

令和 4 年 5 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08815

研究課題名(和文) 同種造血幹細胞移植後の免疫再構築と同種免疫応答におけるSTAP蛋白の役割

研究課題名(英文) Role of STAP proteins in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

研究代表者

西東 秀晃 (Saitoh, Hideaki)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：50815496

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：Signal-transducing adaptor protein(STAP)蛋白ファミリーは、リン脂質結合モチーフであるPleckstrin homology ドメイン、リン酸化チロシンとの親和性が知られるSrc homology 2ドメインに類似した構造を有するアダプター蛋白である。申請者らは以前より、STAP蛋白が炎症・免疫系シグナルを調整することを報告してきた。本研究では、STAP蛋白が同種造血幹細胞移植後の免疫再構築とその後の同種免疫応答において果たす役割について明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

同種造血幹細胞移植は、難治性白血病や重症の造血不全疾患などで唯一治癒が期待できる治療法であるが、移植後のGVHDや免疫不全による易感染性の制御が難しく、未だに高い致死リスクが存在する。本研究は生体の免疫再構築機構と移植後のGVHD発症にSTAP-2が作用する事を明らかにし、治療標的となる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Signal-transducing adaptor protein (STAP) family regulates various intracellular signaling pathways with a pleckstrin homology domain in the N-terminal region and SRC-homology 2-like domain. Following the elucidation of the effects of STAPs on terminally differentiated immune cells, such as macrophages, T cells, mast cells, and basophils, recent findings have shown the critical roles of STAP-2 in B cell progenitor cells in marrow under hematopoietic stress and STAP-1 and -2 in BCR-ABL-transduced leukemogenesis. In this study, we evaluated the effects of STAPs on immune-reconstitution and immune responses after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

研究分野：血液内科

キーワード：同種造血幹細胞移植 GVHD

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

1957年にThomas博士らにより初めての骨髄移植が行われて以来、allo-HSCTは、白血病や悪性リンパ腫などの悪性血液疾患、再生不良性貧血などの造血不全疾患に対する治療法として発展してきた。標準治療が効果不良の難治性症例においては、allo-HSCTが治癒を期待できる唯一の治療法である。しかしながら、allo-HSCTは未だ致死的な合併症の危険を伴う治療法である。前処置の工夫や感染症薬の開発などにより、移植早期の治療関連致死率は近年改善しつつある一方で、移植後期合併症の予防や治療法の確立は遅れ、長期生存成績向上を阻む要因となっている。移植後期の合併症としては、主に晩期再発、GVHD、感染症が挙げられる。これらの合併症はいずれも移植後の免疫細胞の数的および質的回復が関与しており、移植後の免疫再構築機序の解明は、新規治療法の開発を行う上で喫緊の課題となっている。

Signal-transducing adaptor protein(STAP)蛋白ファミリーは、リン脂質結合モチーフであるPleckstrin homology (PH)ドメイン、リン酸化チロシンとの親和性が知られるSrc homology (SH)2ドメインに類似した構造を有するアダプター蛋白である。申請者らは以前より、STAP蛋白が炎症・免疫系シグナルを調整することを報告してきた。例えばマウスにおいて、STAP-2は、造血ストレス下のBリンパ球分化制御に関わる事を明らかにし、またDSS誘導による炎症性腸疾患モデルでの検討を行い、STAP-2がマクロファージの遊走と腸管上皮細胞からのケモカイン産生を制御することで、腸炎の重症化に関わっている事を報告してきた。その中で、STAPファミリーが同種造血幹細胞移植後のリンパ球回復やGVHDに関わっているという仮説を立て、本研究を立案した。

### 2. 研究の目的

STAP蛋白が同種造血幹細胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; allo-HSCT)後の免疫再構築とその後の同種免疫応答において果たす役割について明らかにする事を目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、移植細胞としてC57BL/6マウス由来血球細胞、レシピエントとしてBalb/Cマウスを用いるGVHDマウスモデルを使い検討した。単離した骨髄細胞からCD3陽性T細胞・B220陽性B細胞を除去し、致死量の放射線を照射したBalb/Cマウスに移植すると、野生型(wild type; WT)移植群は明らかなGVHD症状を呈さない。しかしながら、同系移植(ドナー: Balb/C)に比べると、前処置後の体重減少からの回復は遅く、GVHDと同様の同種免疫応答の存在を示唆する経過をたどる。本実験系で、E $\alpha$ エンハンサーおよびLCKプロモーター下流に遺伝子を過剰発現するリンパ球系細胞特異的STAP過剰発現(Tg)マウスあるいはSTAPノックアウトマウスをドナーとして用いることで、STAP蛋白のallo-HSCT後の免疫状態についての機能を明らかにした。

### 4. 研究成果

本研究ではまず、移植片宿主病(graft versus host disease; GVHD)マウスモデルを用いた検討から、リンパ球系細胞に STAP 2 遺伝子を過剰発現すると、遷延する GVHD を発症する事を見出した。マウス骨髄・末梢血・胸腺や標的臓器である皮膚・腸管・肝臓・肺の解析を行ったところ、著明な胸腺萎縮と、移植後早期(day30)から出現する制御性 T 細胞数の低下の遷延が認められた。これらの結果から、胸腺萎縮や STAP-2 過剰発現による制御性 T 細胞の分化障害が GVHD 発症の機序として考えられた。そこで、STAP-2 過剰発現骨髄を移植ソースとして用いた場合、同系移植においても GVHD を誘発できるという仮説を立て、検証した。結果、致死性放射線照射を前処置として行う事で、B6 マウスをドナー・レシピエントとした同系移植実験においても、STAP-2 過剰発現マウスをドナーとすれば、同種移植と同様の GVHD を発症する事が分かった。またこの同系移植マウスにおいても、同種移植マウスと同様に、著明な胸腺萎縮と移植後の制御性 T 細胞数の低下が認められた。STAP-1 の機能についての検討も行い、STAP-1 遺伝子をリンパ球系細胞に過剰発現すると、STAP-2 遺伝子と同様に GVHD の重症化が促進される傾向を認めたが、統計学的に有意で一貫する結果を得ることが出来なかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Saito H, Ichii M, Toda J, Kitai Y, Muromoto R, Kashiwakura JI, Saitoh K, Tanimura A, Yokota T, Shibayama H, Matsuda T, Oritani K, Kanakura Y, Hosen N.	4. 巻 537
2. 論文標題 Graft-versus-host disease develops in mice transplanted with lymphocyte-depleted bone marrow cells from signal-transducing adaptor protein-2 transgenic mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun .	6. 最初と最後の頁 118-124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.12.080.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ichii M, Oritani K, Toda J, Saito H, Shi H, Shibayama H, Motooka D, Kitai Y, Muromoto R, Kashiwakura JI, Saitoh K, Okuzaki D, Matsuda T, Kanakura Y.	4. 巻 106
2. 論文標題 Signal-transducing adaptor protein-2 delays recovery of B lineage lymphocytes during hematopoietic stress	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Haematologica.	6. 最初と最後の頁 424-436
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2019.225573.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ichii M, Oritani K, Toda J, Hosen N, Matsuda T, Kanakura Y.	4. 巻 105
2. 論文標題 Signal-transducing adaptor protein-1 and protein-2 in hematopoiesis and diseases.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Exp Hematol.	6. 最初と最後の頁 10-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exphem.2021.11.002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hideaki Saito, Michiko Ichii, Jun Toda, Yuichi Kitai, Ryuta Muromoto, Junichi Kashiwakura, Kodai Saitoh, Takafumi Yokota, Hirohiko Shibayama, Tadashi Matsuda, Kenji Oritani, Yuzuru Kanakura, Naoki Hosen.
2. 発表標題 Signal transducing adaptor protein (STAP)-2 accelerates graft-versus-host-disease
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会・総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	一井 倫子  (Ichii Michiko)  (30633010)	大阪大学・医学系研究科・助教   (14401)	
研究分担者	柴山 浩彦  (Shibayama Hirohiko)  (60346202)	大阪大学・医学系研究科・招へい教授   (14401)	
研究分担者	戸田 淳  (Toda Jun)  (90770834)	大阪大学・医学部附属病院・医員   (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------