

令和元年6月11日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08851

研究課題名(和文)自己免疫疾患に関連する脱リン酸化酵素のT細胞における機能解析

研究課題名(英文)Functional analysis of autoimmune-associated phosphatases in T cell

研究代表者

多根 彰子(橋本彰子)(Hashimoto-tane, Akiko)

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・上級研究員

研究者番号：10415226

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ゲノム解析で自己免疫性疾患(1型糖尿病、関節リウマチ)に関連した2つの脱リン酸化酵素の解析を行った。PTPN22は免疫反応を抑える方向に働くが、免疫T細胞の中で他の抑制分子と協調して、異物に敏感に反応しないようにしていた。遺伝子多型がある場合(R619W)は抑制分子の集合が阻害され、T細胞が過敏になり自己免疫に繋がると考えられた。PTPN2も免疫を抑えるが、PTPN22とは異なり、遺伝子発現の調整をしていた。遺伝子多型によりPTPN2の量が減ると、炎症を引き起こす伝達物質が多く作られ、体内に放出された。その結果、小さな炎症も促進され、やはり自己免疫に繋がると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年のゲノム関連解析は多種多様なBig dataを与えているが、統計データには裏付けとなる生物学的な証拠が必要である。遺伝子の変異箇所はわかっていても、変異による分子細胞レベルの変化を知らなければ治療や予防に役立つことは難しい。

本研究ではゲノム解析で自己免疫性疾患(1型糖尿病、関節リウマチ)に関連した2つの脱リン酸化酵素の細胞内分子機能を明らかにした。この結果は治療や予防の方針決定に貢献できる。例えばPTPN22にSNPsがある場合はT細胞受容体の阻害、異物との接触回避などが効果的で、PTPN2にSNPsがある場合は転写を抑える方法が効果的だと考えられる。よって学術および臨床的に意義深い。

研究成果の概要(英文)：GWAS study demonstrated that two tyrosine phosphatases (PTPN22 and PTPN2) had high association with autoimmune-diseases; type 1 diabetes, Rheumatoid arthritis etc.,. I analyzed the molecular functions of these phosphatases in T cell. PTPN22 works for stopping immune responses. In T cells, PTPN22 made molecular complex with other inhibitory molecules and reduced the sensitivity of T cell for foreign materials. The SNPs mutant product(R619W)of PTPN22 failed to make the complex and resulted in T cell hyper responsiveness and higher susceptibility for autoimmune-diseases. PTPN2 also works on stopping immune responses by regulating gene expressions. The reduction of PTPN2 by nucleotide polymorphism increased expressions of many kinds of inflammatory cytokines and chemokines. As a result, even small inflammation would be enhanced and would be followed by autoimmune-responses.

研究分野：免疫学

キーワード：自己免疫性疾患 抗原受容体シグナル 脱リン酸化酵素 蛍光イメージング

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノムワイド関連解析(GWAS)で、I型糖尿病、リウマチ、に相関する一塩基型遺伝子多型(SNP)が脱リン酸化酵素 PTPN22(Lyp)、PTPN2(TCPTP)に検出された。これらの結果を受けて、モデルマウスの研究が盛んに行われていたが、分子メカニズムは明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

自己免疫疾患の関連分子である脱リン酸化酵素、PTPN22(Lyp)および PTPN2(TCPTP)、の T 細胞受容体シグナルにおける役割を明らかにし、自己免疫疾患が PTPN22 または PTPN2 依存的に発症するメカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

- [1] PTPN22、PTPN22(R620W)、PTPN2 など脱リン酸化酵素の細胞内 TCR シグナルにおける役割を野生型細胞、PTPN2^{-/-}細胞、PTPN22^{-/-}細胞、PTPN22(R620W)細胞を用いて明らかにする。また、PTPN22-strep-tag ノックイン T 細胞を用いて、新規の基質、結合分子を明らかに
- [2] PTPN22 に関して自己免疫疾患発症率が高いとされた 129 系統で T 細胞特異的 PTPN2^{-/-}及び PTPN22^{-/-}マウスを作成し、遺伝子発現やリン酸化分子の包括的な解析を行い、自己免疫疾患自然発症の機構を明らかにする。

4. 研究成果

[1] PTPN22はT細胞活性化の開始点であるT細胞受容体(TCR)ミクロクラスターに、ネガティブフィードバックらしく30秒程度の遅れを持って集合した。マスペクトルを用いた結合分子探索では、既知のCskに加えて、STS-1、PSTPIPなどホスファターゼ関連分子が同定された。それら分子もTCRミクロクラスターに集合したので、PTPN22とネガティブコンプレックスを形成しTCR活性化を抑制すると考えられた。GWASでI型糖尿病等と高く相関したSNPS産物であるPTPN22(R619W)変異体は、CskやSTS-1との結合が弱く、TCRミクロクラスターへの集合も減少したことから、ネガティブコンプレックスが自己免疫性疾患の鍵となる事が推察された。

図1、PTPN22クラスター形成の遅れ

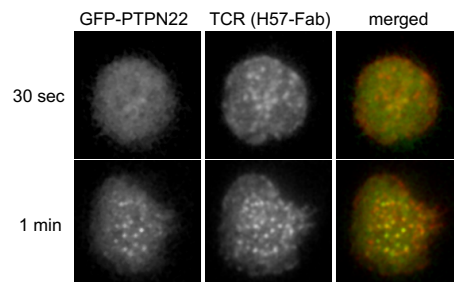
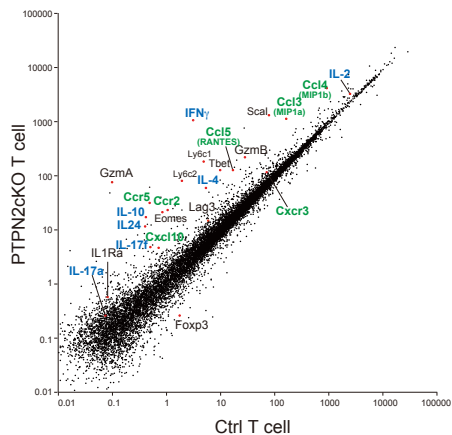


図2、PTPN22欠損細胞における転写上昇

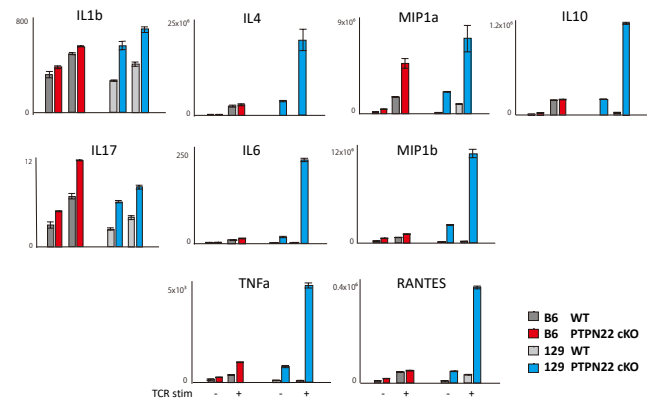


PTPN2は核や小胞体に局在し、細胞膜と接する様子は観察されず、TCRやサイトカイン受容体近傍で機能すると考えられてきたイメージを覆した。PTPN2欠損T細胞の遺伝子発現パターンを解析した所、既知のIFNγに加え、多くのサイトカインやケモカインの発現が上昇し、結合分子探索では importin など基本的な細胞機能に関わる分子が検出された。従ってPTPN2は受容体から離れた場所で広いターゲットに作用すると考えられ、引き続き研究課題としている。

PTPN2およびPTPN2欠損マウスのT細胞を並行して解析した結果、両者の共通点として、炎症性であるIL-6、IFNγ、CCL3、CCL4の産生が亢進し炎症を起こしやすい性質が予測された。一方で抑制性サイトカインIL-10も上昇したことから、抑制された炎症が持続的に継続し自己免疫性疾患の発症に至る、というモデルが想定された。これらの考察は今後の研究に繋げる。

[2] 12 回のバッククロスを経て、129 系統の T 細胞特異的 PTPN2^{-/-}及び PTPN22^{-/-}マウスを樹立した。細胞を取り出して解析すると、C57BL/6 系統よりも炎症性サイトカインの産生が増えていたが、50 週程度観察を続けても自発的な自己免疫反応は見られなかった。今後、自然発症モデルは諦めて、自己免疫疾患を誘導する実験系を試みるつもりである。

図3. PTPN22欠損T細胞のサイトカイン産生について、C57BL/6と129系統の比較



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

① MS Kong, * Hashimoto-Tane A, * Kawashima Y, Sakuma M, Yokosuka T, Kometani K, Onishi R, Carpino N, Ohara O, Kurosaki T, Phua KK, and Saito T. (*equally contributed first authors)

Inhibition of T cell activation and function by the adaptor protein CIN85.

Science Signaling 12(567) aav4373, 2019 査読有

② Hashimoto-Tane A., Yokosuka T., Saito T

Analyzing the Dynamics of Signaling Microclusters

Methods in Molecular Biology 1584 p51-64. 2017 査読有

③ 多根(橋本)彰子

「TCR マイクロクラスター、マイクロリングと T 細胞活性化」

臨床免疫・アレルギー科 Vol.67, No.3 2017 年 3 月発行 295 査読無し

④ Hashimoto-Tane A., Saito T.

Dynamic regulation of TCR-microclusters and the microsynapse for T cell activation.

Frontiers Immunology 7, Article number 255, 2016 査読有

⑤ Hashimoto-Tane A., Sakuma M., Ike H., Yokosuka T., Kimura Y., Ohara O., Saito T.

Micro-adhesion rings surrounding TCR microclusters are essential for T cell activation.

Journal of Experimental medicine 213(8), p1609-1625, 2016 査読有

[学会発表] (計 6 件)

① Hashimoto-Tane Akiko, Takashi Saito

「Functional analysis of autoimmune-associated phosphatase PTPN2 in T cells」

Annual Meeting of the Japanese society for Immunology 2018 年 12 月 12 日

② Hashimoto-Tane Akiko, Takashi Saito

「Molecular assembly and function of PTPN22 in T cell receptor signaling」

FASEB immunoreceptors and Immunotherapy 2018 年 6 月 13 日

③ Hashimoto-Tane Akiko, Takashi Saito

「Molecular assembly and function of PTPN22 in T cell receptor signaling」

Annual Meeting of the Japanese society for Immunology 2017年12月12日

④ Hashimoto-Tane Akiko, Takashi Saito

「Function of autoimmune-related phosphatase PTPN22」

日本薬理学会年会 2017年3月15日

⑤ Hashimoto-Tane Akiko, Takashi Saito

「Function of autoimmune-related phosphatase PTPN22」

Annual Meeting of the Japanese society for Immunology 2016年12月5日

⑥ Hashimoto-Tane Akiko, Takashi Saito

「Micro adhesion rings surrounding TCR microclusters are essential for T cell activation」

EMBO conference 2016年9月3日

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。