TITLE:

Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Iwai, Yoshiko

CITATION:

Iwai, Yoshiko. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. 京都大学, 2002, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2002-03-25

URL:

http://hdl.handle.net/2433/149712

RIGHT:

京都大学学術情報リポジトリ
KURENAI 紅
Kyoto University Research Information Repository

氏　　名	岩井佳子（いわい よしこ）
学位(専攻分野)	博　士（医　学）
学位記番号	医　博　第2482号
学位授与の日付	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科分子医学系専攻
学位論文題目	Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation （免疫抑制受容体PD-1に対するリガンド新規B7ファミリー分子の単離とリンパ球活性化の抑制機構に関する研究）
論文調査委員	（主　査） 教授 湊　長博　教授 坂口志文　教授 本庶　佑

論文内容の要旨

PD-1は細胞内領域にITIMモチーフを有する免疫抑制受容体で，活性化T細胞，B細胞，骨髄細胞に発現する。PD-1欠損マウスは末梢寛容の破綻をきたし，lupus様の糸球体腎炎や関節炎など多彩な自己免疫症状を示す。PD-1による免疫調節機構がいつ，どのような場所で行われているかを明らかにするために，PD-1に対するリガンドの同定を試みた。

PD-1はCTLA-4と相同性を有することから，PD-1に対するリガンドはB7様分子であるという仮説のもと，B7 homologyに基づいたdatabaseの検索により，マウスとヒトのPD-1に対するリガンド（PD-L1）を同定した。human PD-L1はB7-H1と同一分子であった。PD-Llはアミノ酸配列上B7-1と21%，B7-2と20%，ICOSのリガンドと23%の相同性を示した。

PD-L1とPD-1の特異的な結合はflow cytometryとBIACOREによるbinding assayによって確かめられた。flow cytometryでCHO/PD-L1発現細胞株はPD-1-Ig蛋白質と特異的に結合し，CTLA-4-Ig, CD28-Ig, ICOS-Igとは結合しなかった。BIACORE assayでは可溶性PD-L1-Igはチップ上に固定されたCTLA-4-Igとは結合せず，PD-1-Igとのみ結合し，この結合は可溶性PD-1-Ig存在下でblockされた。

Northern blotによる解析では，PD-L1はインターフェロンγにより刺激されたヒト末梢血単球，マウスとヒトの活性化した樹状細胞などの抗原提示細胞上に発現し，肺や心臓などの非リンパ性組織においても強い発現がみられた。

PD-1/PD-L1相互作用の機能を解析するために，野生型マウスとPD-1欠損マウスのT細胞を抗CD3抗体のみと抗CD3抗体＋PD-L1-Ig存在下で培養し，^{3}H-thymidine取込を測定したところ，野生型T細胞ではPD-L1-Ig存在下でT細胞の増殖が抑制されたが，PD-1欠損T細胞ではこの抑制がみられなった。同様にヒトT細胞においてもPD-1/PD-L1相互作用はCD3を介したT細胞の増殖を抑制し，IFN-γ，IL-10などのサイトカイン産生を抑制した。

さらにPD-1を介したシグナルとTCRおよびCD28を介したシグナルの関係を調べるために，ヒトCD4＋T細胞を抗CD3抗体と抗CD28抗体の濃度を変化させ，PD-L1-Igの存在下と非存在下でT細胞増殖を比較した。PD-1/PD-L1によるT細胞増殖に対する抑制効果はCD3あるいはCD28を介した刺激が強くなるにつれてみられなくなった。

以上の結果から，PD-1/PD-L1相互作用はTCRを介したT細胞増殖，サイトカインの産生を抑制し，その抑制効果はTCR, CD28/B7を介する刺激の強さに影響されることが示された。従ってPD-L1による抑制性シグナルとB7-1，B7-2からの共刺激シグナルの相対的なバランスがT細胞の活性化レベルや末梢寛容／自己免疫の閾値の決定に関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

PD-1は細胞内領域にITIMモチーフを有する免疫抑制受容体で，活性化T細胞，B細胞，骨髄細胞に発現する。PD-1欠損マウスは末梢寛容の破綻をきたし，多彩な自己免疫症状を示す。PD-1による免疫調節機構を明らかにするために，

PD-1に対するリガンドの同定を試みた。

PD-1はCTLA-4と相同性を有することから，B7 homologyに基づいたdatabaseの検索により，マウスとヒトのPD-1に対するリガンド（PD-L1）の候補を推定した。PD-L1を発現させたCHO細胞とPD-1-Ig蛋白質を用いて両者の特異的な結合をFACS解析により確認した。さらにPD-1とPD-L1の特異的結合はBIAcoreによっても確かめられた。PD-L1はT細胞の増殖を抑制し，IFN-γ，IL-10などのサイトカイン産生を抑制した。PD-L1による抑制効果はPD-1欠損T細胞では見られなかった。PD-1/PD-L1による抑制効果はCD3あるいはCD28を介した活性化と拮抗した。PD-L1は活性化した抗原提示細胞上に発現し，肺や心臓などの非リンパ性組織においても恒常的に強い発現が見られた。

以上の結果から，PD-L1による抑制性シグナルとB7-1，B7-2からの共刺激シグナルの相対的なバランスがT細胞の活性化レベルや末梢寛容／自己免疫の閾値の決定に関与することが示唆された。

以上の研究は免疫反応の制御機構の解明に貢献し，自己免疫疾患の病態解明に寄与することが期待される。したがって，本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお，本学位授与申請者は，平成14年2月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け，合格と認められたものである。