

T細胞を標的とした新たな阻害剤を開発

～自己免疫疾患の新たな治療薬開発への応用に期待～

ポイント

- ・免疫応答を担うT細胞内のSTAP-2と呼ばれるタンパク質を標的とする新規阻害剤の開発。
- ・本阻害剤の処理によるT細胞活性化と自己免疫疾患の増悪化抑制。
- ・新たな自己免疫疾患の新規治療薬開発に期待。

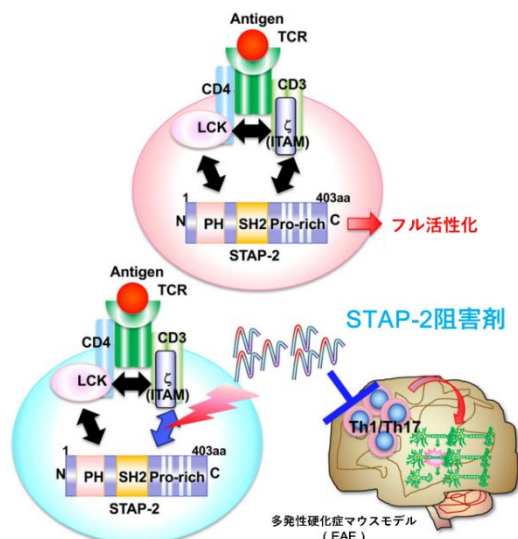
概要

北海道大学大学院薬学研究院の佐々木悠斗研究員、松田 正教授及び北海道科学大学の柏倉淳一教授らの研究グループは、アダプター分子*1であるSTAP-2を標的とした新たなT細胞阻害剤を開発し、本阻害剤が自己免疫疾患の病態を抑制する作用があることを見出しました。

通常ではヒトの体内に病原体が侵入した場合、免疫担当細胞が担う生体防御反応により排除されます。この反応にはT細胞が主要な役割を果たしており、T細胞の機能はT細胞受容体(TCR、T cell receptor)下流の信号伝達機構により、厳密に制御されています。何らかの原因によるT細胞異常活性化は自己免疫疾患の発症や重症化の原因であることから、TCRを介した信号伝達機構の解明及び制御が、免疫疾患を制御するためには重要です。

研究グループは以前、その信号伝達にはSTAP-2が重要な役割を果たすことを解明し、STAP-2がTCRを構成するタンパク質CD3 ζ と直接結合してその働きを強めることにより、T細胞活性化を促進することを見出しています。今回の研究ではその発見を応用し、STAP-2/CD3 ζ の結合阻害によってT細胞の機能を抑制するコンセプトのもと本阻害ペプチドを開発しました。その阻害ペプチドによってT細胞の機能が実際に抑制され、自己免疫疾患の病態も軽減されました。本阻害ペプチドをさらに最適化し、臨床への応用を進めることで、自己免疫疾患の新たな治療薬の開発が期待できます。

なお、本研究成果は、雑誌 The Journal of Immunology で2023年7月7日にオンライン公開されました。



本研究による新たな自己免疫疾患治療戦略

【背景】

新型コロナウイルスなどの病原体と戦うため、ヒトの身体には免疫系が存在します。身体に侵入した異物であるウイルスや細菌などへ対抗することを免疫応答といい、様々な免疫担当細胞が働きます。樹状細胞やマクロファージなどは、ウイルスや細菌を貪食・分解し、異物断片（抗原）を提示します。T細胞表面に存在するT細胞受容体（TCR）が抗原を認識すると、T細胞が活性化され、B細胞の抗体産生や感染細胞に対する細胞傷害活性を誘導します。これら一連の免疫反応により、異物が排除されます。

TCRはCD3タンパク質分子群（ γ 、 δ 、 ϵ 、 ζ ）など種々な蛋白と複合体を形成しています。一般的に、抗原認識によりTCR複合体に存在するリン酸化酵素LCKがCD3 ζ 分子内のITAMモチーフ*²のチロシン残基のリン酸化を誘導します。続いて、TCR下流信号分子群のチロシンリン酸化が起こり、T細胞増殖因子であるIL-2などの遺伝子発現を誘導するNF- κ BやNFAT等の転写因子が活性化されます。結果、IL-2産生やT細胞の増殖・活性化が起こり、異物に対する免疫反応が完成します。この過程で、TCRを介する信号伝達は不可欠で中心的な役割を果たす一方、異常亢進は自己免疫疾患やアレルギーの発症を誘導します。

研究グループはTCR信号伝達の制御機構の詳細な解明に取り組み、アダプター分子STAP-2がCD3 ζ と直接結合することでTCR信号伝達の働きを強めることを見出しました。今回の研究ではそれを応用し、STAP-2/CD3 ζ の結合を阻害することでTCR信号伝達並びにその結果として表現されるT細胞の活性化を弱めることができ、免疫疾患の治療薬に繋がるのではないかと考えました。その阻害剤を用いて、T細胞に与える機能の評価と実際の免疫疾患の病態においてどのように働くかを検討しました。

【研究手法】

実験材料として、健常人由来の末梢血（PBMC）、野生型マウスから回収したT細胞及びヒトT細胞白血病株Jurkat細胞を用いました。さらに、T細胞異常活性化に伴う免疫疾患発症モデルとして、神経髄鞘の主要な構成タンパク質であるミエリンタンパク質由来の（MOG）ペプチドを免疫することで誘導される実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）を用いました。

採取した細胞をモノクローナル抗体で染色しフローサイトメトリー法*³で解析することで、生体内におけるT細胞の機能や疾患病変部（中枢神経）におけるT細胞のサブセットを解析しました。ウエスタンブロット法*⁴でTCR下流の信号分子群の活性化（リン酸化）、ELISA法*⁵でIL-2産生量を測定することにより、試験管内で抗原刺激でのT細胞の活性化に与える阻害剤の機能の評価しました。免疫沈降法*⁶やウエスタンブロット法を用いて信号分子群との相互作用に与える阻害剤の機能を解析しました。

【研究成果】

STAP-2/CD3 ζ 結合に重要なアミノ酸配列を同定し、その結合を阻害するようなペプチドを設計しました。まず、本阻害ペプチドが実際に細胞内に到達し、STAP-2/CD3 ζ 結合を阻害することを明らかにしました。その結合阻害の結果として機能的にT細胞の活性化が抑制されるのかどうかを、ヒト末梢血単核細胞、Jurkat細胞及び野生型マウスから回収したT細胞を用いて検討しました。本阻害ペプチドをこれらの細胞に処理した後、抗原刺激の代替として抗CD3抗体処理を行い、TCR下流信号伝達、細胞増殖、IL-2産生を測定した結果、これら全てがペプチド非処理群及びコントロールペプチド処理群と比較して有意に抑制されていることが示されました（図1）。

また、実際の薬への応用を考慮した際、本阻害ペプチドの細胞特異的効果は体内での毒性に大きく影響するため、本阻害ペプチドをT細胞以外の細胞であるB細胞や好塩基球細胞に対して処理し、その機能を検討したところ、本阻害ペプチドはT細胞以外の機能には影響を与えないことが示唆されました。

次に、本阻害ペプチドが実際に免疫疾患に対して治療薬として意義ある効果を示すのかどうか、自己免疫疾患マウスモデルを用いて検討しました。研究グループは以前、STAP-2の発現が多発性硬化症のマウスモデルとして汎用される実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）モデルの病態を増悪化させることを見出しているため、EAEモデルに対して本阻害ペプチドがどのように機能するのか検討しました。結果、本阻害ペプチドをEAE誘導直後及び発症前より継続的に投与することで、病態が抑制されることが分かりました（図2）。さらにその病態抑制メカニズムについても検討した結果、本阻害ペプチドの投与により、EAEの発症に欠かせない炎症性サイトカイン⁷であるIFN- γ ⁸やIL-17⁹の産生量の低下が示されました。また、疾患発症時に病変部である中枢神経に浸潤するT細胞の数や割合も低下していることが分かりました。以上のことから、STAP-2/CD3 ζ 結合を阻害する本阻害ペプチドはT細胞の活性化を抑制するだけでなく、多発性硬化症の発症時に中枢神経への細胞の移動も制御することが解明されました。

【今後への期待】

免疫応答で中心的な役割を果たすT細胞の活性化の抑制並びに、免疫応答の過剰応答の結果として起こる自己免疫疾患の制御する新たな戦略として、STAP-2/CD3 ζ 結合を標的とした阻害ペプチドの応用の有効性が示唆されました。今後は、本阻害ペプチドをさらに最適化することで、より効果的な機能を見出し、臨床の場へと応用されることが期待されます。

論文情報

論文名	STAP-2-derived peptide suppresses T cell receptor-mediated signals to initiate immune responses (STAP-2 由来のペプチドはT細胞受容体を介した免疫反応を抑制する)
著者名	佐々木悠斗 ¹ 、齋藤浩大 ¹ 、籠橋広太 ¹ 、尾瀬豊之 ² 、河原生知 ¹ 、鍛代悠一 ¹ 、室本竜太 ¹ 、関根勇一 ³ 、一井倫子 ⁴ 、吉村昭彦 ⁵ 、織谷健司 ⁶ 、柏倉淳一 ^{1,7} 、松田 正 ¹ (1北海道大学大学院薬学研究院、 ² 北海道大学大学院先端生命科学研究院、 ³ 京都薬科大学大学院薬学研究科、 ⁴ 大阪大学大学院医学研究科、 ⁵ 慶應義塾大学医学部、 ⁶ 国際医療福祉大学医学部、 ⁷ 北海道科学大学薬学部)
雑誌名	The Journal of Immunology (免疫学の国際的専門誌)
DOI	10.4049/jimmunol.2200942
公表日	2023年7月7日 (オンライン公開)

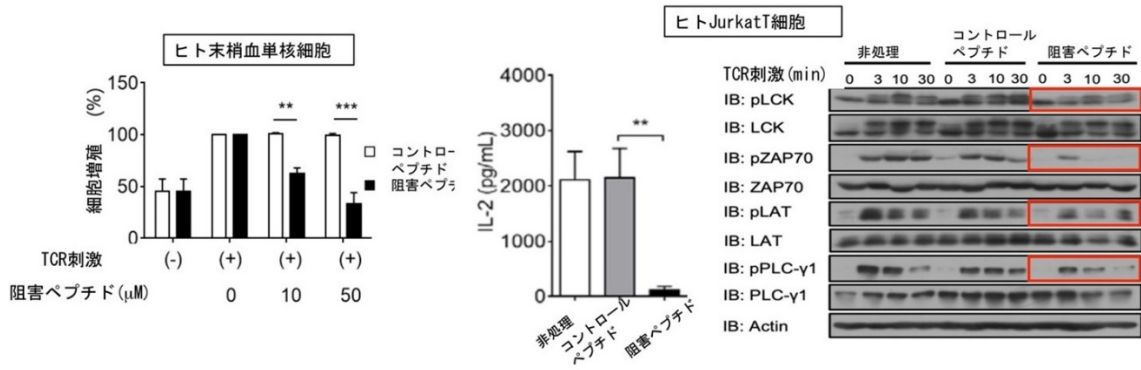
お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 教授 松田 正 (まつだただし)
TEL 011-706-3243 FAX 011-706-4990 メール tmatsuda@pharm.hokudai.ac.jp
URL <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/eisei/index.html>
北海道科学大学薬学部 教授 柏倉淳一 (かしわくらじゅんいち)
TEL 011-676-8738 FAX 011-676-8666 メール kashiwakura-j@hus.ac.jp

配信元

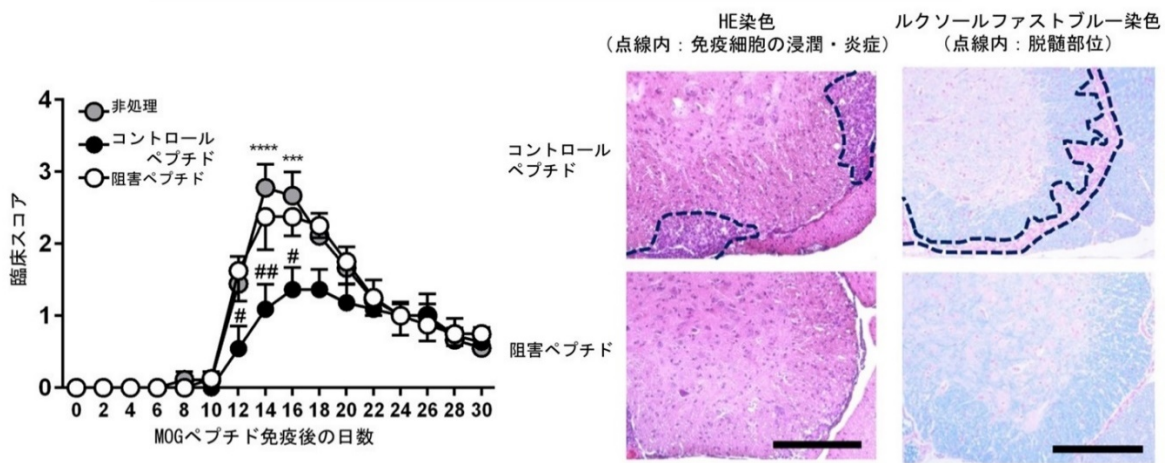
北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)
TEL 011-706-2610 FAX 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp
北海道科学大学入試・地域連携部地域連携・広報課 (〒006-8585 札幌市手稲区前田7条15丁目4-1)
TEL 011-688-2371 FAX 011-688-2392 メール koho@hus.ac.jp

【参考図】



阻害ペプチド処理によってTCR刺激でのT細胞増殖、IL-2産生、シグナル伝達が抑制される

図 1. STAP-2/CD3ζ 結合阻害ペプチドの機能。



阻害ペプチド投与によって実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) モデルの病態増悪化が抑制される

図 2. 実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) での STAP-2/CD3ζ 結合阻害ペプチドの効果。

【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、細胞内信号伝達に関わる。
- *2 ITAM モチーフ … Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motifs の略で、CD3 タンパク質などの細胞内領域に存在するチロシン残基がリン酸化され、細胞内信号伝達を引き起こす引き金となる特徴的なアミノ酸一次配列。
- *3 フローサイトメトリー法 … 蛍光標識した抗体を細胞に結合させ、細胞を一つずつ解析する方法。タンパク質発現を解析することができる。
- *4 ウェスタンブロット法 … 抗体を用いてタンパク質を検出する方法。分子量などを解析することができる。
- *5 ELISA 法 … 抗体を用いてタンパク質などを定量する方法。
- *6 免疫沈降法 … 抗体を用いて分子間相互作用を解析する方法。
- *7 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。
- *8 IFN-γ … サイトカインの一種で、マクロファージや一部の T 細胞から分泌されるタンパク質。免疫及び炎症の調節機能を有する。
- *9 IL-17 … 炎症性サイトカイン。局所で産生されると、好中球を引き寄せ、炎症反応を引き起こす。