

B 細胞抗体産生を制御するアダプター分子を発見

～アレルギー治療薬開発への貢献に期待～

ポイント

- ・抗体産生を担う B 細胞内の、STAP-2 と呼ばれるタンパク質の機能を解析。
- ・STAP-2 を欠損したマウスでは B 細胞内 Lyn 活性化が亢進し、抗体産生が増強。
- ・STAP-2 は Csk と相互作用することで、Lyn の過剰活性化を制御。

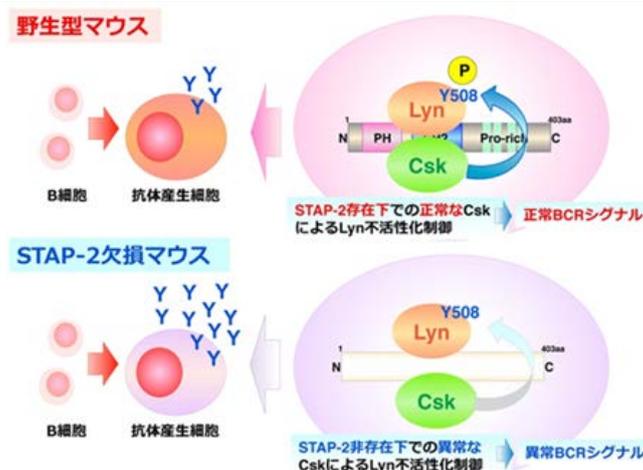
概要

北海道大学大学院薬学研究院の松田 正教授、同大学大学院生命科学院博士前期課程の河原生知氏、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 の B 細胞活性化機序及び抗体産生に対する新たな機能を見出しました。

ヒトの体内に侵入した病原体は、免疫細胞により排除されます。さらに、リンパ球のT細胞やB細胞が侵入した病原体の成分（抗原）を認識し、二回目の病原体侵入時に再びこれらのリンパ球が抗原を認識すると、抗原特異的な免疫反応（獲得免疫）が誘導され、病原体は素早く排除されます。この病原体排除を担う分子がB細胞から産生される「抗体」です。B細胞による抗体産生が不十分ですと感染症に何度もかかってしまいますし、逆にB細胞が暴走し、多量の抗体が産生されると自己免疫疾患やアレルギー疾患に繋がります。そのため、適切なB細胞活性化反応がどのように起こっているかを解明することが、これらの免疫疾患を制御する上で重要です。

研究グループはこれまで、B細胞と近縁のリンパ球であるT細胞の抗原認識にSTAP-2が重要な役割を担っていることを報告しました。一方で、抗原を認識したB細胞が活性化する反応でのSTAP-2の役割は不明でした。今回の研究では、STAP-2が抗原認識による過剰なB細胞活性化や抗体産生を制御していること、STAP-2が抗原誘導性B細胞活性化に重要なLynとCsk（Lyn活性化抑制作用を示す）との足場タシグナルとして機能することで過剰なB細胞活性化応答を制御していることを解明しました。本研究により、自己免疫疾患やアレルギーの新たな治療戦略の開発が期待されます。

なお、本研究成果は、FEBS Letters 誌で 2023 年 9 月 5 日にオンライン掲載されました。



本研究による新たな B 細胞抗体産生制御メカニズム

【背景】

生体には病原体の進入を防止する生体防御システム、すなわち免疫系が存在します。特に獲得免疫反応は、一度侵入した病原体を記憶し、再度の進入時に素早く排除する免疫システムとして重要な免疫応答です（いわゆる「二度無し現象」）。獲得免疫反応は、大きく分けると、細胞障害性 T 細胞が異物を排除する中心となる「細胞性免疫」と、B 細胞^{*2}が産生する抗体が排除の中心として機能する「体液性免疫」に分類されます。幼少期から行われる予防接種や新型コロナウイルスのワクチン接種は、まさに病原体に対する抗体を「獲得」する手段です。一方で、B 細胞による抗体産生が異常を来すと、自己免疫疾患やアレルギーの発症に繋がるため、産生機序の詳細を解明し新たな標的分子を見つけることは、これら免疫疾患の新規治療戦略を確立する上で必要と考えられています。

B 細胞は細胞表面上に B 細胞抗原受容体 (BCR) を発現し、BCR を介して異物を認識すると活性化し抗体産生細胞へ分化します。Src ファミリーチロシンリン酸化酵素 Lyn は BCR の活性化調節を司る分子として重要であり、自身がリン酸化されることで BCR に動員され、BCR に会合している Syk をリン酸化することで、BCR シグナル伝達の開始を担っています。必要量の BCR シグナル伝達が入ると、それ以上活性化シグナル伝達が入らないように、Csk と呼ばれるリン酸化酵素により Lyn は抑制され定常状態に戻ります。

研究グループは BCR シグナル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 Lyn と Csk との足場タンパク質として機能することで、適切な Lyn 活性化制御に関わることを見出しました。STAP-2 を欠損した B 細胞では、この活性化制御機構が破綻しているため、BCR 介在性 B 細胞活性化反応が持続し、BCR シグナル伝達の過剰な活性化及びサイトカイン産生の亢進が起こります。さらに STAP-2 欠損マウスに特定の抗原を投与し抗体産生を調べたところ、STAP-2 が発現しているマウスと比べ、抗体産生が亢進していることを発見しました。

【研究手法】

実験材料として、野生型マウス及びSTAP-2欠損マウス及びそれらから回収したB細胞を用いました。また、分子同士の相互作用の解析にはHEK293T細胞を用いました。STAP-2によるB細胞抗体産生がアレルギーにどのように関わっているか調べるため、ブタクサ花粉 (RW) を経鼻投与して誘導される花粉症マウスモデルを用いました。

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B細胞サブセットを解析しました。ウエスタンブロット法^{*4}でBCR下流のシグナル分子群の活性化 (リン酸化)、ELISA法^{*5}でサイトカイン^{*6}産生量を測定することにより、試験管内でBCRを介したB細胞活性化に対するSTAP-2の機能的役割を評価しました。免疫沈降法^{*7}やウエスタンブロット法を用いてSTAP-2とLynやCskといったBCRシグナル伝達に関わる分子との相互作用を解析しました。

【研究成果】

解析の結果、STAP-2 欠損 B 細胞では BCR 架橋刺激による IL-6^{*8} 産生が野生型 B 細胞と比べて促進していました。また、この細胞反応と一致して、BCR に関与する様々なシグナル下流分子群の活性化が見られました。マウスに抗原を免疫し、抗体産生反応を調べてみると、B 細胞だけを活性化できる抗原を免疫した場合、STAP-2 欠損マウスの抗体産生は野生型マウスの抗体産生よりも増強していることが分かりました。また、RW を経鼻投与し誘導した花粉症マウスの総 IgE 抗体、総 IgG1 抗体及び RW 特異的 IgG1 抗体量を野生型マウスと STAP-2 欠損マウスで比較してみたところ、STAP-2 欠損マウスで

はこれらの抗体産生が有意に亢進していました（図1）。

次に、どのような作用機序で B 細胞活性化亢進が起こるか調べました。BCR シグナル伝達の開始には Lyn と呼ばれる分子が必要であるため、Lyn と STAP-2 が直接相互作用しているか検証した結果、この二分子が直接相互作用することが分かりました。また、Lyn の活性化調節には Csk という分子が関わるため、Csk と STAP-2 との相互作用も確認したところ、STAP-2 は Csk とともに相互作用していました。

そして、Lyn、STAP-2 及び Csk の三つの分子が複合体を形成しているか調べたところ、三分子複合体形成することが分かり、さらにこの三分子複合体形成は Lyn の活性化抑制に関与することが示唆されました。さらにこの三分子複合体形成を亢進する要素として、Lyn による STAP-2 リン酸化反応が必要であり、このリン酸化反応を起こさない変異 STAP-2 では Lyn と Csk との相互作用が減弱することが明らかとなりました（図2）。

【今後への期待】

獲得免疫応答の中心である B 細胞の活性化抑制機序に STAP-2 が関わることが分かりました。特に、花粉抗原による IgE 産生が STAP-2 欠損マウスで増強したことから、今後、STAP-2 を標的とした新たな花粉症治療薬開発が進むことが期待されます。

論文情報

論文名 STAP-2 negatively regulates BCR-mediated B cell activation by recruiting Csk to Lyn (STAP-2 は Lyn へ Csk を動員することで BCR 介在 B 細胞活性化反応を負に制御する)
著者名 柏倉淳一^{1,2}、河原生知¹、稲垣伊織¹、乾 恭輔¹、齋藤浩大¹、籠橋広太¹、佐々木悠斗¹、小林風輝³、鍛代悠一¹、室本竜太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北海道科学大学薬学部、3国際医療福祉大学医学部)
雑誌名 FEBS Letters (分子生物科学の国際的専門誌)
DOI 10.1002/1873-3468.14730
公表日 2023年9月5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>

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)

T E L 011-676-8738 F A X 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)

T E L 011-706-2610 F A X 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)

T E L 011-688-2371 F A X 011-688-2392 メール koho@hus.ac.jp

【参考図】

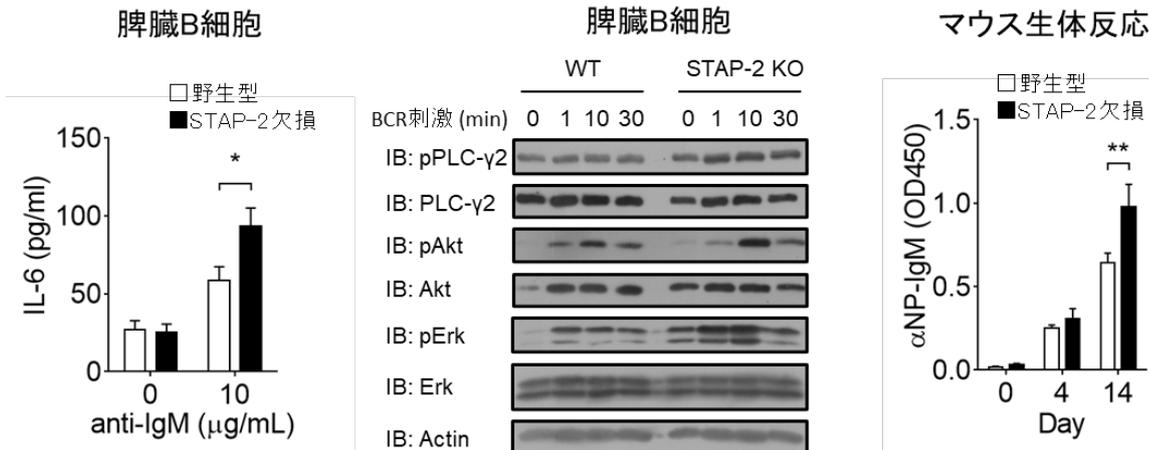


図 1. STAP-2 欠損 B 細胞の活性化反応及び STAP-2 欠損マウスでの抗体産生反応。

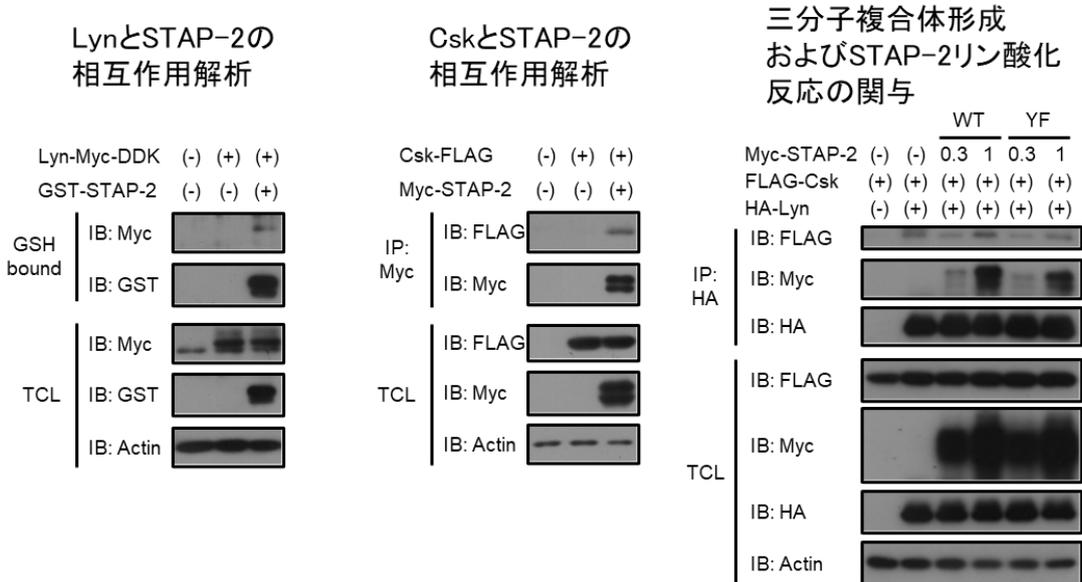


図 2. STAP-2 による BCR シグナル調節機構の解明。

【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 B 細胞 … リンパ球の一種。外来抗原に対する抗体を産生する細胞。
- *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 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。
- *7 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。
- *8 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。