM-family receptor)の発現を検討し、またリガンドである CD4+T 細胞に発現する CD48 との相互作用を抗体によりブロックすることで、どのように影響されるかを検討した。

【材料および方法】

HTLV-1 感染者 (成人 T 細胞白血病・リンパ腫 ATLL 2 1 名、HTLV-1 キャリア 3 1 名) およびコントロールとして健常ヒト 1 2 名由来の末梢血単核球(PBMC)を分離し以下の実験に用いた。

1) フローサイトメトリー法(FACS Scan または FACS Calibur で測定し、FlowJo で解析)で、細胞膜抗原 (CD8, CD4, 2B4, CD48)の分析を行った。CD8+2B4+細胞の T 細胞分化状態をみるために、CD45RA, CCR7 抗体や、CD57 抗体および CD62L 抗体を用いて、これらの分子の重発現の検討を行った。

2) CD48 抗体添加による HTLV-1 特異的 CD8+T 細胞の機能変化を評価するために、HLA-A*0201 もしくは HLA-A*2402 陽性の検体において、PBMC を HTLV-1Tax ペプチド 0.02 μ M および CD48 抗体 (5 μ g/mL)存在下に 4 時間培養後、各 HLA に特異的な HLA-tetramer 試薬と CD8 抗体、および CD107a 抗体を用いてフローサイトメトリー法で測定し、HLA-tetramer/CD8 抗体陽性の細胞における CD107a 陽性の頻度を検討した。同様に CD8+T 細胞の機能を測定するために、Tax ペプチドと CD48 抗体存在下で培養した PBMC の細胞内パーフォリンを特異抗体で染色し、フローサイトメトリー法で測定した。

3) 2B4:CD48 の抑制系作用に作用すると考えられる PBMC の細胞内 SAP(SH2D1A) 検出のため、HLA-tetramer 試薬、CD8 抗体で染色後、SAP 抗体を用いて細胞内 SAP を染色し、フローサイトメトリー法で測定した。

【結 果】

1) CD8+T 細胞全体における 2B4 発現頻度は、HTLV-1 感染者 (ATL 患者およびキャリア) において、健常ヒトより有意に高値であった。ATL 患者とキャリア間には有意な差はなかった。

2) 2B4 は主に terminally defferentiated memoryT 細胞 (T_{TDEM}) 上に発現し、ATL 患者、キャリア、及び健常ヒトいずれの群でも著明に発現がみられた。naïve T 細胞で ATL 患者およびキャリアに比べて、健常ヒトでの発現は有意に高値であるがその発現は 10%以下であった。

3) HLA-A*0201 および HLA-A*2402 の対象者では、HLA tetramer 試薬を用いて、2B4 発現を検討したが、ATL 患者でもキャリアでも高い発現率を認め、両者間には有意の差はみとめなかった。また、二つの HLA 間にも有意の差はみとめなかった。

4) 2B4 の発現は、ATL 患者および HTLV-1 キャリア両グループともに、HTLV-1 特異的 CD8 細胞において全 CD8 細胞より有意に陽性頻度が高値であった。

5) HLA-A*0201 および HLA-A*2402 の対象者では、HLA tetramer 試薬を用いて、2B4 発現を検討したが、ATL 患者でもキャリアでも高い発現率を認め、両者間には有意の差はみとめなかった。また、二つの HLA 間にも有意の差はみとめなかった。

6) HTLV-1Tax ペプチド存在下で、CD48 抗体添加により HTLV-1 特異的 CD8 細胞の CD107a 発現は有意に亢進した。同時にパーフォリンの発現も有意に増加した。

7) SAP の発現レベルは、全 CD8 細胞では、ATL 患者やキャリアにおいて有意の差はみとめなかった。しかしながら、HTLV-1 特異的 CD8 細胞においては ATL 患者でもキャリアでも全 CD8 細胞よりも有意に高値であった。

【結論及び考察】

申請者の研究結果からは、2B4 分子は ATL 患者およびキャリア全 CD8 細胞において健常ヒトより高頻度に発現しており、且つ、HTLV-1 特異的 CD8 細胞でより高い発現を示していた。このことは、2B4 系が HTLV-1 の病態と何らかの関連性をもつことを推測させる。2B4 の発現は、naïve memory T 細胞より、terminally differentiated memory T 細胞での発現がより高値であることより、既に抗原に曝され一旦活性化した CD8 細胞に高く発現することも、病態との関連性を示唆している。他方、2B4 のリガンドである CD48 の CD4 細胞における発現については、健常ヒト CD4 に比べると MFI が低下していたが、2B4:CD48 系を特異抗体でブロックすると、HTLV-1 特異的 CD8 細胞の活性化を表す CD107a 発現が亢進したことより、in vivo でも CD4 上の CD48 発現の低下を凌駕する CD8 上の 2B4 発現と機能の亢進が、HTLV-1 感染で引き起こされるものと考えられる。本研究では、更に 2B4 以下の経路に SAP が関与する可能性も本研究で示すこともできた。

以上より、ウイルス HTLV-1 感染が幼少時に起き、高齢になるまで長期に経過し、ウイルス感染から脱却できない免疫寛容機構のひとつとして、感染細胞からの CD48 刺激と、ウイルスに対応すべき特異的 CD8 細胞および全 CD8 細胞において、2B4 : CD48 系の作動による免疫抑制調節機構が作動しているものと考えられる。難治性である ATL の発症予防や治療法の今後の展望として、このような免疫抑制系を解除する治療、例えば CD48 抗体の臨床応用が大きな可能性として考えられる。

(PLOS one, 2014, February, 掲載予定)