

T細胞内の分子を標的とした新たなペプチド阻害剤を開発

～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-1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。

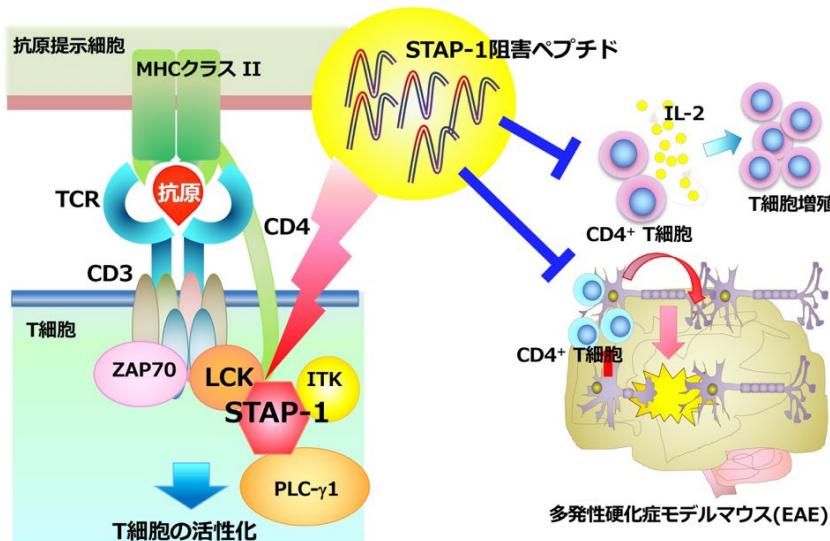
概要

北海道大学大学院薬学研究院の佐々木悠斗研究員、松田 正特任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-1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を見出しました。

通常、私たち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。これには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異常なT細胞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は免疫疾患の制御に重要です。これまで、本研究グループはその信号伝達にはSTAP-1が重要な役割を果たすこと、特にSTAP-1がT細胞内のリン酸化酵素であるLCK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STAP-1/LCKの結合阻害ペプチドを作成・利用することにより、T細胞の機能が抑制され、自己免疫疾患の病態が軽減されることが明らかとなりました。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、4月27日(日)公開のImmunoHorizons誌にオンライン掲載されました。



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に、私たち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 ($\gamma, \delta, \epsilon, \zeta$) など種々なタンパク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。本研究グループは、TCR 信号伝達の制御機構の詳細な部分の解明に取り組み、アダプター分子 STAP-1 が LCK 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。今回の研究ではその発見を応用し、STAP-1/LCK 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つな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】

STAP-1/LCK 結合阻害剤の T 細胞における機能を解析する実験材料として、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によって誘導される、実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）を用いました。

次に、採取した細胞を蛍光標識抗体で染色し、フローサイトメトリー法^{*3}で解析することにより、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。また、ウエスタンプロット法^{*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 の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を評価しました。そして、免疫沈降法^{*6}やウエスタンプ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-1 が LCK と結合する部位からなるペプチドを複数種類作製し、Jurkat 細胞の増殖を抑制するペプチドをスクリーニングしました。その結果得られた阻害ペプチドについて、まず初めに本阻害ペプチドが実際に細胞内に到達し、STAP-1/LCK 結合を阻害することを明らかにしました。そして、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

を考慮した際には、本阻害ペプチドの細胞特異的効果は体内における毒性に大きく影響することから、本阻害ペプチドを T 細胞以外の細胞である B 細胞や上皮様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の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。本研究グループは以前に STAP-1 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ことから、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。その結果、本阻害ペプチドを EAE 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、本阻害ペプチドを投与することにより 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-17^{*9}の産生量が低下していることが示されました。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-1/LCK 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明らかになりました。

【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-1/LCK 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-1-Derived Peptide Suppresses TCR-Mediated T Cell Activation and Ameliorates Immune Diseases by Inhibiting STAP-1-LCK Binding (STAP-1 由来のペプチドは STAP-1-LCK 結合を阻害することで TCR 誘導性 T 細胞活性化と免疫疾患を抑制する)

著者名 佐々木悠斗¹、篠橋広太¹、河原生知¹、鍛代悠一¹、室本竜太¹、織谷健司²、柏倉淳一^{1,3}、松田 正¹ (¹ 北海道大学大学院薬学研究院、² 国際医療福祉大学医学部、³ 北海道科学大学薬学部)

雑誌名 ImmunoHorizons (免疫学の国際的専門誌)

DOI 10.1093/immhor/vlaf015

公表日 2025年4月27日(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 特任教授 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 011-676-8664 FAX 011-688-2392 メール koho@hus.ac.jp

【参考図】

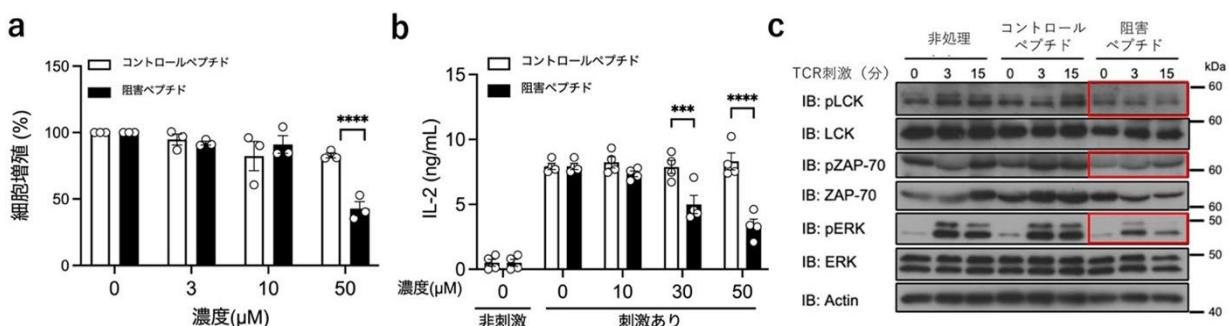


図 1. STAP-1/LCK 結合阻害ペプチドの機能。

(a) TCR 刺激ヒト末梢血単核球細胞増殖への阻害ペプチドの効果。(b) TCR 刺激ヒト Jurkat T 細胞株における IL-2 産生への阻害ペプチドの効果。(c) TCR 刺激ヒト Jurkat T 細胞株における TCR 下流シグナル伝達分子群活性化への阻害ペプチドの効果。

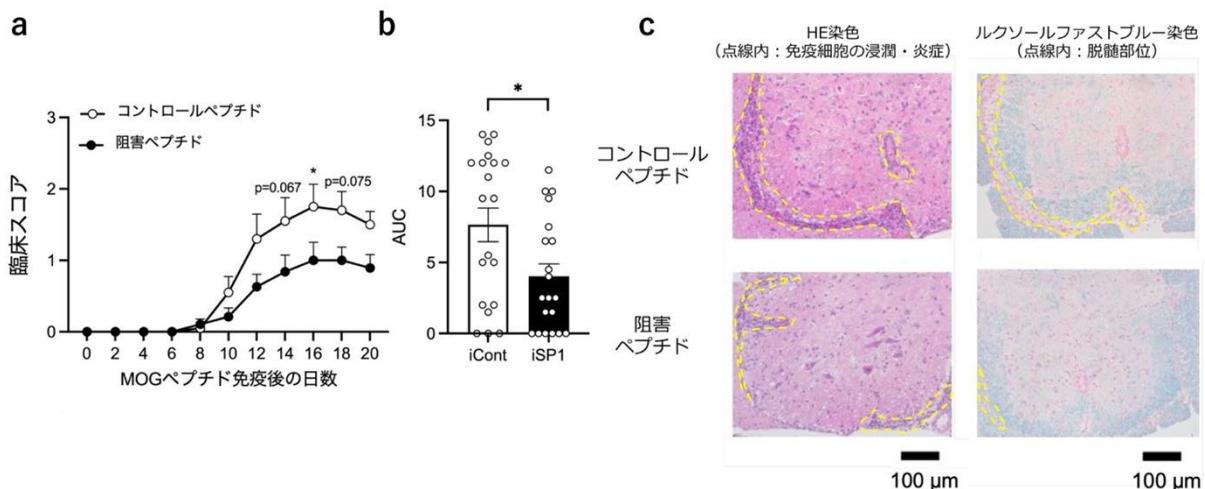


図2. 実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) における STAP-1/LCK 結合阻害ペプチドの効果。

(a) (b) マウス実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) モデルにおける臨床病態への阻害ペプチドの効果。
(c) マウス EAE における病理所見 (免疫細胞浸潤・脱髓) への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 ウエスタンプロット法 … 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。