

自己免疫性肝炎の発症に関わるタンパク質を発見

～病態解明や新規治療薬開発への貢献に期待～

ポイント

- ・自己免疫性肝炎の発症にはアダプタータンパク質である STAP-1 が関係。
- ・STAP-1 欠損マウスでは、刺激物質によって発症する肝炎が重症化。
- ・自己免疫性肝炎の病態解明や新しい治療薬開発への貢献に期待。

概要

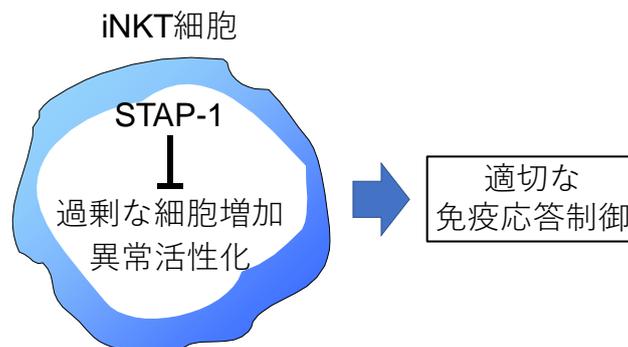
北海道大学大学院薬学研究院の柏倉淳一講師及び松田 正教授らの研究グループは、アダプター分子^{*1}である STAP-1 が、インバリアントナチュラルキラーT (iNKT) 細胞^{*2}の維持及び肝炎の発症を抑制する新たな分子であることを発見しました。

自己免疫性肝炎は、体の中にある細胞が自らの肝細胞を攻撃し破壊してしまう自己免疫疾患です。現在、日本国内では約1万人がこの病気に罹患していますが、明らかな原因が不明のため患者は生涯にわたり副腎皮質ステロイド^{*3}という飲み薬を使用しなければならず、患者の生活の質の向上を目指すためには、自己免疫性肝炎の発症メカニズム解明や新しい治療方法の開発が急務です。

血液を流れる細胞のうちリンパ球^{*4}と呼ばれる細胞が、自己免疫性肝炎の病態に関わることが知られています。マウスを用いた実験でリンパ球の一つである iNKT 細胞が自己免疫性肝炎を起こすのに必要不可欠な細胞であることがわかっていましたが、細胞内のどの分子がどのようにして iNKT 細胞を活性化し、肝炎を発症させるかについては詳しく解明されていませんでした。

研究グループは、iNKT 細胞内に存在するアダプタータンパク質「STAP-1」(Signal-Transducing Adaptor Protein-1) が肝炎の発症に関わることを発見しました。STAP-1 欠損マウス^{*5}では、血液中に存在する iNKT 細胞の数が増加しており、刺激物質であるコンカナバリン A^{*6}や α ガラクトセラミド^{*7}の注射によって発症する肝炎が重症化しました。一方、リンパ球特異的に STAP-1 が過剰に発現する STAP-1 トランスジェニックマウス^{*8}では、血液中の iNKT 細胞の減少と肝炎発症の抑制が観察されました。本研究は STAP-1 の自己免疫性肝炎に対する新たな役割を発見したものであり、この疾患の新しい治療薬開発への貢献が期待されます。

なお、本研究成果は、2020年11月12日(木)公開の PLOS ONE 誌に掲載されました。



iNKT 細胞及び自己免疫性肝炎に対する STAP-1 の機能的役割の概略図

【背景】

人の体内では、外から侵入した異物を認識し排除する仕組み（免疫）があります。この免疫が何らかの原因で暴走すると、関節リウマチなどの自己免疫疾患が起こります。近年、様々なタンパク質が自己免疫疾患の原因になることが知られ、その物質を標的とした新たな治療薬が開発されています。

自己免疫性肝炎は、自己免疫疾患の一種で現在国内に約 1 万人の患者がおり、50～60 歳代の女性が発症の中心ですが若い方や男性でも発症します。自己免疫性肝炎では、血液中に自分の細胞に対する抗体量が増加する特徴がありますが発症メカニズムはわかっていません。また、治療には副腎皮質ステロイドの飲み薬が一般的に使用されますが、使用をやめると病気が再発するため常に薬を飲まなくてはならず、根治を目指すための新たな治療方法の開発がこの病気の課題です。

自己免疫性肝炎の発症にはリンパ球が関与し、リンパ球には様々な種類が存在しますが、特に iNKT 細胞が自己免疫性肝炎の病態に関わることがマウスを用いた以前の研究から示唆されています。iNKT 細胞は体の様々な組織に存在するリンパ球の一つで、自己免疫性肝炎の発症には iNKT 細胞から産生される IL-4^{*9} が関係しますが、その詳細なメカニズムは不明であり、新規治療法開発には新たな治療標的となる分子の発見が必要です。STAP-1 はリンパ球などで多く発現し、様々な免疫疾患の原因になる恐れがあるアダプタータンパク質ですが、免疫疾患発症との関係性についての報告はほぼありません。そこで、松田教授らは世界に先駆け、STAP-1 が体内に存在しないマウス及びリンパ球だけに多く発現しているマウスを作製し、自己免疫性肝炎の病態形成に対する STAP-1 の関与を調べました。

【研究手法】

本研究では、STAP-1 欠損マウス (STAP-1 KO) 及びリンパ球特異的 STAP-1 トランスジェニックマウス (STAP-1 Tg) を用いて、コンカナバリン A 及び α ガラクトセラミドを投与した際に肝炎がどう変化するかを観察しました。また、肝臓・脾臓内の iNKT 細胞数が野生型マウスと比べてどう変化するかをフローサイトメトリー法^{*10} で解析しました。さらに、不死化させたマウス iNKT 細胞に STAP-1 を過剰に発現させ、iNKT 細胞の活性化反応に対する STAP-1 の役割を調べました。

【研究成果】

まず、自己免疫性肝炎を擬似的に再現できるコンカナバリン A 誘導性肝炎マウスモデルを用いて、発症に対する STAP-1 の影響を調べました。野生型マウスと比較すると松田教授らが樹立した STAP-1 KO では死んだ肝細胞の領域が多くなり、肝障害を示す ALT 値や肝炎発症に関わる IL-4 量が上昇した一方、STAP-1 Tg では肝細胞死の減少及び肝障害の抑制が観察されました (図 1)。コンカナバリン A 投与で発症する肝炎には iNKT 細胞が必要なため、より直接的に iNKT 細胞を活性化できる α ガラクトセラミドを投与し、肝炎発症に対する STAP-1 の影響を観察しました。すると、野生型マウスと比べて STAP-1 KO で肝炎が重症化し STAP-1 Tg で肝炎発症の抑制が見られました。これらの結果から、STAP-1 が自己免疫性肝炎の重症化を抑えるタンパク質である可能性が示唆されました。

次に、STAP-1 が肝炎重症化を抑制するメカニズムを調べるため、二つの点に着目しさらに解析を行いました。一点目は、iNKT 細胞数が STAP-1 KO や STAP-1 Tg で変化しているのかという点で、これらのマウスの肝臓・脾臓から細胞を回収し iNKT 細胞の割合を調べ、野生型マウスの割合と比較しました。すると、これらの臓器に存在する iNKT 細胞の割合が STAP-1 KO で増加し、STAP-1 Tg では減少 (図 2) した一方、iNKT 細胞の分化 (iNKT 細胞が出来る過程) については明らかな差はありませんでした。二点目は、STAP-1 が iNKT 細胞の反応性をどう変化させるかという点で、研究グループは STAP-1 を細胞内で過剰発現させた不死化マウス iNKT 細胞を作製し、過剰発現していな

い不死化 iNKT 細胞との反応性の違いを調べました。これらの細胞をコンカナバリン A で刺激すると、iNKT 細胞の活性化反応を示す IL-4 及び IFN- γ *¹¹ の産生量が STAP-1 過剰発現不死化 iNKT 細胞で減少し、様々な分子の活性化度合いが低下していました (図 2)。

【今後への期待】

本研究で、STAP-1 は (1) iNKT 細胞数の調節、(2) iNKT 細胞の活性化を抑制することで自己免疫性肝炎の重症化を抑えることが示唆され、STAP-1 が自己免疫性肝炎に対する新たな治療標的となる可能性が示唆されました。今後、STAP-1 を標的とした新規治療薬の開発の進展が期待されます。

論文情報

論文名	Expression of signal-transducing adaptor protein-1 attenuates experimental autoimmune hepatitis via down-regulating activation and homeostasis of invariant natural killer T cells (STAP-1 の発現はインバリアントナチュラルキラーT 細胞の活性化減少とホメオスタシスを介して実験的自己免疫性肝炎を減弱する)
著者名	柏倉淳一 ¹ 、齋藤浩大 ¹ 、伊原 建 ¹ 、佐々木悠斗 ¹ 、籠橋広太 ¹ 、榎原詩陽 ¹ 、森岡裕香 ² 、渡会浩志 ³ 、室本竜太 ¹ 、鍛代悠一 ¹ 、岩淵和也 ⁴ 、織谷健司 ⁵ 、松田 正 ¹ (¹ 北海道大学大学院薬学研究院、 ² 北海道大学遺伝子病制御研究所、 ³ 金沢大学医薬保健研究域医学系、 ⁴ 北里大学医学部、 ⁵ 国際医療福祉大学医学部)
雑誌名	<i>PLOS ONE</i> (自然科学・医学系の専門誌)
DOI	10.1371/journal.pone.0241440
公表日	2020年11月12日(木)(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

【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 インバリアントナチュラルキラーT (iNKT) 細胞 … リンパ球の一種。CD1d 上に提示された糖脂質抗原を認識することで活性化し、様々な種類のサイトカインを産生することで免疫反応に関わる。
- *3 副腎皮質ステロイド … 体内の炎症や免疫反応を抑える薬。炎症を抑制する作用に優れるが、長期使用により出現する多くの副作用が問題となる。
- *4 リンパ球 … 免疫細胞群の一つ。免疫反応の司令塔である T 細胞や抗体を産生する B 細胞などが含まれる。
- *5 STAP-1 欠損マウス … STAP-1 遺伝子がある場所を壊すことで、STAP-1 遺伝子発現が欠失したマウス。

- *6 コンカナバリン A … タチナタマメから発見されたレクチンとよばれるタンパク質。リンパ球を活性化
する性質を持つ。
- *7 α ガラクトセラミド … 糖脂質の一種。CD1d 上に提示され、iNKT 細胞を活性化する。
- *8 STAP-1 トランスジェニックマウス … STAP-1 遺伝子を染色体に組み込むことで、STAP-1 遺伝子が
通常に比べ多く発現しているマウス。
- *9 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。
- *10 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、タンパク質発現の解析もできる。
- *11 IFN- γ … サイトカインの一種で iNKT 細胞や一部の 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。

【参考図】

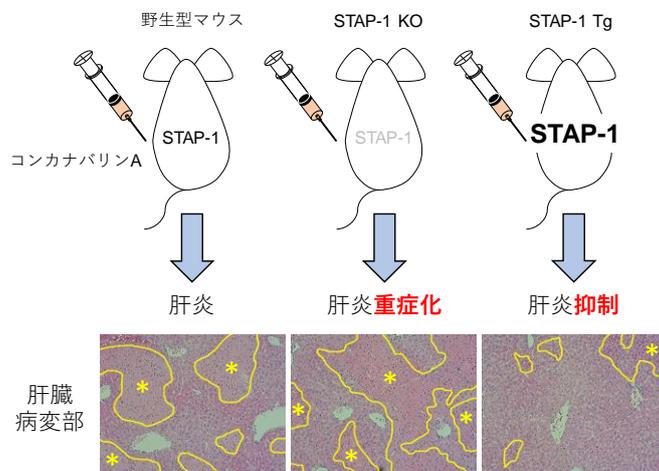


図 1. コンカナバリン A 誘導性肝炎における STAP-1 の役割。野生型、STAP-1 欠損 (STAP-1 KO) 及びリンパ球特異的 STAP-1 トランスジェニックマウス (STAP-1 Tg) マウスにコンカナバリン A を投与し、12 時間後の肝炎発症を観察。下部図の黄色線で囲まれた部分 (*マーク) は死んでいる細胞が存在する部分。野生型マウスに比べ、STAP-1 KO では肝細胞が死んでいる部分の面積が増加し肝炎の重症化が見られる一方、STAP-1 Tg ではその面積が減少し、肝炎が抑制。

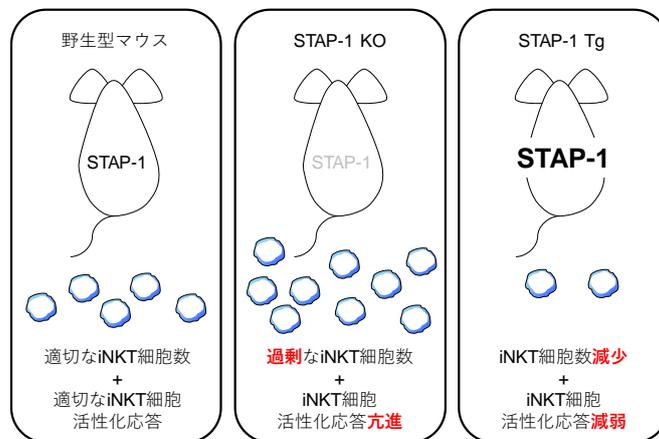


図 2. STAP-1 の iNKT 細胞数維持及び反応性への影響。野生型マウスと比べると、STAP-1 KO では臓器中の iNKT 細胞割合が増加し、iNKT 細胞の反応性が亢進。一方、STAP-1 Tg マウスでは iNKT 細胞割合の著名な減少と活性化反応の減弱が見られた。