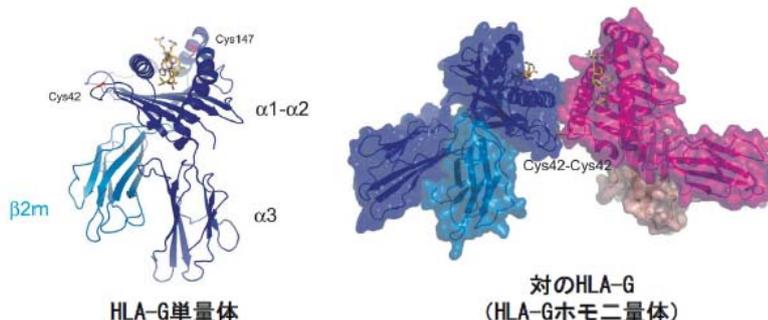




対の胎盤蛋白質による関節リウマチ抑制技術の開発

研究成果のポイント

- ・ HLA-G 蛋白質はヒトの胎盤に主に発現し、母体免疫から胎児を守ること（免疫寛容）に貢献する。
- ・ HLA-G 蛋白質が対の形態をとることで、抑制型免疫細胞受容体とより強く結合し、シグナル伝達能を増強していることを試験管レベルで発見。
- ・ 対の形態の HLA-G 蛋白質を自己免疫疾患のひとつである関節リウマチモデルマウスに投与した結果、長期間症状の進行を抑えることができ、明らかな副作用も認められなかった。
- ・ 対の HLA-G 蛋白質は本来我々の体内に存在しているものであり、長期間の免疫抑制効果を持つ副作用が少ないバイオ医薬品としての開発が期待できる。



研究成果の概要

HLA-G は胎盤、胸腺、腫瘍細胞に特異的に発現する蛋白質です。妊娠時の胎盤では、異物である胎児を母体免疫から回避させる必要があります。胎児側の細胞が発現する HLA-G は、母体の免疫系細胞上の抑制型受容体 Leukocyte Ig-like receptor (LILR) B1, LILRB2 に結合し、母体免疫反応を広く抑制することによって、妊娠を成立させる重要な蛋白質です。この HLA-G は、生体内で単量体として存在するだけでなく、自然酸化により生成された対の形態（ホモ二量体）を形成することが知られていました。そして、当研究室では、対の HLA-G が LILRB1, LILRB2 と強く結合することにより、単量体に比べより強力なシグナル伝達を行うことを明らかにしてきました。

本研究では、対の HLA-G 蛋白質を II 型コラーゲン誘導型関節リウマチモデルマウス*に投与したところ、はっきりとした四肢の関節の腫れを抑制する効果が認められました。その際、マウスの体重減少および致死のような明らかな副作用は認められませんでした。また、左足局所へ 1 回のみ投与することで、関節炎抑制効果は 2 か月以上持続することがわかりました。これにより、蛋白質投与量と副作用を著しく軽減できるバイオ医薬品としての製剤化が期待できます。

なお、本研究成果は Human Immunology に掲載され、本研究は科学研究費補助金、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）、戦略的創造研究推進事業（CREST）などの助成を受けて実施されました。

* II 型コラーゲン誘導型関節リウマチモデルマウス：

コラーゲン誘導関節炎（collagen-induced arthritis）は、ヒトの関節リウマチのモデルとして用いられる実験的な自己免疫疾患である。マウスに、II 型コラーゲンを注入して発症させる。

論文発表の概要

研究論文名 : The long-term immunosuppressive effects of disulfide-linked HLA-G dimer in mice with collagen-induced arthritis (コラーゲン誘導型関節炎モデルマウスに対して、ジスルフィド結合によって対の形態を取る HLA-G 蛋白質が示す長期の免疫抑制効果)

著者・所属 : 黒木喜美子¹, 廣瀬薫¹, 岡部由紀¹, 福永裕子¹, 高橋愛実¹, 白石充典², 梶川瑞穂³, 田畑栄一¹, 中村聖子¹, 高井俊行⁴, 小柳悟², 大戸茂広², 前仲勝実^{1,5}

¹北海道大学大学院薬学研究院, ²九州大学大学院薬学研究院, ³理化学研究所, ⁴東北大学加齢医学研究所, ⁵CREST

公表雑誌 : Human Immunology (米国免疫学雑誌)

公表日 : 米国時間 2012 年 12 月 29 日 (オンライン)

研究成果の概要

(背景)

HLA-G は、対の形態 (ホモ二量体化) を含めた多様な分子形態をとることが知られている蛋白質です。妊娠時の胎盤では胎児が母体の免疫を逃れるために HLA-G を発現して免疫抑制を誘導していることや、腫瘍細胞が HLA-G を発現して免疫を回避していること、最近では、制御性 T 細胞 (免疫応答を抑える細胞) が HLA-G を発現し、免疫抑制機能を発揮していることがわかってきました。私たちは、HLA-G が生体内で対の形態を形成することによって単量体に比べてより効果的に抑制シグナルを伝達していることを立体構造解析、受容体 LILR 群との相互作用解析、細胞内シグナル解析によって明らかにしました (JBC 2006)。また、HLA-G が持つ多様な形態に着目し、これらの形態の有する機能および構造を明らかにしていくことに取り組んでいます。今回は、HLA-G の免疫抑制機能を利用した副作用の少ない天然の免疫制御蛋白質製剤を目指して、生体レベルでの対の HLA-G 蛋白質の機能解析を行いました。

(研究手法)

私たちは HLA-G 単量体および対の HLA-G 蛋白質を大量調製し、II 型コラーゲン誘導型関節リウマチモデルマウスに投与し、関節の腫れをスコア (RA スコア) 化しました。また、その際に副作用の指標として体重変化も記録しました。さらに、マウス個体においてヒト HLA-G がヒト LILR に相当するマウス抑制型受容体 PIR-B に結合することを、相互作用解析によって明らかにしました。

(研究成果)

まず、HLA-G 単量体を用いて関節の腫れに対する抗炎症効果を観察したところ、左足局所皮内に投与したにもかかわらず、抗炎症効果は四肢にわたって認められました。また、蛋白質を 5 日間連続投与した場合と単回投与 (1 回のみ投与) した場合の RA スコア推移を比較したところ、それぞれの抗炎症効果に明確な差は認められませんでした。そのため、次に、対の HLA-G 蛋白質について、同様に左足皮内への単回投与で十分な抗炎症効果が認められるか、我々のグループが試験管レベルの実験で明らかにした、対の HLA-G 蛋白質は単量体に比べてシグナル伝達能が 100 倍程度強くなることを反映して、生体レベルでもより強い免疫抑制効果が発揮されるかを検討しました。

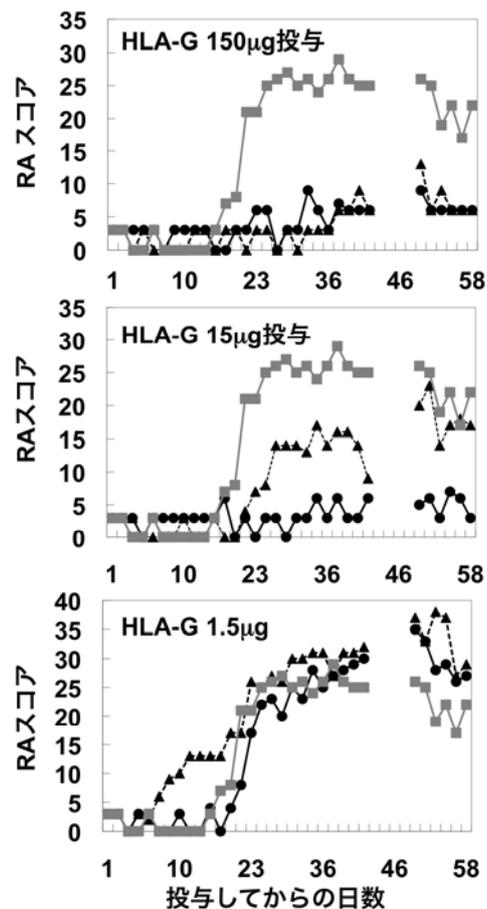
その結果、対の HLA-G 蛋白質は単量体に比べてより少量の単回投与で、少なくとも 2 か月の間効果が持続することがわかりました (次頁の図 : 対の HLA-G 蛋白質●, HLA-G 単量体▲, 生理的食塩水■。中段の図 : HLA-G を 15 μ g 投与したときに、対の HLA-G●が単量体のもの▲よりも強く押さえていることがわ

かる)。この間顕著な副作用は認められませんでした。また、HLA-G 蛋白質による抗炎症効果は関節リウマチ症状の RA 低値に投与した場合に観察され、RA スコアが高くなってからの HLA-G 蛋白質投与による抗炎症効果は観察されませんでした。

以上のことから、関節リウマチモデルマウスにおいて、対の HLA-G 蛋白質は、軽度の炎症において、少量の単回投与で長期間抗炎症効果を示すことが明らかになりました。

(今後への期待)

関節リウマチの治療には、抗炎症薬やステロイド薬に加えて、近年その効果が期待されている生物学的製剤などが用いられていますが、副作用や、抗体医薬に対する抗体産生による薬剤効果の低減などの問題があります。今回生体内に実際に存在する対の HLA-G 蛋白質が強い免疫抑制効果を示すことが明らかになったことから、より副作用の少ないバイオ医薬品への応用が期待できます。また、効果持続期間が長いことから、他の関節リウマチ医薬品との併用により、薬剤投与量や回数を減らし、患者さんの身体的・金銭的負担を軽減することも期待できると考えています。



お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院薬学研究院 教授 前仲 勝実（まえなか かつみ）

TEL: 011-706-3970 FAX: 011-706-4986 E-mail: maenaka@pharm.hokudai.ac.jp

ホームページ: <http://convallaria.pharm.hokudai.ac.jp/bunshi/index.html>