

アダプター分子に好塩基球由来のアレルギーを強める機能を発見

～アレルギー治療薬開発への貢献に期待～

ポイント

- ・アレルギー反応の一端を担う好塩基球とマスト細胞への、STAP-2 と呼ばれるタンパク質の影響を比較。
- ・STAP-2 欠損好塩基球では、アレルゲンを感知する受容体の反応が弱まり、炎症が抑制された。
- ・好塩基球が関わるアレルギー疾患の新しい治療薬開発に期待。

概要

北海道大学大学院薬学研究院の柏倉淳一講師・松田 正教授らの研究グループは、アダプター分子*¹である STAP-2 が、IgE*²に依存する刺激を受けた際にアレルギー炎症反応（好塩基球*³活性化応答）を増強させるという新たな機能を見出しました。

アレルギーは花粉などのアレルギー原因物質（アレルゲン）に対する過剰な免疫応答が起こることにより発症する疾患で、近年、先進国で大きな問題になっています。特に花粉症や食物アレルギーに代表される即時型アナフィラキシー反応は生命を脅かす恐れがあるため、その病態解明や新しい治療方法の開発が急務です。

アレルギーは、細胞表面の IgE（抗体）がアレルゲン（抗原）と結びつくことで生じますが、IgE と細胞を接続する役目を果たす高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) *⁴ は、好塩基球やマスト細胞*⁵ の両方の表面に発現しています。好塩基球とマスト細胞は異なる機能をもつことが報告されていますが、このような機能の違いがどのようなメカニズムで、どの分子により決定されるかは、これまで解明されていませんでした。

今回、研究グループは、好塩基球内のアダプタータンパク質「STAP-2」が、IgE 受容体依存性刺激を受けた後に好塩基球の活性化応答を増強する分子であることを見出しました。好塩基球とマスト細胞についてそれぞれ STAP-2 を欠損させて比較したところ、IgE シグナルを介したアレルギー応答が STAP-2 欠損好塩基球のみで弱まり、好塩基球依存性の反応である生体内炎症反応が STAP-2 欠損マウス*⁶で抑制されました。本研究は STAP-2 のアレルギー疾患に対する新たな役割を発見したものであり、アレルギー疾患の新しい治療薬の開発に繋がります。

なお、本研究成果は、英国時間 2019 年 2 月 6 日（水）公開の International Immunology 誌に掲載されました。

【背景】

アレルギーは、本来であれば外来の病原体を排除しようとする免疫システムが、種々の要因により過剰に働いてしまう反応です。国民病ともいえる花粉症を始め、現在、日本国民の2人に1人は何らかのアレルギーを持っていると言われています。これらのアレルギー反応は、抗体の一種であるIgE抗体タンパク質と免疫細胞の仲間であるマスト細胞によって起こりますが、別の免疫細胞である好塩基球も重要な役割を果たすことが知られています。

好塩基球やマスト細胞は、細胞表面に高親和性IgE受容体(FcεRI)を発現しています。例えば、細胞表面のFcεRIに結合しているIgE抗体に、新たに侵入した花粉などのアレルゲンが結合すると、好塩基球やマスト細胞は活性化し脱顆粒反応^{*7}やサイトカイン^{*8}産生が誘導され、アレルギー炎症が引き起こされます。このように好塩基球はマスト細胞と同じ受容体を発現し機能も類似点が多いこと、さらに血中には1%程度しか存在しないことや好塩基球を欠損したマウスがいなかったことから、好塩基球の重要性はあまり調べられていませんでした。しかし近年、好塩基球の同定方法の確立や好塩基球のみ欠損する遺伝子改変マウスの作製が成功したことなどから、好塩基球を標的とした研究が盛んに行われ、好塩基球がマスト細胞とは異なる機能を有していることが明らかとされました。しかし、好塩基球とマスト細胞との機能の違いにどのようなメカニズムや分子が関わっているかは不明でした。

Signal-Transducing Adaptor Protein-2 (STAP-2) は、柏倉講師らの研究室が同定したアダプター分子で、これまでの研究でSTAP-2がFcεRIを介したマスト細胞活性化を減らす分子であることが明らかとなっています。一方、同じ受容体を発現する好塩基球に対してSTAP-2がどのように働くかは解明されておらず、アレルギー疾患の新規治療薬開発を進めるためには好塩基球活性化応答に対するSTAP-2の機能を調べる必要がありました。

【研究手法】

本研究では、好塩基球への分化（元となる細胞が好塩基球へと変化すること）及びFcεRIを介した活性化反応に対するSTAP-2の機能を調べました。好塩基球への分化に対するSTAP-2の影響を調べるために、野生型及びSTAP-2欠損マウスから細胞を回収し、好塩基球数及び割合を計測しました。また骨髄細胞を用いて試験管内で骨髄由来培養好塩基球を作製し、細胞数、割合及び好塩基球特異的プロテアーゼ^{*9}発現量を測定しました。好塩基球活性化反応に対するSTAP-2の機能は、脱顆粒反応やIL-4^{*10}/IL-6^{*11}産生などの試験管内評価、さらにはマウスを用いた生体内評価を指標として解析しました。

【研究成果】

マウス生体内での好塩基球数を調べたところ、野生型とSTAP-2欠損マウス間で好塩基球数は同程度でした。また血中の好塩基球細胞表面上のFcεRI発現をフローサイトメトリー法^{*12}で解析したところ、両マウス群で相違は見られませんでした。

次に試験管内での評価を行うため、骨髄由来培養好塩基球（Bone marrow-derived cultured basophil; BMB）を用いました。マウス骨髄細胞を細胞増殖因子であるIL-3存在下で9日間培養すると、BMB集団を得ることができます。始めに、得られたBMB集団の割合をフローサイトメトリー法で解析したところ、野生型マウスから作製したBMB（以下WT BMB）とSTAP-2欠損マウスから作製したBMB（以下STAP-2欠損 BMB）間で割合に差異は見られませんでした。さらに発現量、好塩基球特異的プロテアーゼであるMcpt-8及びMcpt-11の発現量もこれら両群間で同じ程度であるこ

とがわかりました。以上の結果から、STAP-2 は好塩基球の分化には影響を与えないことが示されました。

そこで次に FcεRI を介した好塩基球活性化反応に対する STAP-2 の機能を調べるために、作製した BMB を用いて解析しました。WT 及び STAP-2 欠損 BMB を用いて調べた結果、FcεRI 依存性好塩基球脱顆粒反応が STAP-2 欠損 BMB で有意に低下していました。また、別の好塩基球活性化指標である IL-4 や IL-6 産生に関しても同様に STAP-2 欠損 BMB でそれらの産生量の減少が観察され、これらの結果から STAP-2 は好塩基球活性化応答を増加させることが示されました。さらなる分子機構の解明を行うため FcεRI 下流シグナルの変化を調べたところ、FcεRI 受容体直下のチロシンリン酸化酵素 Lyn の活性化及びその下流シグナル分子である PLC-γ2 のリン酸化反応が STAP-2 欠損 BMB で有意に弱まっていることが観察されました (図 1)。

最後に生体内好塩基球活性化反応における STAP-2 の機能を調べたところ、STAP-2 欠損マウスでは FcεRI 依存性好塩基球活性化反応が野生型マウスと比較して有意に抑制されていることが見られました (図 2)。以上の結果から、STAP-2 は好塩基球において FcεRI を介したシグナル伝達に関与することで、好塩基球活性化反応を調節する分子であることがわかりました。

【今後への期待】

本研究で、マスト細胞と好塩基球との機能の違いに STAP-2 が関与していることがわかりました。また、好塩基球に依存したアレルギー反応では STAP-2 を標的とした新規アレルギー治療薬が有効である可能性が示唆されました。今後、STAP-2 を標的とした新規治療薬の開発が進むことが期待されます。

論文情報

論文名	STAP-2 positively regulates FcεRI-mediated basophil activation and basophil-dependent allergic inflammatory reaction (STAP-2 は FcεRI 介在性好塩基球活性化及び好塩基球依存性アレルギー炎症反応を正に制御する)
著者名	柏倉淳一 ¹ , 山下慎介 ¹ , 吉原真梨 ¹ , 乾 恭輔 ¹ , 齋藤浩大 ¹ , 関根勇一 ² , 室本竜太 ¹ , 鍛代悠一 ¹ , 織谷健司 ³ , 松田 正 ¹ (¹ 北海道大学大学院薬学研究院, ² イエール大学医学部, ³ 国際医療福祉大学医学部)
雑誌名	International Immunology (免疫学の専門誌)
DOI	10.1093/intimm/dxz013
公表日	英国時間 2019 年 2 月 6 日 (水) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 講師 柏倉淳一 (かしわくらじゅんいち)

T E L 011-706-3920 F A X 011-706-4990 メール junkashi@pharm.hokudai.ac.jp

北海道大学大学院薬学研究院 教授 松田 正 (まつただだし)

T E L 011-706-3243 F A X 011-706-4990 メール tmatsuda@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/eisei/index.html>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimuhokudai.ac.jp

【参考図】

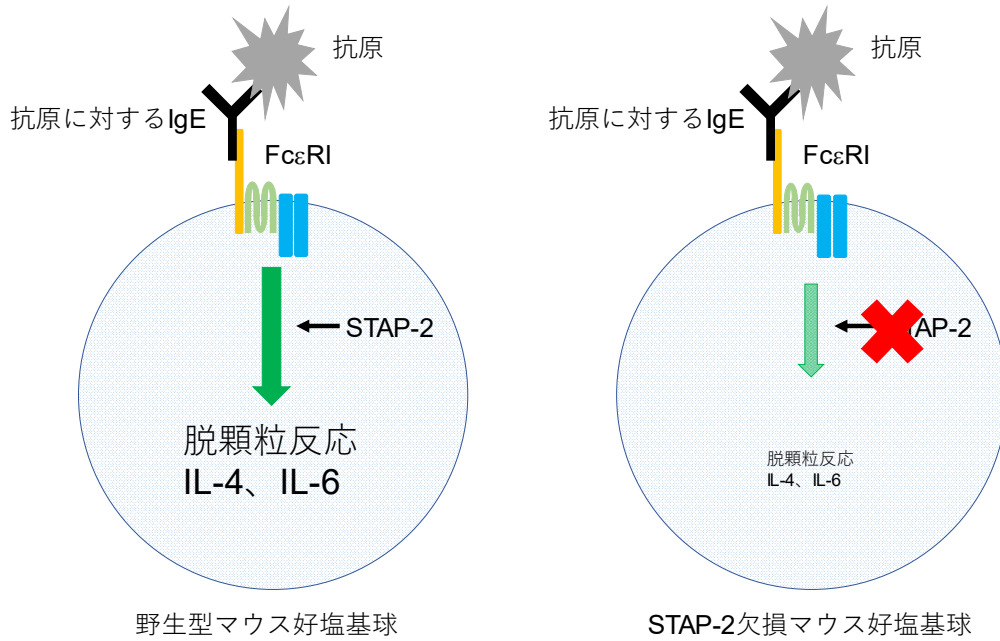


図 1. 抗原結合後の好塩基球活性化反応

野生型マウス好塩基球は抗原が結合すると活性化し、脱顆粒やサイトカイン（IL-4 及び IL-6）産生が起こる（左図）。しかし、STAP-2 が欠損するとそれらの反応が弱くなる（右図）

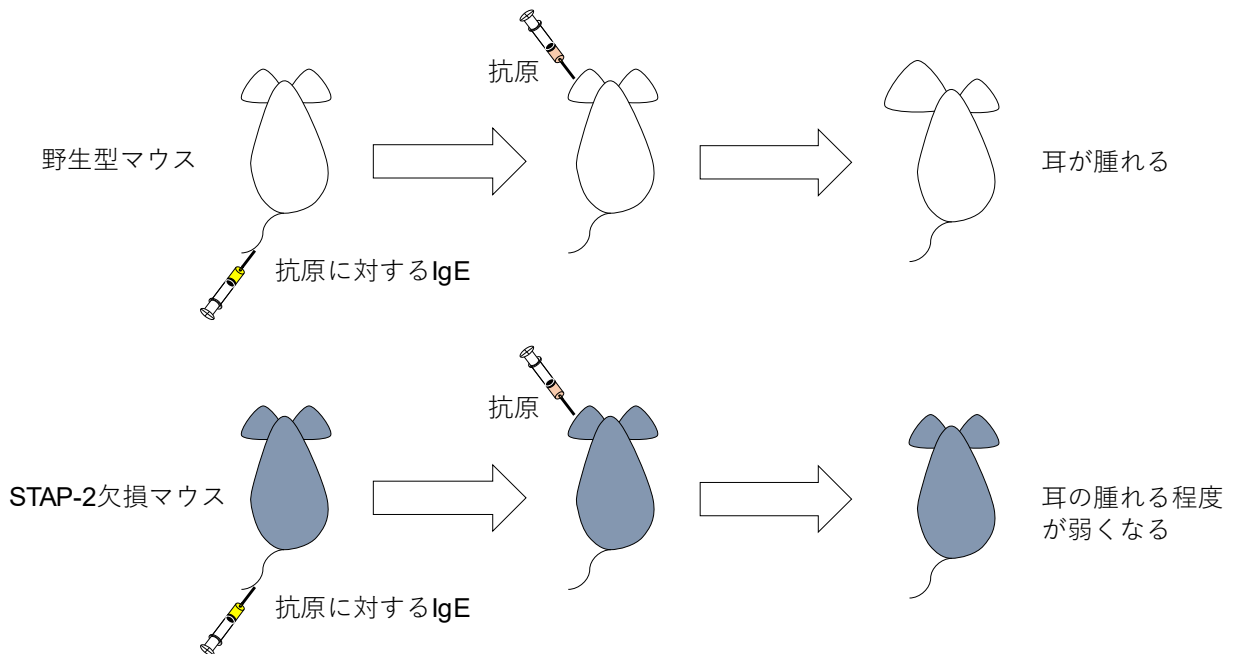


図 2. FcεRI 依存性好塩基球活性化反応マウスモデルによる STAP-2 の機能解析

野生型マウス（上段）及び STAP-2 欠損マウス（下段）に抗原に対する IgE を投与し、翌日抗原を耳に投与した。すると野生型マウスでは耳が腫れたが、STAP-2 欠損マウスでは腫れが抑えられた。

【用語解説】

- *1 アダプター分子 … 細胞内に存在するタンパク質の一種。複数のタンパク質に同時に結合する足場タンパク質として、細胞内シグナル伝達に関わる。
- *2 IgE … 免疫グロブリンの一つで、アレルギーに関わる分子。免疫の仕組みである抗原－抗体反応において、体内に入った抗原を体外へ排除する「抗体」として機能する。1966年に石坂公成博士らの研究グループにより発見された。
- *3 好塩基球 … 血液中に存在する顆粒球の一種。細胞の表面に、細胞と IgE を接続する役目を果たす高親和性 IgE 受容体を発現し、IgE 依存性アレルギー反応に関わる。
- *4 高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) … IgE が結合する受容体で、好塩基球やマスト細胞の細胞表面に発現する。
- *5 マスト細胞 … 好塩基球同様、細胞表面に高親和性 IgE 受容体を発現し、IgE 依存性アレルギー反応、特に即時型アナフィラキシー反応に関わる細胞。
- *6 STAP-2 欠損マウス … STAP-2 遺伝子がある場所を壊すことで、STAP-2 遺伝子発現を欠失しているマウス。
- *7 脱顆粒反応 … 好塩基球やマスト細胞が活性化した際、細胞内顆粒からヒスタミンなどの化学伝達物質が細胞外に放出される反応。放出されたヒスタミンなどは鼻水や鼻づまりなどのアレルギー症状を引き起こす。
- *8 サイトカイン … 細胞から分泌される液性タンパク質で、様々な生理活性作用を有する。
- *9 プロテアーゼ … タンパク質分解酵素の総称。
- *10 IL-4 … サイトカインの一種で好塩基球や T 細胞から分泌されるタンパク質であり、アレルギー反応の形成に重要な役割を果たす。
- *11 IL-6 … 炎症性サイトカイン。局所で産生されると、組織障害や炎症反応を引き起こす。
- *12 フローサイトメトリー法 … 細胞一つずつを流路に流し解析する方法。蛍光標識した抗体を細胞に結合させて解析することで、タンパク質発現を解析することもできる。