

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名 : (日本語) 免疫抑制性受容体 TIGIT 阻害活性を有する小分子化合物の開発研究
(英語) Development of small compounds which suppress an inhibitory receptor TIGIT
- 研究開発担当者 所属 役職 氏名 : (日本語) 国立大学法人京都大学ウイルス・再生医科学研究所・客員教授・松岡雅雄
(英語) Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University, Professor, Masao Matsuoka
- 実施期間 : 平成 28 年 5 月 25 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 : (日本語) TIGIT:CD155 結合阻害活性を有する小分子化合物スクリーニングおよび抑制性受容体の発がん機構における意義に関する研究
開発課題名 (英語) Screening for the inhibitors of TIGIT:CD155 interaction and analysis of oncogenic mechanisms associated with the inhibitory receptors
- 研究開発代表者 所属 役職 氏名 : (日本語) 国立大学法人京都大学ウイルス・再生医科学研究所・客員教授・松岡雅雄
(英語) Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University, Visiting Professor, Masao Matsuoka
- 分担研究 : (日本語) 免疫抑制性分子 (TIGIT、PD-1) を介した HTLV-1 感染細胞の増殖抑制シグナル阻害メカニズムに関する研究
開発課題名 (英語) Molecular mechanisms for suppression of signaling through the inhibitory receptors, such as TIGIT and PD-1, expressed on HTLV-1-infected cells
- 研究開発分担者 所属 役職 氏名 : (日本語) 国立大学法人京都大学ウイルス・再生医科学研究所・講師・安永純一郎
(英語) Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University, Lecturer, Jun-ichirou Yasunaga

分担研究 : (日本語) TIGIT:CD155 結合阻害剤の探索のためのスクリーニング支援とリード化合物の構造最適化

開発課題名 (英語) Support for screening experiments and lead optimization for development of TIGIT:CD155 inhibitor

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人京都大学大学院薬学研究科・准教授・大石 真也

所属 役職 氏名 : (英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Associate professor, Shinya Oishi

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

研究開発代表者、松岡雅雄教授（京都大学ウイルス・再生医科学研究所）は、研究開発分担者、大石真也准教授（京都大学大学院薬学研究科）と共に免疫抑制性受容体 TIGIT 阻害活性を有する小分子化合物のスクリーニング及び候補化合物の阻害活性確認実験を進めている。H28年度は、効率よく候補化合物を同定できる細胞ベースのスクリーニング系を確立し、京都大学薬学研究科が保有する約 4 万化合物からなるライブラリー化合物のうち、既知阻害剤ライブラリーと構造多様性を指向したドラッグライク化合物ライブラリー（約 10,000 化合物）のスクリーニングを完了した。これまでに数種類のヒット化合物を得ている。

研究開発分担者、安永純一朗講師（京都大学ウイルス・再生医科学研究所）は HTLV-1 感染細胞に高発現する TIGIT の細胞増殖抑制シグナルが阻害される分子機構について、松岡雅雄研究開発代表者と共に解析を行った。平成 28 年度は HBZ が複数の免疫抑制性受容体（TIGIT、PD-1、BTLA、LAIR-1）シグナルを 2 種類の異なる機構で抑制することで TCR シグナルの感受性を高め、T 細胞の増殖を促進することを明らかにした。HBZ は BTLA と LAIR-1 の発現を抑制することにより、T 細胞の増殖を促進させる。TIGIT と PD-1 に関しては、HBZ が発現を亢進させるがその抑制機能を阻害し、T 細胞の増殖を促進する。これらの免疫抑制性受容体は細胞内に共通して、チロシンフォスファターゼである SHP-2 が結合するモチーフ（ITIM、ITSM モチーフ）を有している。通常、これらのモチーフに結合した SHP-2 はリン酸化により活性化され、TCR 下流シグナル分子を脱リン酸化することで T 細胞の活性を抑制する。しかし、HBZ は SHP-2 の活性および TCR 下流シグナル分子の脱リン酸化を抑制することが明らかとなった。また、通常 SHP-2 は Grb2 や THEMIS と複合体を形成し免疫抑制性受容体と結合するが、HBZ は THEMIS と結合することで SHP-2 と免疫抑制性受容体との結合を阻害することも明らかとなった。さらに、これまで HBZ は主に核に局在し、宿主の転写因子や p300 などの転写コファクターと相互作用することが報告されてきた。本研究では、THEMIS が HBZ と結合し、その局在を核から細胞質に変化させることで HBZ が細胞質において免疫抑制性受容体の機能を阻害することを明らかにした。また、THEMIS を発現抑制すると HBZ が主に核に局在したことから、THEMIS が T 細胞において HBZ の局在を変化させる責任分子であることが明らかになった。THEMIS は T 細胞特異的に発現する分子として知られており、本研究で明らかにした HBZ と THEMIS との相互作用は、HBZ が T 細胞特異的に増殖を促進する機構の一つであると考えられる。本研究結果は PLoS Pathogens 誌に掲載された（Kinosada H, Yasunaga JI, Shimura K, Miyazato P, Onishi C, Iyoda T, Inaba K, Matsuoka M. HTLV-1 bZIP Factor Enhances T-Cell Proliferation by Impeding the Suppressive Signaling of Co-inhibitory Receptors. PLoS Pathog, 13(1):e1006120, 2017.）。

英文

Professor Masao Matsuoka (Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University) and associate professor Shinya Oishi are proceeding the screening of inhibitors of TIGIT:CD155 interaction. In this year, the cell-based ELISA, which can efficiently identify candidate compounds, was established. Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, provided more than 10,000 compounds, which target well-defined molecules or have drug-like structures. Screening was carried out, and several hit compounds were identified.

Lecturer Jun-ichirou Yasunaga and Professor Matsuoka analyzed the molecular mechanisms for suppression of signaling through TIGIT and PD-1 in HTLV-1-infected cells. First, it was found that HBZ targets various co-inhibitory receptors by two different mechanisms, and enhances proliferation of HTLV-1-infected cells. One mechanism is downregulation of some co-inhibitory receptors, BTLA and LAIR-1. The other is impaired suppressive function of some co-inhibitory receptors, TIGIT and PD-1.

These co-inhibitory receptors possess SHP-2 binding motifs, ITIM or ITSM. It was found that HBZ interfered SHP-2 binding to these motifs and impaired the function of SHP-2 that deactivates TCR signaling. HBZ inhibited this binding by interacting with THEMIS, which forms a complex with Grb2 and SHP-2. In general, THEMIS is localized in the cytoplasm, whereas it has been reported that HBZ is localized in the nucleus. Interestingly, THEMIS changed the localization of HBZ from nucleus to cytoplasm when both proteins were co-expressed. Thus, HBZ functions in both nucleus and cytoplasm. Since THEMIS is expressed only in T-lineage cells, these findings suggest that interaction between HBZ and THEMIS accounts for how HTLV-1 induces proliferation of only T cells in vivo. This study was published in PLoS Pathogens (Kinosada H, Yasunaga JI, Shimura K, Miyazato P, Onishi C, Iyoda T, Inaba K, Matsuoka M. HTLV-1 bZIP Factor Enhances T-Cell Proliferation by Impeding the Suppressive Signaling of Co-inhibitory Receptors. PLoS Pathog, 13(1):e1006120, 2017.).

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2件、国際誌 5件)

1. Sugata K, Yasunaga JI, Miura M, Akari H, Utsunomiya A, Nosaka K, Watanabe Y, Suzushima H, Koh

- KR, Nakagawa M, Kohara M, Matsuoka M. Enhancement of anti-STLV-1/HTLV-1 immune responses through multimodal effects of anti-CCR4 antibody. *Sci Rep*. 2016, 6, 27150.
2. Sugata K, Yasunaga JI, Kinoshita H, Mitobe Y, Furuta R, Mahgoub M, Onishi C, Nakashima K, Ohshima K, Matsuoka M. HTLV-1 Viral Factor HBZ Induces CCR4 to Promote T-cell Migration and Proliferation. *Cancer Res*. 2016, 76, 5068-5079.
 3. Kinoshita H, Yasunaga JI, Shimura K, Miyazato P, Onishi C, Iyoda T, Inaba K, Matsuoka M. HTLV-1 bZIP Factor Enhances T-Cell Proliferation by Impeding the Suppressive Signaling of Co-inhibitory Receptors. *PLoS Pathog*. 2017, 13, e1006120.
 4. 安永純一郎、松岡雅雄. HTLV-1 プロウイルスマイナス鎖にコードされる HBZ による病原性発現機構. *血液フロンティア*. 2016, 26, 513-520.
 5. 古田梨愛、松岡雅雄. ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の感染特異性. *医学のあゆみ*. 2016, 257, 317-318.
 6. Noguchi T, Ishiba H, Honda K, Kondoh Y, Osada H, Ohno H, Fujii N, Oishi S. Synthesis of Grb2 SH2 domain proteins for mirror-image screening systems. *Bioconjug. Chem*. 2017, 609-619.
 7. Ishiba H, Noguchi T, Shu K, Ohno H, Honda K, Kondoh Y, Osada H, Fujii N, Oishi S. Investigation of the inhibitory mechanism of apomorphine against MDM2-p53 interaction. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2017, 27 2571-2574.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Transient expression of human T-cell leukemia virus type 1 Tax is essential for proliferation of leukemic cells, 口頭, Mahgoub, M., Yasunaga, JI., Matsuoka, M. The 23rd East Asia Joint Symposium. Taiwan. October 18-20, 2016, 国外.
2. Hematopoietic Stem Cell Infected with HTLV-1 Functions As a Viral Reservoir In Vivo, ポスター, Yasunaga, JI., Furuta, R., Miura, M., Sugata, K., Saito, A., Akari, H., Shimizu, M., Matsuda, F., Ueno, T., Takenouchi, N., Fujisawa, J., Melamede, A., Bangham, CR., Matsuoka, M. 58th ASH Annual Meeting and Exposition, San Diego, December 3-6, 2016, 国外.
3. Functional Impairment of Co-Inhibitory Receptors Promotes T-Cell Proliferation in HTLV-1 Associated Adult T-Cell Leukemia Cells, ポスター, Kinoshita, H., Yasunaga, JI., Shimura, K., Matsuoka, M. 58th ASH Annual Meeting and Exposition, San Diego, December 3-6, 2016, 国外.
4. ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の生き残り戦略と病原性, 口頭, 松岡雅雄. 京都血液疾患フォーラム、 京都、2016 年 8 月 5 日, 国内.
5. ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の病原性発現機構, 口頭, 松岡雅雄. 第 56 回日本リンパ網内系学会総会、熊本、2016 年 9 月 1-3 日, 国内.
6. ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の生き残り戦略と病原性 移植との関連, 口頭, 松岡雅雄. 第 4 回北海道感染免疫アカデミー、札幌、2016 年 9 月 16 日, 国内.
7. 白血病・リンパ腫とウイルス, 口頭, 松岡雅雄. 第 57 回日本内科学会九州支部生涯教育講演会、熊本、2016 年 11 月 20 日, 国内.
8. HTLV-1 bZIP factor に対する細胞傷害性 T リンパ球の誘導と治療効果, 口頭, 安永純一郎、松岡

- 雅雄, 第 12 回血液学若手研究者勉強会(麒麟塾)、東京都、2016 年 7 月 2 日, 国内.
9. ATL における網羅的遺伝子プロファイルが予後に与える影響の解析, 口頭, 越智陽太郎、片岡圭亮、永田安伸、北中明、安永純一郎、岩永正子、野坂生郷、糸永英弘、今泉芳孝、幣光太郎、宮崎泰司、高折晃史、下田和哉、松岡雅雄、渡邊俊樹、小川誠司. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26–29 日, 国内.
 10. ATL および T 細胞リンパ腫における遺伝子変異プロファイルの解析, ポスター, 綿谷陽作、佐藤康晴、西田賢司、三好寛明、永田安伸、北中明、白石友一、高折晃史、宮野悟、松岡雅雄、渡邊俊樹、下田和哉、大島孝一、吉野正、小川誠司、片岡圭亮. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26–29 日, 国内.
 11. ATL 細胞における Tax の一過性発現とその意義, 口頭, 安永純一郎、Mohamed Mohamed、松岡雅雄. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26–29 日, 国内.
 12. 血液系細胞における HTLV-1 感染とその意義, 口頭, 古田梨愛、安永純一郎、三浦未知、菅田謙治、齊藤暁、明里宏文、上野孝治、竹之内徳博、藤澤順一、清水正和、松田文彦、Melamed Anat、Charles Bangham、松岡雅雄. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26–29 日, 国内.
 13. HBZ-Tg マウスモデルにおける ATL 癌幹細胞の発生機序解明を目指した分子基盤の解明とその機能解析, ポスター, 栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、浅田善久、岩間厚志、松岡雅雄、濱口功. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26–29 日, 国内.
 14. HTLV-1 bZIP factor は共抑制分子の機能を阻害し T 細胞の増殖を促進する, ポスター, 紀ノ定明香、安永純一郎、松岡雅雄. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26–29 日, 国内.
 15. HTLV-1 bZIP factor promotes T-cell proliferation by impairing the suppressive function of co-inhibitory receptors, 口頭, Kinosada, H., Yasunaga, JI., Shimura, K., and Matsuoka, M. 第 15 回あわじしま感染症・免疫フォーラム、兵庫県、2016 年 9 月 6–9 日, 国内.
 16. Transient expression of HTLV-1 transactivator Tax is essential for survival of adult T-cell leukemic cells, ポスター, Mahgoub, M., Yasunaga, JI., Furuta, R., and Matsuoka, M. 第 15 回あわじしま感染症・免疫フォーラム、兵庫県、2016 年 9 月 6–9 日, 国内.
 17. Prognostic Relevance of Integrated Molecular Profiling in Adult T-cell Leukemia / lymphoma, 口頭, Ochi, Y., Kataoka, K., Nagata, Y., Kitanaka, A., Yasunaga, JI., Iwanaga, M., Shiraiishi, Y., Chiba, K., Sato-Otsubo, A., Sanada, M., Tanaka, H., Suzuki, H., Sato, Y., Shiozawa, Y., Yoshizato, T., Yoshida, K., Nosaka, K., Hishizawa, M., Imaizumi, Y., Hidaka, T., Nakamaki, T., Miyawaki, S., Tobinai, K., Miyazaki, Y., Takaori-Kondo, A., Shibata, T., Miyano, S., Shimoda, K., Matsuoka, M., Watanabe, T., and Ogawa, S. 第 75 回日本癌学会学術総会、横浜市、2016 年 10 月 6–8 日, 国内.
 18. Leukemogenesis by human T-cell Leukemia virus type 1 (HTLV-1), 口頭, Matsuoka, M., and Yasunaga, JI. 第 75 回日本癌学会学術総会、横浜市、2016 年 10 月 6–8 日, 国内.
 19. HBZ promotes proliferation of CD4+ T cells by interfering the suppressive function of co-inhibitory molecules, 口頭, Kinosada, H., Yasunaga, JI., and Matsuoka, M. 第 75 回日本癌学会学術総会、横浜市、2016 年 10 月 6–8 日, 国内.
 20. Transient expression episodes of HTLV-1 Tax are essential for survival of adult T-cell leukemic cells, 口頭, Mahgoub, M., Yasunaga, JI., and Matsuoka, M. 第 75 回日本癌学会学術総会、横浜市、2016

年 10 月 6–8 日, 国内.

21. Integrated genetic analysis of adult T-cell leukemia / lymphoma, 口頭, Kataoka, K., Nagata, Y., Kitanaka, A., Shiraishi, Y., Shimamura, T., Yasunaga, JI., Totoki, Y., Watanabe, T., Shibata, T., Matsuoka, M., Miyano, S., Shimoda, K., and Ogawa, S. 第 75 回日本癌学会学術総会、横浜市、2016 年 10 月 6–8 日, 国内.
22. Prognostic relevance of integrated molecular profiling in adult T-cell leukemia / lymphoma, 口頭, Ochi, Y., Kataoka, K., Nagata, Y., Kitanaka, A., Yasunaga, JI., Iwanaga, M., Shiraishi, Y., Sanada, M., Yoshizato, T., Yoshida, K., Nosaka, K., Hishizawa, M., Itonaga, H., Imaizumi, Y., Munakata, W., Shide, K., Kubuki, Y., Hidaka, T., Kameda, T., Nakamaki, T., Ishiyama, K., Miyawaki, S., Tobinai, K., Miyazaki, Y., Takaori-Kondo, A., Shibata, T., Miyano, S., Matsuoka, M., Shimoda, K., Watanabe, T., and Ogawa, S. 第 78 回日本血液学会学術集会、横浜市、2016 年 10 月 13–15 日, 国内.
23. Comparative mutational profiling of ATL and other PTCLs, 口頭, Watatani, Y., Sato, Y., Nishida, K., Miyoshi, H., Nagata, Y., Kitanaka, A., Shide, K., Shiraishi, Y., Chiba, K., Tanaka, H., Yoshizato, T., Yoshida, K., Sanada, M., Miyazaki, Y., Takaori-Kondo, A., Shibata, T., Miyano, S., Matsuoka, M., Watanabe, T., Shimoda, K., Ohshima, K., Yoshino, T., Ogawa, S., and Kataoka, K. 第 78 回日本血液学会学術集会、横浜市、2016 年 10 月 13–15 日, 国内.
24. HTLV-1 infects multi-lineage hematopoietic cells in vivo, 口頭, Furuta, R., Yasunaga, JI., Miura, M., Saito, A., Akari, H., Ueno, T., Takenouti, N., Fujisawa, J., Shimizu, M., Matsuda, F., Melamed, A., Bangham, C., and Matsuoka, M. 第 78 回日本血液学会学術集会、横浜市、2016 年 10 月 13–15 日, 国内.
25. Transient expression of HTLV-1 Tax is important in latency and survival of HTLV-1-infected cells, 口頭, Yasunaga, JI., Mahgoub, M., Shimura, K., and Matsuoka, M. 第 64 回 日本ウイルス学会学術集会、札幌市、2016 年 10 月 23–25 日, 国内.
26. HBZ promotes proliferation of CD4+T cells by impairing the suppressive signal from co-inhibitory molecules, 口頭, Kinosada, H., Yasunaga, JI. and Matsuoka, M. 第 64 回 日本ウイルス学会学術集会、札幌市、2016 年 10 月 23–25 日, 国内.
27. 化学合成タンパク質を利用した c-Src SH2 ドメイン阻害剤の探索法の開発, ポスター, 周敬棠, 大石真也, 野口太朗, 大野浩章, 藤井信孝, 日本ケミカルバイオロジー学会第 11 回年会, 2016/6/15, 国内
28. MDM2 タンパク質の化学合成と天然物の鏡像体化合物群からの医薬品探索への応用, ポスター, 野口太朗, 大石真也, 本田香織, 近藤恭光, 斎藤臣雄, 大野浩章, 長田裕之, 藤井信孝, 第 36 回有機合成若手セミナー, 2016/8/9, 国内
29. 化学合成タンパク質を利用した c-Src SH2 ドメイン阻害剤の探索法の開発, 口頭, 周敬棠, 野口太朗, 藤井信孝, 大野浩章, 大石真也, 第 66 回日本薬学会近畿支部大会, 2016/10/15, 国内
30. Development of Screening Systems for c-Src SH2 Domain Inhibitors Using Synthetic Proteins, ポスター, Keitou Shu, Taro Noguchi, Nobutaka Fujii, Hiroaki Ohno, Shinya Oishi, 第 53 回ペプチド討論会, 2016/10/26, 国内
31. Development of a screening system for Grb2 SH2 domain inhibitors using synthetic proteins, ポスター, Taro Noguchi, Hiroyuki Ishiba, Kaori Honda, Yasumitsu Kondoh, Hiroaki Ohno, Hiroyuki Osada,

Nobutaka Fujii, Shinya Oishi, 第 53 回ペプチド討論会, 2016/10/26, 国内

32. 鏡像体タンパク質を利用した c-Src SH2 ドメイン阻害剤の探索法の開発, 口頭, 周敬棠, 野口太朗, 本田香織, 近藤恭光, 長田裕之, 大野浩章, 藤井信孝, 大石真也, 日本薬学会第 137 回年会, 2017/3/25, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当無し

(4) 特許出願
該当無し