

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「アレルギー疾患・
自己免疫疾患などの発症機構と治療技術」

研究課題「液性免疫制御による
新しい治療法の開発」

研究終了報告書

研究期間 平成21年11月～平成27年3月

研究代表者：黒崎知博
(大阪大学免疫学フロンティア
研究センター、特任教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

anti-CD20(rituximab)を用いた depletion 療法は慢性関節リウマチ(RA)に効果を示し、B 細胞系列をターゲットとした治療法開発の可能性を示している。本研究では、従来アプローチされてこなかったメモリーB 細胞・プラズマ細胞をターゲットにして、先ず、その特異な機能を支える基礎的な細胞・分子基盤を明らかにする。更に、これらの細胞を介する免疫寛容メカニズムに焦点をあて、ヒトへの治療応用を念頭におき、明らかにしていく。

メモリーモデル系として黒崎らはハプテン NP 系を、高橋らはインフルエンザウイルスの系を用いて研究を遂行した。その結果、2次応答の迅速反応性は、主として以下の3つのメカニズムが協調的に働いて発揮されているとの提唱に至った。1) クラススイッチしたメモリーB 細胞は、2次抗原侵入の際、先ず、最初に抗原が集積する場所に位置していた(抗原アクセス advantage)。2) 又、このメモリーB 細胞の近傍にはメモリーT 細胞が位置しており、これら両者の細胞の相互作用が必須であった(B-T 空間的 advantage)。3) 更に、これらメモリーリンパ球は、いずれも、ナイーブ細胞とは異なり、迅速活性化能を獲得していた(リンパ球内因性 advantage)。

免疫寛容に関しては、黒崎らはマウスプラズマブラストがIL-10を産生し、免疫抑制に関与していることを明らかにした。又健常人ヒト末梢血においても同様にプラズマブラストはIL-10産生能が非常に高いことを示し、現在RAをはじめとして種々の自己免疫疾患でのIL-10産生能を検定している。

古川らは、抗体IgGのFc部位のシアル酸(SA)化が免疫寛容に重要な寄与をしているという仮説検定を、先ず、遺伝子改変モデルマウスを用いて行い、RAにおいて、このメカニズムが寄与していることを明らかにした。更に高橋、黒崎らと共同で、マウスRAモデルを用いて、強くSA化した抗体投与が病態改善に効果があること、更にヒトRA血清では健常人に比べてSA化が低いことを見出した。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 液性免疫記憶の迅速反応性を支える細胞・分子基盤の提出(論文)

概要:メモリーB 細胞のみならずメモリーT 細胞も迅速反応性に重要な寄与をしていることを証明した。この2種類の細胞は、空間的に近傍に位置し、2次抗原侵入時に速やかに両者が相互作用すること。又、メモリーT 細胞はエピジェネティック変化がBcl6ローカスに生じ迅速な発現上昇が起こること、メモリーB 細胞はBach2の発現低下が生じプラズマ細胞への迅速分化能を獲得していることを示した。

2. インフルエンザ感染における交差結合性メモリーB 細胞の生成機序

概要:液性免疫記憶の重要な特徴の一つは、再感染時変異ウイルスが侵入した時、交差結合性抗体を産生し生体防御に寄与することである。インフルエンザ感染に関してメモリーB 細胞が、この交差性抗体レバトア獲得するためには、肺の気道組織において異所性に形成される胚中心で、変異を積み重ねることが重要であることを示した。

3. IL-10産生プラズマブラストを介する自己炎症抑制メカニズムの同定(論文)

概要:ヒト多発性硬化症のマウス実験モデルEAEを用いて、活性化されたB 細胞ではなくプラズマブラストがIL-10を産生すること、そして、このIL-10が樹状細胞(DC)の活性化を抑制し、その結果Th1, Th17 T細胞の分化抑制、ひいては炎症抑制を生じさせていることを示した。この結果は従来提唱されていた「制御性B 細胞モデル」に疑義を呈するもので、私たちは「活性化 feed-back モデル」の提出に至った。更にヒト末梢血細胞でもプラズマブラストのIL-10産生能が非常に高いことを示した。

<科学技術イノベーション・臨床応用に大きく寄与する成果>

1. IgG 抗体 Fc 領域の N 型糖鎖のシアル酸化を増強することによるリウマチ(RA)疾患病態制御の可能性

概要:RA 病態に IgG 抗体,特にコラーゲン、シトルリン化タンパク質に対するものが関与するが、この IgG 抗体のシアル酸化が、炎症抑制に働いていることを、先ず、マウス RA モデルを用いて示した。又、強くシアル酸化した抗体を移入することにより RA 病態改善効果があることを示した。更にヒト RA 患者血清を用いて IgG のシアル酸化が健常人に比べて有意に減少していることを示した。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

①「研究代表者(黒崎・高橋)」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
黒崎 知博	大阪大学免疫学 フロンティア研究センター	特任教授	H21.11～
馬場 義裕	同上	特任准教授	H21.11～
伊勢 渉	同上	特任准教授	H23.4～
井上 毅	同上	特任助教	H23.1～
松本 真典	同上	特任助教	H21.11～
田中 伸哉	同上	特任助教	H25.4～
中川 理奈子	同上	特任研究員	H22.1～H25.4
福山 英啓	理化学研究所	上級研究員	H25.4～
新中須 亮	同上	研究員	H24.6～
饗場 祐一	同上	研究員	H21.11～H25.3
米谷 耕平	同上	研究員	H21.11～H26.5
森山 彩野	同上	基礎科学 特別研究員	H21.11～H24.3
馬場 朱美	大阪大学免疫学 フロンティア研究センター	特任技術職員	H21.11～
増田 春海	同上	特任技術職員	H21.11～
荒川 明美	同上	特任技術職員	H21.11～
高橋 宜聖	国立感染症研究所	室長	H21.11～
小野寺 大志	同上	主任研究官	H21.11～
安達 悠	同上	研究員	H25.4～
阿戸 学	同上	部長	H21.11～H26.3
松村 隆之	同上	主任研究官	H21.11～H26.3
福原 香織	同上	非常勤職員	H24.4～H25.3
相澤 竜太郎	同上	M2	H21.11～H24.3
横井 勇祐	同上	M2	H21.11～H24.3

研究項目

- ・ メモリーB 細胞の存在部位・活性化部位の同定
- ・ メモリーB 細胞活性化に必須なほかの細胞系列要求性
- ・ メモリーB 細胞活性・生存に必須なファクター検索
- ・ RA・EAE モデルを用いた免疫寛容メカニズム

②「共同研究者(古川)」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
古川 鋼一	名古屋大学医学系研究科	教授	H21.11～
大海 雄介	同上	研究員	H21.11～
近藤 裕史	同上	研究員	H22.4～H25.8
水野 岳子	同上	研究補助員	H24.2～

研究項目

- ・ IgG シアル酸モデルの検定

- ・ RA モデルを用いた免疫寛容メカニズム

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

名古屋大学医学部の整形外科の RA チームとの間で、RA の患者およびモデルマウスの解析方法や情報について恒常的な討論を行う場を作るとともに、本プロジェクト以外の共同研究を計画中である。

東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科の研究グループと、頻繁に意見交換を行いながら、緊密な連携体制を構築した。

大阪大学医学部・免疫アレルギー内科と連携し、関節リウマチ患者から採血し、末梢 B 細胞の解析を行った。

§ 3 研究実施内容及び成果

3.1 メモリーB細胞の存在部位・活性化部位の同定(黒崎グループ、高橋グループ)

(1)研究実施内容及び成果

「メモリーB細胞が何処に存在するのか」「何処で活性化されるのか」という場所の問題は、メモリーB細胞の機能発現を考える上で必須の課題である。

この課題解決に古典的な組織切片を用いた実験の重要性はいうまでもない。これに加え、蛍光蛋白質を用いた Fate mapping 法、増殖している細胞(S/G2/M期)で蛍光を発する Fucci マーカー (Sakaue-Sawano et al, Cell 2008)を導入して、in situ で「分化履歴のはっきりした細胞」の「活性化状況」を測定できるようにした。

モデル抗原 NP を用いた系で、主として IgM タイプ及び IgG1 タイプのメモリーB細胞が作られるが、IgG1 メモリーB細胞は退縮した胚中心(GC)の近傍に存在し(図1)、2次抗原投与後にこの、GC 近傍に存在する細胞が活性化することを明らかにした(図2)。IgG1 メモリーB細胞とは異なり、IgM メモリーB細胞は脾臓の濾胞に IgM ナイブ B細胞と同様、scatter して存在していることも判明した(黒崎グループ)。このように IgM、IgG1 タイプメモリーB細胞の存在様式が異なることは、それぞれの細胞の生存に必須のニッチェが異なることが考えられ、事実、後述するように、それぞれのメモリーB細胞に必須の生存因子も異なることが明らかになった。

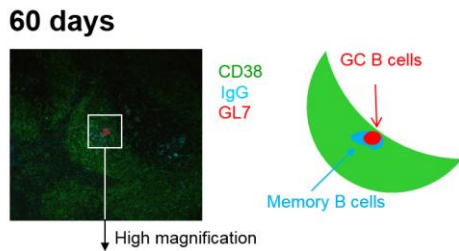


図1 IgG1メモリーB細胞は退縮した胚中心の近傍に存在する

NP-CGG/Alumにて免疫し60日経過後の個体の脾臓を免疫組織化学染色法にて解析した。CD38(緑)陽性領域はB細胞濾胞を示す。GL7(赤)陽性は胚中心を、IgG(青)陽性細胞はIgGにクラススイッチしたB細胞を示す。IgGメモリーB細胞(IgG⁺CD38⁺GL7⁻)は胚中心(GL7⁺)の近傍に存在していた。

2次抗原投与

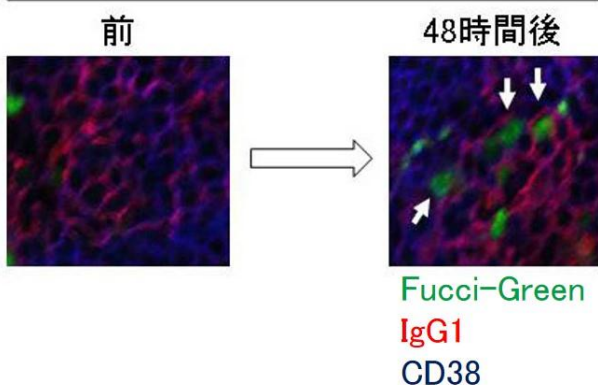


図2 Fucci-Greenは、細胞が増殖をはじめてS期に入るとGreenに発色する。確かに2時抗原投与時にGC近傍に存在するIgG1メモリー細胞(red)が、増殖を始めていることを示している。

ウイルス感染を用いたメモリーB細胞の存在部位・活性化部位の同定

インフルエンザウイルスを用いた気道感染の系では、クラススイッチした従来型のメモリーB細胞が近位リンパ節、および脾臓を始めとする全身の二次リンパ組織に誘導されることに加え、感染局所の肺組織に表現型の異なるメモリーB細胞サブセットが存在することを明らかにした。さらに、ウイルス再感染の際、この肺組織のメモリーB細胞が、他の部位に存在する記憶B細胞に先駆けて活性化し、感染防御に重要な役割を担うことを証明した。(図3)。

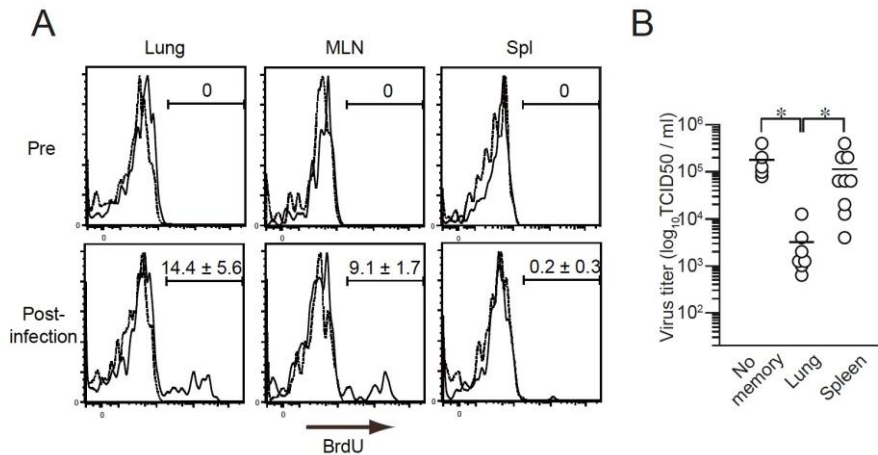


図3 ウイルス再感染後のメモリーB細胞の再活性と感染防御能の解析

(A) インフルエンザウイルスを再感染する前 (Pre) と感染 3 日後 (Post-infection) に肺 (lung)、所属リンパ節 (MLN)、脾臓 (spl) を摘出し、感染後のメモリーB細胞の活性化頻度を比較した。方法として、アッセイ 24 時間前に BrdU を投与し、BrdU の取り込み率から再活性化速度を計測した。(B) 精製した肺、脾臓メモリーB細胞を SCID マウスに T 細胞とともに移入後、レシピエントマウスにインフルエンザウイルスを経鼻感染させた。感染 6 日後の気管洗浄液中に含まれるウイルス濃度を比較することにより、移入したメモリーB細胞の感染防御能を比較した。

肺組織のメモリーB細胞は、変異ウイルスへの交差結合性の高い抗体レパトアを発現する結果、侵入した変異ウイルスに対し、優れた交差防御能を示すことを見いだした。さらに、この抗体レパトアの獲得には、気道において異所的に形成される胚中心が重要な役割を担うことを明らかにした。(図4)

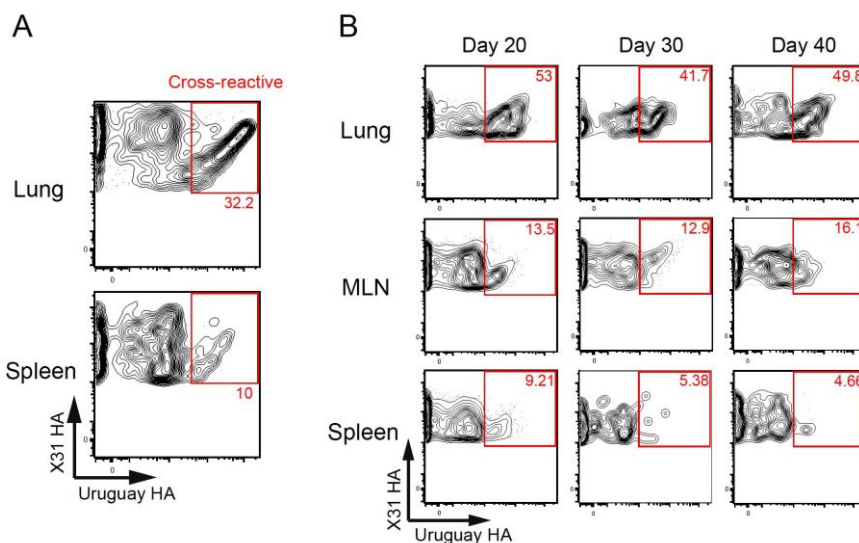


図4 メモリーB細胞と胚中心B細胞の変異ウイルスへの交差結合性の解析

感染株(X31)と変異株(Uruguay)に特異的な B 細胞同定技術を開発し、変異株に交差結合する B 細胞の割合を組織間で比較した。(A) 感染 160-180 日後のメモリーB細胞の交差結合性。(B) 感染 20、30、40 日後の胚中心B細胞の交差結合性。

3. 2 他の細胞系列要求性の検定(黒崎グループ)

(1)研究実施内容及び成果

メモリーB細胞の迅速反応性は、従来B細胞内因的因子によって制御されていると考えられ、それ故にメモリーB細胞を単離して *in vitro* の研究手法を用いて研究がすすめられてきた。しかしながら、この迅速反応性がT細胞依存性抗体反応に典型的にみられることより、B細胞内因的因子とB細胞以外の外因的因子の、両者が協調的に働いていると考える方がむしろ妥当性がある。外的因子のうち、先ずどの細胞系列が必要とされるかを明らかにし、迅速反応性に寄与するメカニズムを明らかにする目的で以下の実験を行った。

メモリー特異的要求性を検索するためには、一次免疫後、おのおのの細胞群の depletion を誘導的に行なう必要がある。従って、先ず、蛋白抗原を用いた免疫反応で、液性メモリー反応にはT細胞の要求性が必須であることをCD4抗体を用いて明らかにした(図5)。

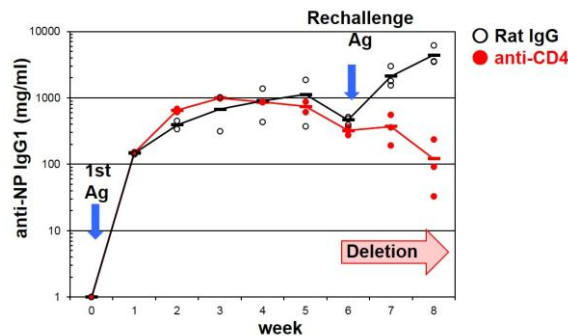


図5 メモリーB細胞の再活性化にはCD4 T細胞が必要である
NP-CGG/alumにて免疫し、6週間後にCD4 T細胞を除去するために抗CD4抗体もしくはコントロールRat IgG抗体を投与した。その後、NP-CGG/PBSにて再チャレンジし、抗NP IgG抗体価をELISA法にて測定した。コントロール群は急速な抗NP IgG抗体を産生するのに対し(黒丸)、CD4 T細胞除去群では抗体価の上昇が認められなかった(赤丸)。

以上の実験結果はどのT細胞サブセットが必要とされるのかは物語っていない。メモリーB細胞の近傍に存在するT細胞がCXCR5⁺, PD1⁺で濾胞ヘルパーT(T_{fh})細胞由来のメモリーT_{fh}細胞の可能性が強く示唆されたので、T_{fh}の分化過程を追跡できる実験系をセットアップした。特に重要な工夫は、T_{fh}活性化に必須の転写因子Bcl6のレポーターマウス(Kitano et al; Immunity 2011)をもちいたことである。更にBcl6^{flox}マウスを作成し、Bcl6をメモリーフェイズで欠損させると、メモリーT_{fh}細胞の数が減少し、結果的にメモリーT_{fh}細胞の枯渇を誘導できることが判明した(図6)。このようにメモリーT_{fh}細胞を枯渇させるとメモリーB細胞の活性化がほとんど生じないことが明らかになった。すなわちメモリーT細胞のなかで、メモリーT_{fh}がメモリーB細胞活性化に必須の役割を担っている。又、2次免疫反応ではメモリーT_{fh}細胞でBcl6が速やかに上昇すること、それとよく相関してIL-21の発現がみられることより、Bcl6の上昇がメモリーB細胞活性化にも必須と考えられる(図7)。

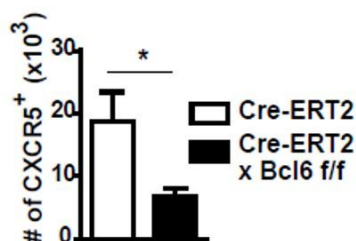


図6 Bcl6を誘導性に欠損させるとメモリーT_{fh}細胞数が減少する

Bcl6^{flox} x Rosa-ERT2-cre x TEa TCR Tg マウス由来CD4⁺T細胞(Cre-ERT2 x Bcl6^{f/f})(CD45.1⁺)、あるいはRosa-ERT2-cre x TEaTCR Tg マウス由来CD4⁺T細胞(Cre-ERT2)(CD45.1⁺)をC57BL6Jマウスに移入し、翌日NP-Ea-GFP/Alumで免疫した。6週後タモキシフェンを投与した(2mg/匹、三回投与)。最後の投与から10日目に脾臓に存在するドナーT細胞のCXCR5⁺メモリーT細胞の数を計測した。

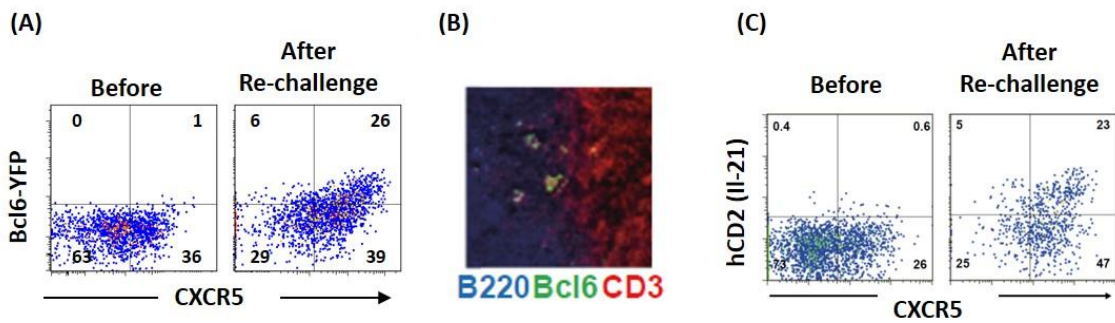
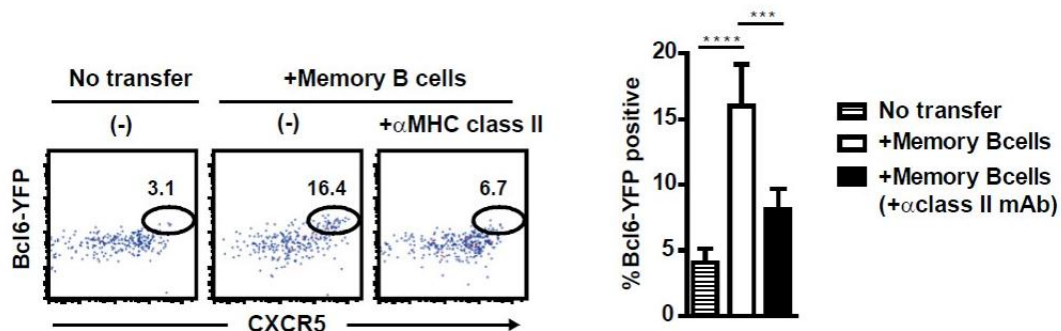


図7 メモリー-T_h細胞は再刺激後速やかに Bcl6 や IL-21 を発現する (A & B) Bcl6 YFP x TEa TCR T_g マウス由来 CD4⁺ T 細胞 (CD45.1⁺) を C57BL6J マウスに移入し、翌日 NP-Ea-GFP/Alum で免疫した。8 週後 NP-Ea-OVA で再免疫し、24 時間後のドナー T 細胞の CXCR5 および Bcl6-YFP 発現 (A) および脾臓における Bcl6-YFP の局在 (B) を解析した。(C) IL-21-hCD2-reporter マウスを NP-2W1S-GFP/Alum で免疫した。6 週後 NP-2W1S-OVA で再免疫し、24 時間後の 2W1S 特異的 T 細胞の hCD2 発現 (IL-21 発現) を解析した。2W1S 特異的 T 細胞の検出には 2W1S/I-A^b テトラマーを用いた。

それでは、「メモリー-T_h の Bcl6 の速やかな上昇を引き起こすメカニズムは何なのか？」を明らかにする実験を次におこなった。ナイーブ T 細胞の場合樹状細胞 (DC) が Bcl6 の発現上昇に必須であるが、メモリー-T_h 細胞の場合 DC は要求されず、メモリー-B 細胞が抗原提示細胞 (APC) として重要であることを示した (図8)。すなわち、メモリー-B 細胞の重要な機能の一つは、APC 細胞として機能し、近傍に存在するメモリー-T_h 細胞を直接活性化することを証明した。更に、メモリー-B 細胞で活性化されたメモリー-T_h 細胞はナイーブ T 細胞に比べて極めて迅速に Bcl6 遺伝子の発現上昇がみら



れ (図7)、エピジェネティックに変化しており poised の状態にあることが強く示唆された。

図8 メモリー-T_h細胞の活性化はメモリー-B細胞の抗原提示により誘導される

Bcl6 YFP x TEa TCR T_g マウス由来 CD4⁺ T 細胞 (CD45.1⁺) を C57BL6J マウスに移入し、翌日 Ea-GFP/Alum で免疫した。6 週後、B1-8^{hi} メモリー-IgG B 細胞を *in vitro* で anti-MHC class II 抗体で処理し、この C57BL6J マウスに移入した。翌日 NP-Ea-OVA で免疫し、24 時間後のドナー T 細胞の CXCR5 および Bcl6-YFP 発現を解析した。

3.3 ファクターの検索 (黒崎グループ、高橋グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

「メモリー-B 細胞の迅速反応性・長期生存性を支える内因性ファクターは何なのか？」このファクターの同定・単離を行なう。

長期生存性に関して、先ずナイーブ B 細胞の生存に必須とされている細胞表面レセプター (BCR, BAFF-R) の要求性から探索した。メモリー B 細胞生成後にこれらのレセプターを欠損させる必要があるため、BAFF-R^{flox}, B1-8^{flox} マウスを作成した。実験結果は図に示したとおりである。BCR の場合 IgM タイプ IgG1 タイプのメモリー B 細胞ともにその数の激減が見られた。BAFF-R の場合 (図9)、IgM メモリー B 細胞はナイーブ B 細胞同様の要求性が認められたが、IgG1 メモリー B 細胞の場合、その要求性は認められたが、依然として十分な細胞は残存しており、redundant なレセプター (TACI, BMCA) が要求されるか、全く異なったタイプのレセプターシグナルが要求されることが判明した。

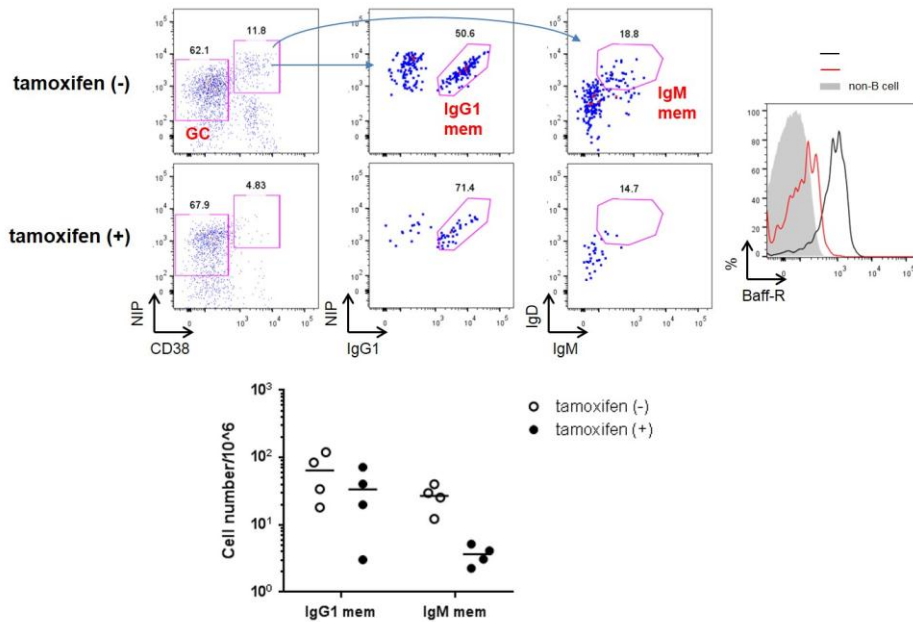


図9 記憶 B 細胞における BAFF-R の生存要求性

BAFF-R(f/f) x ERT2^{cre} x B1-8^{hi} 脾臓 B 細胞をコンジェニックマウスに移入し、NP-CGG/Alum で免疫した。4 週後、tamoxifen 投与により誘導的に BAFF-R を欠損させ、2 週後に脾臓に残存している記憶 IgM B 細胞および IgG1 B 細胞数を測定した。

上: 脾臓細胞の FACS プロット。および BAFF-R の細胞表面発現レベルによる deletion の確認。

下: 1×10^6 移入細胞数当たりの各 B 細胞サブセットの細胞数。

IgM 及び IgG1 メモリー B 細胞の BCR 要求性は、たんに BCR が細胞表面に発現しているだけでは不十分で、細胞内シグナル伝達活性を有して初めて生存が担保されることも示すことができた。PLC γ 2 は BCR シグナルの一つの重要な経路であるが、この PLC γ 2 を BCR 同様にメモリー B 細胞生成後欠損させると、IgG1 タイプメモリー B 細胞の顕著な減少が見られた。結果、1 次免疫反応に比べて、2 次メモリー抗体反応は非常に障害を受けていた (図10)。

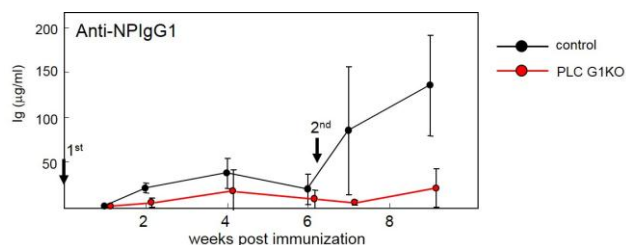


図10 IgG1 B 細胞を特異的に PLC γ 2 を欠損させると、一次反応 (1st) は、あまり影響を受けなかったが、メモリー反応 (2nd) は大きく障害を受けた。

メモリーB細胞の迅速反応性を検定する実験系においては、抗原親和性が変化すると、その反応性が変化すること、又、通常ナীবB細胞に比してメモリーB細胞の場合抗原親和性が上昇する。従って、この実験の場合、BCRをハプテンNP高親和性(NP^{high})に固定したノックインBCRを用いて抗原親和性をコントロールした状況で実験を行う必要がある。

以上実験系を確立した後、先ず、IgM ナীবB細胞に比べてIgG1メモリーB細胞が、再度の抗原刺激により迅速にプラズマ細胞へ分化することを明らかにした。この迅速反応性を説明する仮説として、今まで、BCR intrinsic説とBCR extrinsic説の2つが提唱され活発に議論されてきた(図11)。BCR intrinsic説では、IgMではheavy chainの細胞内領域が殆ど存在しないが、IgG1 heavy chainでは28アミノ酸からなる領域が存在し、この領域が一義的にIgG1メモリーB細胞の生物学的活性を決定する上で重要であるという説である。この説を直接確かめるために、IgG1クローンマウスを作成し、IgG1ナীবB細胞の樹立に成功した。この細胞は細胞表面BCRがIgG1にもかかわらず、IgMタイプナীবB細胞同様の挙動を示した。このことは、このIgG1 heavy chain細胞内領域のみでは、IgG1メモリーB細胞のユニークな生物学活性をしめすためには十分でないこと。即ち、抗原による感作により初めて、BCR extrinsicファクターも供給されて、プラズマ細胞への迅速分化能を有すと考えられる(図11)。

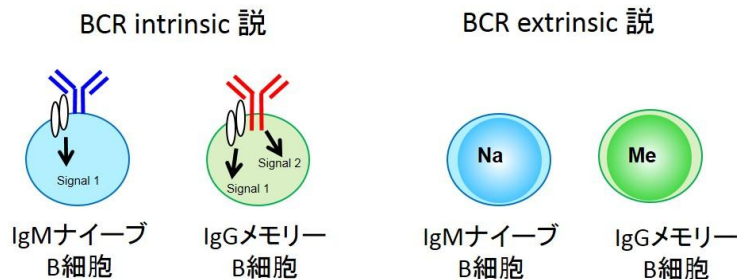
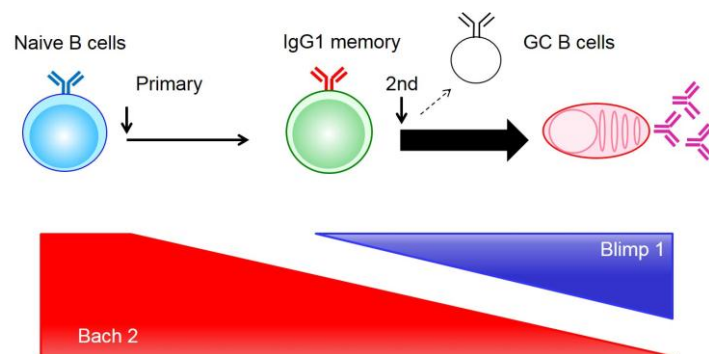


図 11 メモリーB細胞迅速反応性メカニズムの2つの仮説

- (1)BCR intrinsic説: IgM BCRとIgG BCRではシグナルの伝達能力に差があるためこの違いが迅速反応性の違いを引き起こすという仮説。
- (2)BCR extrinsic説: 抗原感作により引き起こされるBCR以外の変化、すなわちシグナル分子、転写因子などの発現量の変化が迅速反応性を可能にするという仮説。

更にこの迅速分化能を支えるファクターを検索したところ、Pax5, Bach2というプラズマ分化抑制転写因子が、IgG1メモリーB細胞では有意に低下していることが判明した。この現象はヒトメモリーB細胞の場合も認められている(Hematopathology; 2011)。Bach2遺伝子のknockdown, haploinsufficiency mutantを用いた実験よりBach2の抑制が直接的原因であることが強く示唆された(図12)(黒崎グループ)。



Repression of Bach 2 predisposes IgG1 memory B cell towards plasma cell differentiation

図12 IgG1 メモリーB 細胞の迅速反応性は転写因子 Bach2 の発現低下により引き起こされる
 ナイーブ B 細胞で高発現している転写因子 Bach2 は抗原感作により IgG1 メモリーB 細胞ではその発現が低下する。Bach2 はプラズマ細胞分化に必須の Blimp1 転写因子の発現を抑制しているが、IgG1 メモリーB 細胞では Bach2 の発現が低下しているため、Blimp1 が発現しやすい状態になっている。そのため、IgG1 メモリーB 細胞はプラズマ細胞への迅速分化能を有することができる。

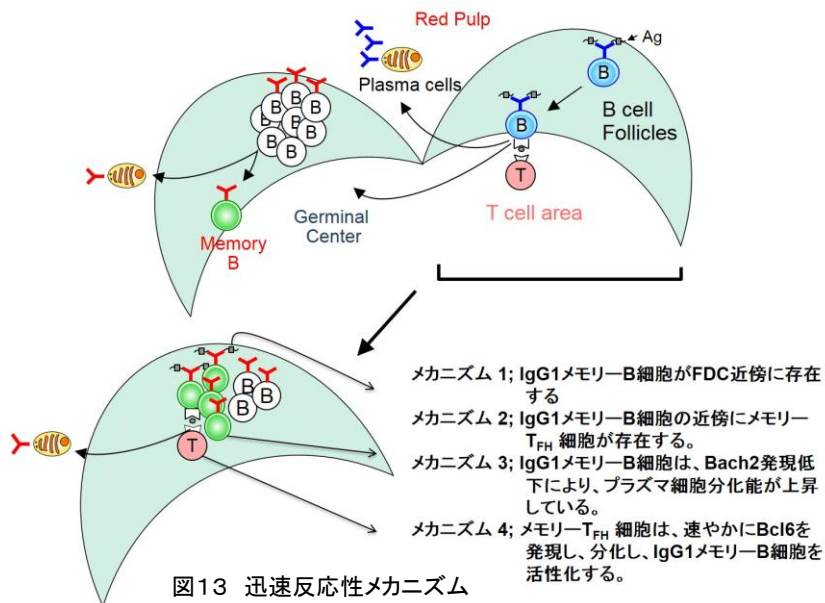
以上1)2)3)の実験結果より、「何故メモリー反応で IgG1 抗体が迅速に産生されるのか」という課題に関して、黒崎らは以下のようなメカニズムを提唱している(Ise et al; Nat. Rev. Immunol (in press)) (図13)。

メカニズム1; IgG1 メモリーB 細胞は2次抗原侵入に際して、抗原が一番最初に集積しやすい FDC 近傍に存在し、いち早く抗原を感受する。

メカニズム2; IgG1 メモリーB 細胞は感受した抗原を endocytosis により取り込み class II 複合体として細胞表面に提示する(APC 機能)。又、この IgG1 メモリーB 細胞近傍に存在している T 細胞、すなわち、既に CXCR5⁺ で B 細胞濾胞に存在しているか、T-B 境界領域に存在している、メモリーT_{fh} 細胞が、メモリーIgG1細胞によって活性化される。

メカニズム3; メモリーT_{fh} 細胞は、おそらく poised 状態に陥っており、IgG1 メモリーB 細胞により、速やかに Bcl6 を発現し、それに伴い IL-21 を発現する。

メカニズム4; IgG1 メモリーB 細胞は、ナイーブ細胞とは異なり、Bach2 発現低下により、pre-differentiated state に陥っており、メモリーT_{fh} 細胞により、迅速に分化が誘導され、プラズマ細胞へと分化する(IgG メモリーB 細胞プレ分化モデル)。



メモリーB 細胞は TLR7/MyD88 を高発現するものの、その機能的な役割はこれまで不明であった。高橋グループは、インフルエンザワクチンに対するメモリーB 細胞応答を解析したところ、ヒト接種用インフルエンザワクチンとして長年使用されている全粒子ワクチン(TLR リガンドを含む)とスプリットワクチン(TLR リガンドを含まない)に対するメモリーB 細胞応答が質的に異なることを見いだした。さらに、異なるワクチン剤型に対するメモリーB 細胞応答の質的な差が、メモリーB 細胞内因性の TLR7/MyD88 シグナルに依存しており、このシグナルの存在下では、より親和性の高いメモリーB 細胞が優先的に再活性化し、迅速にプラズマ細胞に分化することを見いだした。

3. 4 IgG シアル酸化モデルの検定(古川グループ)

(1)研究実施内容及び成果

「IgG 抗体の Fc 部位におけるシアル酸付加により炎症反応が negative に制御される」というモデルは、自己免疫疾患の新規の治療薬開発の可能性を与えるもので、このモデルの妥当性検討は非常に重要である。古川グループは遺伝学的手法を用いてアプローチした。

活性化 B 細胞に特異的に alpha2,6-シアル酸転移酵素遺伝子 (ST6Gal1, ST6Gal2) をノックアウトして、コラーゲン誘導 RA に対する反応の比較検討を行った。まず、AID Cre マウスと交配した ST6Gal1 f/f において、IgG 上のシアル酸の消失が確認された。このマウスを用いて、CIA 誘導時の RA 発症率と病像の比較検討を行った結果、ST6Gal1 欠損マウスでは有意に高い RA の発症を示した。よって、生体内で IgG のシアル化がブロックされたマウスでは、RA 誘導における感受性が亢進したことが示された(図14)。

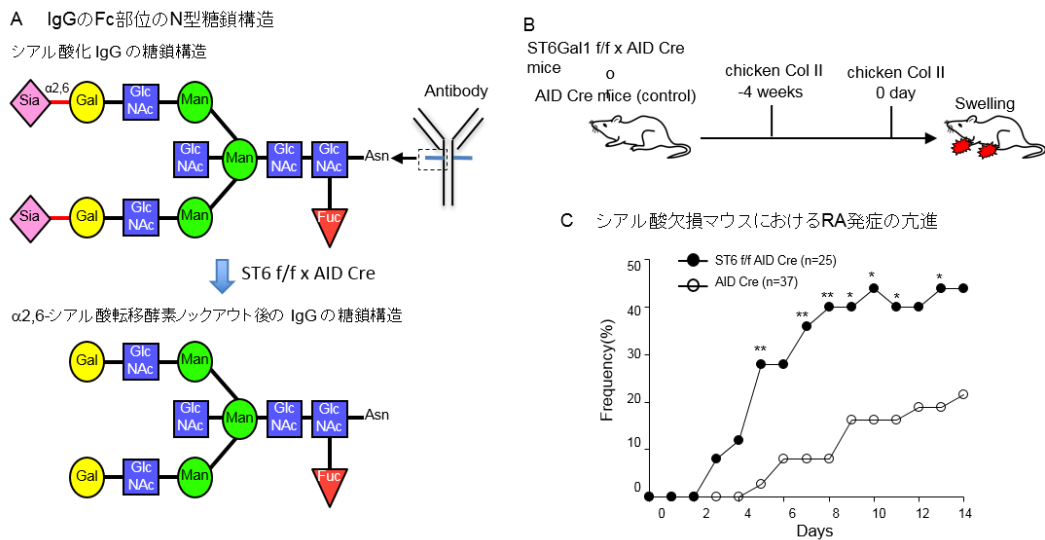


図14 活性化 B 細胞特異的なシアル酸転移酵素 (ST6Gal1) の欠損による Col II 誘導 RA の発症率亢進
A: ST6Gal1 のノックアウトによる IgG 上の N 型糖鎖の変化、B: Col II による RA 誘導のスケジュール、C: シアル酸欠損マウスにおける RA 発症率の有意な亢進を示す。

3. 5 末梢免疫寛容破綻メカニズムの解明(古川グループ、高橋グループ、黒崎グループ)

(1)研究実施内容及び成果

RA モデルを用いた検討(古川グループ、高橋グループ、黒崎グループ)

古川らが見出した、IgG シアル酸モデルの妥当性に基盤をおき、RA に的を絞り、治療法開発へ向かうべく戦略を練りなおしてマウス・ヒトを用いた研究を推進のため、以下の実験を行った。

RA 高発症マウス (DR4) に対して、シトルリン化フィブリノーゲンの免疫による RA を誘導した時の血中 IgG について、とくに抗フィブリノーゲン抗体 IgG 上の N-型糖鎖の質量分析による検討を行い、total IgG、免疫血清中 IgG、フィブリノーゲン結合性 IgG の順にシアル化のレベルが低下することが明らかになった。DBA/1 マウスに対するコラーゲン誘導 RA モデルでも同様の結果が得られた。

マウス RA モデルのみならず、ヒト疾患でもシアル酸化程度を検討した。RA 患者血清中の IgG 上の N 型糖鎖の質量分析の結果、健康人 IgG に比べて IgG 全体にシアル化のレベルが減少していた(図15)。ACPA(抗シトルリン化タンパク質抗体)とその他の IgG についてシアル化のレベルを比較したが有意の差はなかった。IgG 上のシアル酸減少は、ガラクトース付加の減少に基づくことが示唆された。

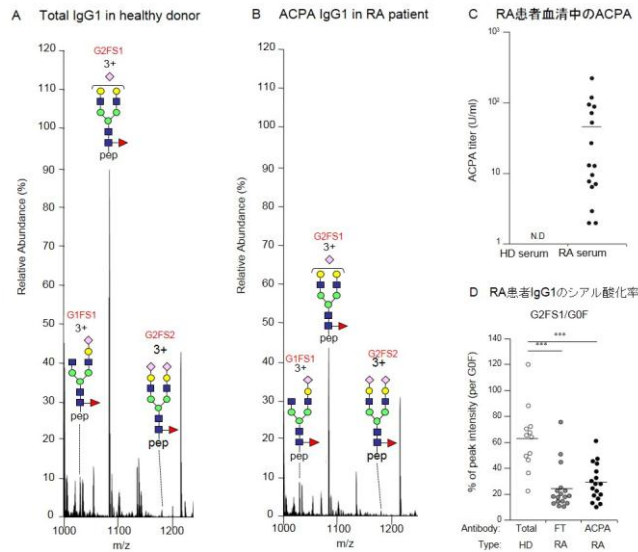


図15 RA 患者血清 IgG 上の N 型糖鎖構造の質量分析による検討

A: 健康人血清中の IgG1 上の糖鎖における MS 解析パターン。B: RA 患者の血清中に存在する ACPA IgG1 上の糖鎖の MS 解析パターン。変化が認められる主なピークを矢印で示す。C: RA 患者血清中の ACPA 抗体価を健康人と比較して示す (ELISA の結果)。D: A と B の間で、IgG 糖鎖のシアル酸化率を比較した結果の代表例。GDF に対する G2FS1 の比率で示した。DBA/1 マウスで CIA を誘導した場合にも類似の変化が認められた。FT、ACPA を抗原カラムで精製した時の非結合画分。A、B の赤字はシアル酸化糖鎖を示す。

以上 1)RA の病態と IgG シアル化の程度がマウス・ヒト共に相関していること、2)マウス遺伝学的実験より、因果関係が存在すること、この2つのデータにより、この IgG シアル化を治療応用できる可能性検定の実験を以下の要領で行った。抗コラーゲンモノクローナル抗体、抗シトルリン化タンパク質モノクローナル抗体の同時注入による RA 誘導実験系において、両モノクローナル抗体の N-型糖鎖のシアル酸修飾を、酵素遺伝子の操作によって行った後にマウスに投与した結果、高シアル酸化 IgG の注入では RA 誘導能を認めなかった。また、DBA/1 マウスを用いて、コラーゲンによる CIA を誘導した過程で高シアル酸化抗体を投与したところ、CIA 誘導に対する抑制作用が認められた(図16)。さらに高シトルリン化タンパク質モノクローナル抗体に替えて、高シアル化した無反応性モノクローナル抗体を投与したところ、抑制作用は全く見られなかった。これらの事実は、RA を惹起する抗原特異的 IgG 上の N 型糖鎖のシアル化制御が治療応用できる可能性を強く示すものである。

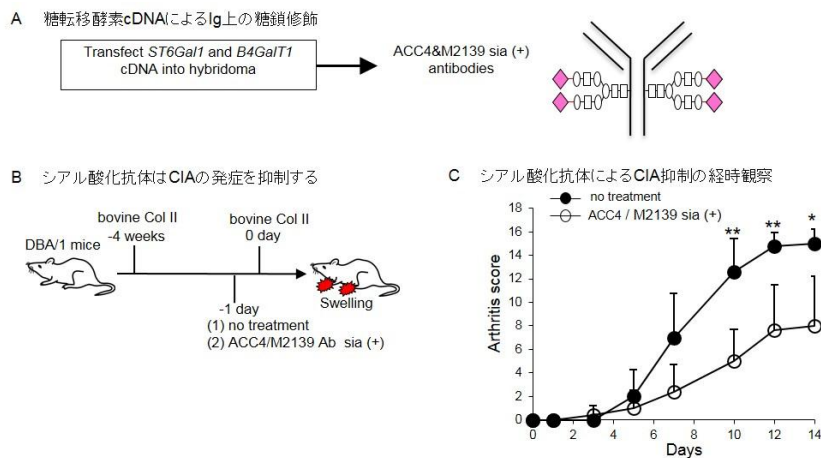


図16 自己抗体 IgG 上の糖鎖修飾による RA 発症抑制作用

A: 抗体産生ハイブリドーマ細胞へのシアル酸転移酵素、ガラクトース転移酵素 cDNA 導入による過剰シアル酸化抗体の調製。B: シアル酸化自己抗体を用いた Col II 誘導 RA の抑制実験のプロトコール。C: シアル酸化抗体による CIA の抑制の時間経過を示す。

EAE モデルを用いた解析(黒崎グループ)

以下の実験より、ヒト多発性硬化症の自己炎症マウス実験モデル EAE において、B 細胞の活性化が IL-10 産生を介して、この自己炎症に対して抑制的役割を担っていることを見出した。

まず、B 細胞特異的カルシウムシグナル欠損マウスを用いて、EAE の炎症症状(下肢麻痺等)が、予想に反して悪化することを見出した(図17)。さらに、この、欠損マウスからメモリーB細胞を単離し、抗原及び CD40 で共刺激をすると、野生型のメモリー細胞に比べて IL-10 産生の顕著な減少が認められた。更に、このカルシウム欠損 B 細胞に強制的に IL-10 を発現した B 細胞では、EAE 炎症を抑制できることが示された。

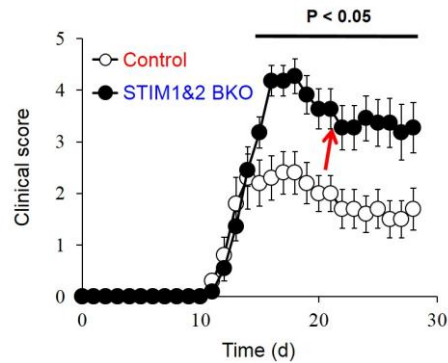


図17 EAE を誘発させた B 細胞特異的カルシウムシグナル欠損マウス

B 細胞特異的カルシウムシグナル欠損マウスに EAE を誘発させたところ、コントロールマウスに比較して EAE の症状の悪化が観察された。

次に、①どの B 細胞系列の細胞が IL-10 を産生しているのか。②又、この IL-10 産生が生体の中で何時何処でおこっているのか。③産生された IL-10 は如何なるメカニズムを用いて炎症抑制を誘導しているのか、を明らかにする実験を行った。

IL-10 が発現すると GFP が出現するマウス(IL-10 レポーターマウス)を用いて、B 細胞系列の中で、活性化された B 細胞ではなく、CD138⁺プラズマブラストが IL-10 を発現していた(図18)。「プラズマブラストでの IL-10 産生の重要性を検定」するために、Blimp1 ノックアウトマウスを用いた。このマウスでは、活性化された B 細胞は依然として存在するが、プラズマブラストが欠損し、予想通り IL-10 産生が生じず、EAE 炎症症状の悪化が認められた。又、このプラズマブラストは所属リンパ節の濾胞の間、及び T 細胞領域に存在し、その近傍に IL-10 レセプターを発現している DC 細胞が存在していた。更にリンパ節より DC を単離して IL-10 存在下で刺激すると Th1, Th17 細胞誘導能が抑制されていた。

Lymph node B cells

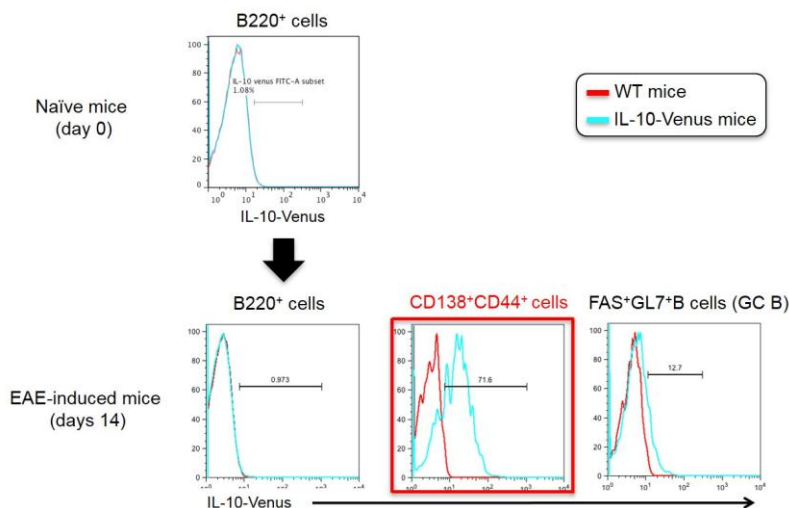


図18 EAE を誘発させた IL-10 レポーターマウス

IL-10 レポーターマウスに EAE を誘発させたところ、所属リンパ節の CD138⁺プラズマブラストが IL-10 を高発現した。

以上の実験より、従来提唱されていた**制御性 B 細胞モデル**に対して、抑制的に働く特別な B 細胞サブセットが存在するわけではなく、「炎症反応の negative feed-back メカニズムとしてプラズマブラスト細胞が IL-10 を産生している」(**活性化 feed-back モデル**)というモデル提唱に至った(図19)。

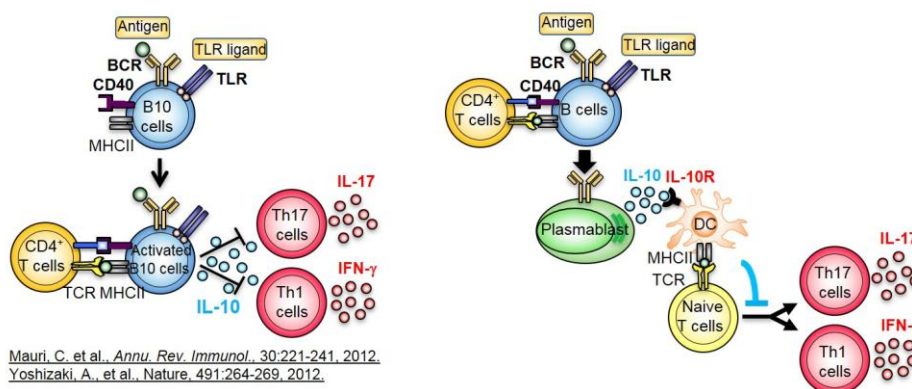


図19 B 細胞による炎症反応の抑制モデル

(左図)従来は、B10 細胞と呼ばれる特別な B 細胞サブセットが活性化された後に IL-10 を産生し、エフェクター T 細胞の機能を抑制していると考えられていた。(制御性 B 細胞モデル)

(右図)炎症反応が起こった際の negative feed-back メカニズムとして、IL-10 を産生するプラズマブラストが分化誘導され、樹状細胞の機能を抑制することにより、エフェクター T 細胞への分化を阻害する。(活性化 feed-back モデル)

以上マウスを用いて見出した現象を、ヒト免疫疾患に応用する第一歩は、ヒトでも活性化された B 細胞ではなく、プラズマブラストが IL-10 産生能力が高いのかどうか検定することである。健康人の末梢血から B 細胞を単離し *in vitro* で刺激すると、マウスでみられたように、たしかに活性化した B 細胞ではなくプラズマ細胞で高い IL-10 産生能が認められた(図20)。

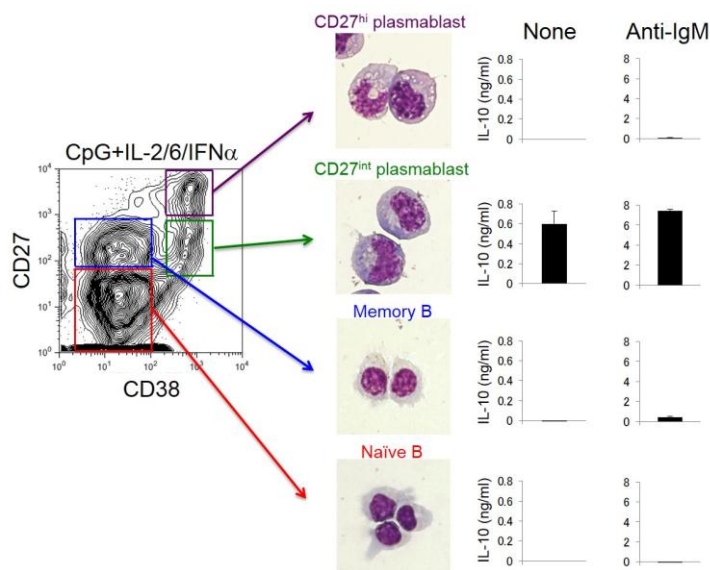


図20 ヒトにおける IL-10 産生 B 細胞

健康人の末梢血から B 細胞を単離し *in vitro* で刺激すると、CD27^{int} プラズマブラストが IL-10 を高産生した。

§ 4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 34件)

1. Aiba, Y., Kometani, K., Hamadate, M., Moriyama, S., Sakaue-Sawano, A., Tomura, M., Luche, H., Fehling, H.J., Casella, R., Kanagawa, O., Miyawaki, A., and Kurosaki, T. “Preferential localization of IgG memory B cells adjacent to contracted germinal centers.” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107:12192-12197, 2010.
2. Yasuda T., Kometani, K., Takahashi, N., Imai, Y., Aiba, Y. and Kurosaki, T. “Erk kinases control plasma cell differentiation by regulating expression of Blimp-1.” *Sci. Signal.* 4:169, ra25, 2011.
3. Matsumoto, M., Fujii, Y., Baba, A., Hikida, M., Kurosaki, T.⁺ and Baba, Y.⁺ “The calcium sensors STIM1 and STIM2 control B cell regulatory function through IL-10 production.” *Immunity* 34:703-714, 2011.(+co-corresponding authors)
4. Onodera, T., Takahashi, Y., Yokoi, Y., Ato, M., Kodama, Y., Hachimura, S., Kurosaki, T., and Kobayashi, K. “Memory B cells in the lung participate in protective humoral immune responses to pulmonary influenza virus reinfection.” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109: 2485-90, 2012.
5. Dong, Z., Davidson, D., Perez-Quintero, L.A., Kurosaki, T., Swat, W., and Veillette, A. “The Adaptor SAP Controls NK Cell Activation by Regulating the Enzymes Vav-1 and SHIP-1 and by Enhancing Conjugates with Target Cells.” *Immunity.* 36, 974-985, 2012.
6. Ouchida, R., Mori, H., Hase, K., Takatsu, H., Kurosaki, T., Tokuhisa, T., Ohno, H., and Wang, J-Y. “Critical role of the IgM Fc receptor in IgM homeostasis, B-cell survival, and humoral immune responses.” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, E2699-706, 2012.
7. Kaji, T., Sugimoto, A., Hikida, M., Taka, J., Aiba, Y., Miyawaki, A., Kurosaki, T., Takahashi, Y., Rajewsky, K. and Takemori, T. “Distinct cellular pathways select germ-line encoded and somatically mutated antibodies into immunological memory.” *J. Exp. Med.* 209, 2079-97, 2012.
8. Yanagibashi, T., Hosono, A., Oyama, A., Tsuda, M., Suzuki, A., Hachimura, S., Takahashi, Y., Morose, Y., Itoh, K., Hirayama, K., Takahashi, K., and Kaminogawa, S. “IgA production in the large intestine is modulated by a different mechanism than in the small intestine: *Bacteroides acidifaciens* promotes IgA production in the large intestine by inducing germinal center formation and increasing the number of IgA⁺ B cells.” *Immunobiology* 218:645-651, 2012.
9. Ato, M., Takahashi, Y., Fujii, H., Hashimoto, S., Kaji, T., Itamura, S., Horiuchi, Y., Arakawa, Y., Tashiro, M., and Takemori, T. “Influenza A whole virion vaccine induces a rapid reduction of peripheral blood leukocytes via interferon-alpha-dependent apoptosis.” *Vaccine* 31:2184-90, 2013
10. Tsukumo, S., Unno, M., Muto, A., Takeuchi, A., Kometani, K., Kurosaki, T., Igarashi, K., and Saito, T. “Bach2 maintains T cells in a naive state by suppressing effector memory-related genes.” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110:10735-40, 2013
11. Kometani, K., Nakagawa, R., Shinnakasu, R., Kaji, T., Rybouchkin, A., Moriyama, S., Furukawa, K., Koseki, H., Takemori, T., and Kurosaki, T. “Repression of the Transcription Factor Bach2 Contributes to Predisposition of IgG1 Memory B Cells toward Plasma Cell Differentiation.” *Immunity.* 39, 136-147, 2013.
12. Dieterle, A.M., Böhrer, P., Keppeler, H., Alers, S., Berleth, N., Drießen, S., Hieke, N., Pietkiewicz, S., Löffler, A.S., Peter, C., Gray, A., Leslie, N.R., Shinohara, H., Kurosaki, T., Engelke, M., Wienands, J., Bonin, M., Wesselborg, S., and Stork, B. “PDK1 controls upstream PI3K expression and PIP3 generation.” *Oncogene.* 2013.
13. Sasaki, Y., Sano, S., Nakahara, M., Murata, S., Kometani, K., Aiba, Y., Sakamoto, S., Watanabe, Y., Tanaka, K., Kurosaki, T., and Iwai, K. “Defective immune responses in mice lacking LUBAC-mediated linear ubiquitination in B cells.” *EMBO J.* 32, 2463-76, 2013.
14. Capietto, A.H., Kim, S., Sanford, D.E., Liehan, D.C., Hikida, M., Kurosaki, T., Novack, D.V., and Faccio, R. “Downregulation of PLCγ2/β-catenin pathway promotes activation and

- expansion of myeloid-derived suppressor cells in cancer.” *J. Exp. Med.* 210, 2257–2271, 2013.
15. Tokuda, N., Numata, S., Nomura, T., Takizawa, M., Kondo, Y., Yamashita, Y., Kiyono, T., Takeda, N., Urano, T., Furukawa, K., and Furukawa, K. “ β GalT6 is involved in the synthesis of lactosylceramide with less intensity than β 4GalT5.” *Glycobiology.* 23, 1175–1183, 2013.
 16. Furukawa, K., Kambe, M., Miyata, M., Ohkawa, Y., Tajima, O., and Furukawa, K. “Ganglioside GD3 induces convergence and synergism of adhesion- and hepatocyte growth factor/Met-signals in melanomas.” *Cancer Science.* 105:52–63, 2013.
 17. Matsumoto, Y., Zhang, Q., Akita, K., Nakada, H., Hamamura, K., Tsuchida, A., Okajima, T., Furukawa, K., Urano, T., and Furukawa, K. “Trimeric Tn antigen on Syndecan-1 binds to integrins and enhances cancer metastasis via dynamic changes of membrane microdomains.” *J. Biol. Chem.* 288, 24264–24276, 2013.
 18. Ilhamjan, S., Hashimoto, N., Matsumoto, Y., Yamaji, T., Furukawa, K., and Furukawa, K. “Binding of a sialic acid-recognizing lectin Siglec-9 modulates adhesion dynamics of cancer cells via calpain-mediated protein degradation.” *J. Biol. Chem.* 288, 35417–35427, 2013.
 19. Lorès, P., Vernet, N., Kurosaki, T., Van de Putte, T., Huylebroeck, D., Hikida, M., Gacon, G., Touré, A. “Deletion of MgcRacGAP in the male germ cells impairs spermatogenesis and causes male sterility in the mouse.” *Dev Biol.* 386, 419–427, 2014.
 20. Zhang, H., Clemens, R.A., Liu, F., Hu, Y., Baba, Y., Theodore, P., Kurosaki, T., Lowell, C.A. “The STIM1 calcium sensor is required for activation of the phagocyte oxidase during inflammation and host defense.” *Blood.* 123:2238–49, 2014.
 21. Kuwahara, M., Suzuki, J., Tofukuji, S., Yamada, T., Kanoh, M., Matsumoto, A., Maruyama, S., Kometani, K., Kurosaki, T., Ohara, O., Nakayama, T., and Yamashita, M. “The Menin-Bach2 axis is critical for regulating CD4 T cell senescence and cytokine homeostasis.” *Nature Comm.* 5:3555, 2014.
 22. Ohmi, Y., Ohkawa, Y., Tajima, O., Sugiura, Y., Furukawa, K., Furukawa, K. “Ganglioside deficiency causes inflammation and neurodegeneration via the activation of complement system in the spinal cord.” *J. Neuroinflammation.* 11:61, 2014.
 23. Masahata, K., Umemoto, E., Kayama, H., Kotani, M., Nakamura, S., Kurakawa, T., Kikuta, J., Gotoh, K., Motooka, D., Sato, S., Higuchi, T., Baba, Y., Kurosaki, T., Kinoshita, M., Shimada, Y., Kimura, T., Okumura, R., Takeda, A., Tajima, M., Yoshie, O., Fukuzawa, M., Kiyono, H., Fagarasan, S., Iida, T., Ishii, M., and Takeda, K. “Generation of colonic IgA-secreting cells in the cecal patch.” *Nature Comm.* 5:3704
 24. Yasukawa, S., Miyazaki, Y., Yoshii, C., Nakaya, M., Ozaki, N., Toda, S., Kuroda, E., Ishibashi, K., Yasuda, T., Natsuaki, Y., Mi-ichi, F., Iizasa, E., Nakahara, T., Yamazaki, M., Kabashima, K., Iwakura, Y., Takai, T., Saito, T., Kurosaki, T., Malissen, B., Ohno, N., Furue, M., Yoshida, H., and Hara, H. “An ITAM-Syk-CARD9 signaling axis triggers contact hypersensitivity by stimulating IL-1 production in dendritic cells.” *Nature Comm.* 5:3755, 2014.
 25. Hartmann, J., Karl, R.M., Alexander, R.P., Adelsberger, H., Brill, M.S., Rühlmann, C., Ansel, A., Sakimura, K., Baba, Y., Kurosaki, T., Misgeld, T., and Konnerth, A. “STIM1 Controls Neuronal Ca⁽²⁺⁾ Signaling, mGluR1-Dependent Synaptic Transmission, and Cerebellar Motor Behavior.” *Neuron.* 82:635–44, 2014.
 26. Shinohara, H., Behar, M., Inoue, K., Hiroshima, M., Yasuda, T., Nagashima, T., Kimura, S., Sanjo, H., Maeda, S., Yumoto, N., Ki, Sewon, Akira, S., Sako, Y., Hoffmann, A.⁺, Kurosaki, T.⁺, and Okada-Hatakeyama, M.⁺ “Positive Feedback Within a Kinase Signaling Complex Functions as a Switch Mechanism for NF- κ B Activation.” (+co-corresponding authors) *Science.* 344:760–764, 2014.
 27. Furukawa, Y., Teraguchi, S., Ikegami, T., Dagliyan, O., Jin, L., Hall, D., Dokholyan, N.V., Namba, K., Akira, S., Kurosaki, T., Baba, Y., and Standley, D.M. “Intrinsic disorder mediates cooperative signal transduction in STIM1.” *J. Mol. Biol.* 426:2082–97, 2014.
 28. Ise, W., Inoue, T., McLachlan, J.B., Kometani, K., Kubo, M., Okada, T. and Kurosaki, T. “Memory B cells contribute to rapid Bcl6 expression by memory T_{FH} cells.” *Proc. Natl. Acad.*

- U.S.A. 111:11792-7. 2014.
29. Kikuchi, Y., Kunitoh-Asari, A., Hayakawa, K., Imai, S., Kasuya, K., Abe, K., Adachi, Y., Fukudome, S., Takahashi, Y., Hachimura, S. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* strain AYA enhances IgA secretion and provides protection against influenza virus infection in mice. *PLoS One*, 9, e86416, 2014
 30. Matsuzaki, Y., Sugawara, K., Nakauchi, M., Takahashi, Y., Onodera, T., Tsunetsugu-Yokota, Y., Matsumura, T., Ato, M., Kobayashi, K., Shimotai, Y., Mizuta, K., Hongo, S., Tashiro, M., Nobusawa, E. Epitope Mapping of the Hemagglutinin Molecule of A/(H1N1)pdm09 Virus by Using Monoclonal Antibody Escape Mutants. *J. Virol.* 88:12364-73, 2014
 31. Matsumoto, M., Baba, A., Yokota, T., Nishikawa, H., Ohkawa, Y., Kayama, H., Kallies, A., Nutt, S.L., Sakaguchi, S., Takeda, K., Kurosaki, T., Baba, Y. Interleukin-10-Producing Plasmablasts Exert Regulatory Function in Autoimmune Inflammation. *Immunity* 41:1040-51, 2014
 32. Itoh-Nakadai, A., Hikota, R., Muto, A., Kometani, K., Watanabe-Matsui, M., Sato, Y., Kobayashi, M., Nakamura, A., Miura, Y., Yano, Y., Tashiro, S., Sun, J., Ikawa, T., Ochiai, K., Kurosaki, T., Igarashi, K. The transcription repressors Bach2 and Bach1 promote B cell development by repressing the myeloid program. *Nat Immunol.* 15:1171-80, 2014
 33. Wing, J.B., Ise, W., Kurosaki, T., Sakaguchi, S. Regulatory T Cells Control Antigen-Specific Expansion of Tfh Cell Number and Humoral Immune Responses via the Coreceptor CTLA-4. *Immunity* 41:1013-25. 2014
 34. Uebelhart, R., Hug, E., Bach, M.P., Wossning, T., Dühren-von Minden, M., Horn, A.H.C., Tsiantoulas, D., Kometani, K., Kurosaki, T., Binder, C.J., Sticht, H., Nitschke, L., Reth, M., Jumaa, H. Responsiveness of B cells is regulated by the hinge region of IgD. *Nat. Immunol.* 16: 534-543, 2015

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. Kurosaki, T., Shinohara, H., and Baba, Y. "B Cell Signaling and Fate Decision." *Annu. Rev. Immunol.* 28: 21-55, 2010
2. Kurosaki, T. The study of B cells and antibodies in Japan: a historical perspective. *Int. Immunol.* 22(4): 217-226, 2010
3. Kurosaki, T. B-lymphocyte Biology. *Immunolo. Rev.* 237(1): 5-9, 2010
4. Kurosaki, T., Aiba, Y., Kometani, K., Moriyama, S., and Takahashi, Y. Unique properties of memory B cells of different isotypes. *Immunol. Rev.* 237(1): 104-16, 2010
5. Kurosaki, T. and Baba, Y. "Ca²⁺ signaling and STIM1." *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 103(1): 51-58, 2010
6. Kurosaki, T., Aiba, Y., Kometani, K., Moriyama, S., and Takahashi, Y. "Unique properties of memory B cells of different isotypes." *Immunological Review.* 237(1): 104-16, 2010
7. Kurosaki, T. "Regulation of BCR Signaling." *Mol. Immunol.* 48: 1287-1291, 2011
8. Baba, Y. and Kurosaki, T. "Impact of Ca²⁺ signaling on B cell function." *Trends in Immunol.* 32(12): 589-594, 2011
9. 高橋宜聖、小野寺大志、小林和夫。「ウイルス感染局所における記憶B細胞応答」*実験医学* 29(17): 2807-2812, 2011
10. 米谷耕平、黒崎知博。「記憶B細胞からプラズマ細胞への分化制御」*実験医学* 29:2819-2825, 2011
11. 小野寺大志、高橋宜聖、小林和夫。「B細胞内因性TLRシグナルによるB細胞応答の制御機構」*臨床免疫・アレルギー科* 58(3): 275-282, 2012
12. Takahashi, T., Onodera, T., Kobayashi, T., and Kurosaki, T. "Primary and Secondary B-Cell Responses to Pulmonary Virus Infection." *Infect. Disord. Drug Targets* 12(3): 232-40, 2012
13. Baba, Y., Matsumoto, M., and Kurosaki, T. "Calcium signaling in B cells: Regulation of cytosolic Ca²⁺ increase and its sensor molecules, STIM1 and STIM2." *Mol. Immunol.* 2013

14. 米谷耕平、黒崎知博。「転写因子Bach2によるリンパ球制御」 感染・炎症・免疫 44(1): 22-29, 2014
15. Furukawa, K., Ohmi, Y., Kondo, Y., Ohkawa, Y., Hashimoto, N., Tajima, O., Furukawa, K. "The role of glycosphingolipids in lipid rafts: lessons from knockout mice." *In* Lipid Rafts: Properties, controversies and roles in signal transduction. Ed. by Dan Sillence, pp1-20, Nova Science Publishers, London, 2014
16. Takemori, T., Kaji, T., Takahashi, Y., Shimoda, M., Rajewsky, K. Generation of memory B cells inside and outside germinal centers. *Eur. J. Immunol.* 2014 (e-pub ahead of print)
17. 安達悠、高橋宜聖、阿戸学。「インフルエンザワクチンの免疫原性と抗原エピトープ」 感染・炎症・免疫 44(2): 22-31, 2014
18. Baba, Y., Matsumoto, M., Kurosaki, T. Calcium signaling in B cells: regulation of cytosolic Ca²⁺ increase and its sensor molecules, STIM1 and STIM2. *Mol Immunol.* 62:339-43. 2014
19. Kometani, K., Kurosaki, T. Differentiation and maintenance of long-lived plasma cells. *Curr Opin Immunol.* 33C:64-69. 2015 [epub ahead of print]
20. Kurosaki, T., Kometani, K., Ise, W. Memory B cells. *Nat Rev Immunol.* 15:149-59. 2015

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 22 件、国際会議 23 件)

1. 馬場義裕(大阪大学) "Store-operated calcium entry in B cells." 第 39 回日本免疫学会学術集会。大阪、2009 年 12 月 3 日
2. 米谷耕平(理化学研究所) "Preferential localization of IgG memory B cells adjacent to waned germinal centers." 第 39 回日本免疫学会学術集会。大阪、2009 年 12 月 4 日
3. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) 「Bリンパ球の基礎とその治療応用」 第 39 回日本臨床免疫学会総会。東京、2010 年 9 月 17 日
4. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)「液性免疫制御による新しい治療法の開発」 CREST 「免疫機構」領域第 2 回シンポジウム。東京、2010 年 9 月 30 日
5. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)「STIM/Orai を介する Bリンパ球カルシウムシグナル」 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会。東京、2010 年 11 月 10 日
6. 高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学) "Protective memory B cells against influenza virus infection in the lungs." 千葉大学 G-COE シンポジウム。東京、2010 年 12 月 4 日
7. 米谷耕平(理化学研究所) "Plasma cells differentiation from memory B cells." 千葉大学 G-COE シンポジウム。東京、2010 年 12 月 4 日
8. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) "Preferential localization of IgG memory B cells adjacent to contracted germinal centers". The 4th International Symposium on B cells and Autoimmunity. 奈良、2010年8月20日
9. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) "Store-operated Calcium Entry in B cells". Symposia Track 4-1: Lymphocyte Signaling. The 14th International Congress of Immunology. 神戸、2010年8月23日
10. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) "Function of Store-Operated Calcium Entry in B Lymphocytes." Keystone Symposia, B Cells: New Insights into Normal versus Dysregulated Function. ウィスラー、2011年4月13日
11. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) "Function of Calcium in Lymphocytes." Advances in Immunology and Cancer Biology. イスタンブール、2011年4月17日
12. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) "Calcium Signaling in immune cells." FASEB Summer Research Conferences - Signal Transduction in the Immune System. スノーマス、2011年6月21日

13. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)「カルシウムによる免疫システムの負の制御」JST免疫サマースクール。仙台、2011年8月2日
14. 古川鋼一(名古屋大学)「病理学におけるグライコーム研究—神経・筋、感染症、がん、再生医学— 医学における糖鎖研究の重要性」第8回日本病理学会2011カンファレンス。松本、2011年8月5日
15. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Function of Calcium Signaling in B Lymphocytes.” The 1st International Meeting on Ion Channel Signaling Mechanisms: from Basic Science to Clinical Application. マラケシュ、2011年11月1日
16. 高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学) “Protective memory B cell responses to influenza virus infection.” 第40回日本免疫学会学術集会。千葉、2011年11月27日
17. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Contribution of transcription factors to rapid responsiveness of IgG type memory B cells.”第40回日本免疫学会学術集会。千葉、2011年11月28日
18. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “B Cell Signaling and its Biological Outcomes.” The 1st Winter School on Advanced Immunology. 淡路、2012年1月20日
19. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Signaling to Control Developmental Transitions.” Keystone Symposia Regulation of Lymphocyte Signaling. キーストーン、2012年3月14日
20. 松本真典(大阪大学)「B細胞におけるカルシウム流入の生理的役割」日本薬学会第132年会。札幌、2012年3月30日
21. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)「液性免疫記憶を支える細胞・分子メカニズム」JST免疫サマースクール。那須、2012年7月24日
22. 馬場義裕(大阪大学)「小胞体カルシウムセンサーSTIMのカルシウム流入誘導機序とその生理的役割」第85回日本生化学会大会。福岡、2012年12月14日
23. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Humoral Memory Responses.” The 2nd NIF Winter School on Advanced Immunology. セントーサ島、2013年1月24日
24. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “B cell intrinsic and extrinsic mechanisms for rapid responsiveness of IgG1 type memory B cells.” The 1st Symposium of International Immunological Memory and Vaccine Forum. 東京、2013年1月29日
25. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “B Cell Intrinsic and Extrinsic Mechanisms for Rapid Responsiveness of IgG1 Type Memory B Cells.” Keystone Symposia: B Cell Development and Function. キーストーン、2013年2月13日
26. 高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)、安達悠(国立感染症研究所) “Protective memory B cell responses to influenza virus infection.” RCAI-JSI International Symposium on Immunology. 横浜、2013年6月18日
27. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)「カルシウムによる免疫制御」JST免疫サマースクール。福岡、2013年7月31日
28. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Calcium Signaling in B Lymphocytes” The 5th International Conference on B cell and Autoimmunity. コモ、2013年8月20日
29. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Calcium Signaling in B Lymphocytes” Immune-related Pathologies: Understanding Leukocyte Signaling and Emerging therapies - IMPULSE 2013. マトラハザ、2013年9月2日
30. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)、米谷耕平(理化学研究所)、新中須亮(理化学研究所) “B cell intrinsic and extrinsic mechanisms for rapid responsiveness of IgG1 type memory B cells.” 第36回日本分子生物学会年会。神戸、2013年12月3日
31. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Memory B and Tfh cells.” Overview Talk Session 12 (for Symposium B cell Memory) 第42回日本免疫学会学術集会。千葉、2013年12月13日
32. 高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)、安達悠(国立感染症研究所)、阿戸学(国立感染症研究所) “Development of cross-reactive memory B cell subsets to influenza virus infection.” 第42回日本免疫学会学術集会。千葉、2013年12月13日

33. 古川鋼一(名古屋大学): Spatio-temporal dynamics of the interaction between glycosphingolipids and membrane molecules. Gordon Research Conference, Glycolipid & and Sphingolipid Biology. ベンチュラ、2014年1月15日
34. *黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)“Calcium Signaling in B Lymphocytes.” Keystone Symposia: Biology of B Cell Responses. キーストーン、2014年2月11日
35. 高橋宜聖、大海雄介、安達悠、伊勢渉、福山英哲、安達悠、藤尾圭志、庄田宏文、山本一彦、阿戸学、小林和夫、黒崎知博、古川鋼一 抗シトルリン化蛋白抗体の産生と炎症制御機能 第58回日本リウマチ学会総会・学術集会シンポジウム、東京、2014年4月24日
36. *古川鋼一(名古屋大学)、近藤裕史(名古屋大学)、伊藤康友(名古屋大学)、古川圭子(中部大学). “Specificity and spatio-temporal dynamics of the interaction between glycosphingolipids and endogenous ligands. Glyco-T 2014.” The 9th International Symposium on Glycosyltransferases. ポルト、2014年6月20日
37. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)「B細胞を介する免疫制御」JST免疫サマースクール。小豆島、2014年7月31日
38. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Mechanisms underlying rapid memory IgG responses” The 2nd Symposium of International Immunological Memory and Vaccine Forum. ラホヤ、2014年8月26日
39. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Calcium signaling in B lymphocytes.” The 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels. ウスパルタ、2014年9月10日
40. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)「B細胞を介する免疫制御」第42回日本臨床免疫学会総会。東京、2014年9月25日
41. 高橋宜聖、阿戸学、安達悠 “B cell pathways for protective memory responses against influenza virus infection” 第13回あわじしま感染症・免疫フォーラムin奈良。奈良、2014年9月25日
42. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)「B細胞を介する免疫制御メカニズム」CREST「免疫機構」領域第三回シンポジウム。東京、2014年10月8日
43. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Regulatory functions of B lineage cells.” France-Japan Immunology Meeting. カシス、2014年10月23日
44. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Involvement of transcription factors in generation of memory B cells.” 第43回日本免疫学会学術集会。京都、2014年12月10日
45. 黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Cellular and molecular basis for humoral memory responses.” The 4th NIF Winter School on Advanced Immunology. シンガポール、2015年1月22日

② 口頭発表 (国内会議 17 件、国際会議 5 件)

1. 小野寺大志(国立感染症研究所)「B-2 型の記憶 B 細胞はウイルス粒子により T 細胞非依存的に活性化する」第 39 回日本免疫学会学術集会。大阪、2010 年 12 月 3 日
2. 小野寺大志(国立感染症研究所) “T-cell independent activation of virus-specific memory B cells requires Toll-like receptor (TLR) signaling” The 14th International Congress of Immunology. 神戸市、2010 年 8 月 26 日
3. 伊勢渉(大阪大学) “The transcription factor BATF controls the global regulators of class-switch recombination in both B cells and T cells.” 第 40 回日本免疫学会学術集会。千葉、2011 年 11 月 28 日
4. 小野寺大志(国立感染症研究所) “Role of Toll-like receptor signaling for the development and reactivation of virus-specific memory B cells.” 第 40 回日本免疫学会学術集会。千葉、2011 年 11 月 28 日
5. 近藤裕史(名古屋大学) “Negative regulation of LPS signals by globo-series

- glycosphingolipids.” 第40回日本免疫学会学術集会。千葉、2011年11月28日
6. 横井勇祐(国立感染症研究所/東京大学) “Localization and reactivation of virus-specific memory B cells at the site of virus infection.” 第40回日本免疫学会学術集会。千葉、2011年11月28日
 7. 井上毅(大阪大学) “Functional Characterization of CNOT3 Subunit of the CCR4-NOT Deadenylase Complex During B Cell Development.” The 1st Winter School on Advanced Immunology. 淡路、2012年1月20日
 8. 高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学) “Memory B Cells in the Lung Participate in Protective Humoral Immune Responses to Pulmonary Influenza Virus Reinfection.” Keystone Symposia: Viral Immunity and Host Gene Influence. キーストーン、2012年3月25日
 9. 高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)、小野寺大志(国立感染症研究所)、築地信(星薬科大)、小林和夫(国立感染症研究所) “Increased affinity maturation in lung memory B cells following influenza virus infection.” 第41回日本免疫学会学術集会 神戸 2012年12月6日
 10. 田中伸哉(大阪大学) “Tripartite motif-containing 33 (Trim33) determines a pathogenic function of Th17 cells.” The 6th International Workshop of Kyoto T Cell Conference. 京都、2013年6月6日
 11. 井上毅(大阪大学)、森田齊弘(マギル大学)、足達俊吾(産業技術総合研究所)、夏目徹(産業技術総合研究所)、深尾太郎(マックスプランク研究所)、小原收(理化学研究所)、山本雅(沖縄科学技術大学院大学)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Essential role of CNOT3 subunit of the CCR4-NOT deadenylase complex during B cell development.” 第36回日本分子生物学会年会。神戸、2013年12月3日
 12. 井上毅(大阪大学)、山本雅(沖縄科学技術大学院大学)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Essential role of CNOT3 subunit of the CCR4-NOT deadenylase complex during B cell development” 第42回日本免疫学会学術集会。千葉、2013年12月12日
 13. 伊勢涉(大阪大学) “Memory antibody response is regulated by antigen-specific CXCR5⁺ memory CD4⁺ T cells” 第42回日本免疫学会学術集会。千葉、2013年12月13日
 14. 宮内浩典(理化学研究所)、石毛晶子(理化学研究所)、加地友弘(理化学研究所)、原田陽介(東京理科大学)、本村泰隆(東京理科大学)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)、竹森利忠(理化学研究所)、久保允人(東京理科大学/理化学研究所) “Distinct roles of TFH and TH1 cells in humoral responses against influenza A virus infection.” 第42回日本免疫学会学術集会。千葉、2013年12月13日
 15. 安達悠(国立感染症研究所)、阿戸学(国立感染症研究所)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学) “The development and persistence of broadly cross-reactive germinal center and memory B cells in the lungs following influenza virus infection.” 第42回日本免疫学会学術集会。千葉、2013年12月13日
 16. 小野寺大志(国立感染症研究所)、安達貴弘(東京医科歯科大)、鏑田武志(東京医科歯科大学)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)、安達悠(国立感染症研究所)、阿戸学(国立感染症研究所)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学) “Replenishment of long-lived plasma cells is constitutively restricted by CD4⁺ T cells in their maintenance phase after influenza vaccination.” 第42回日本免疫学会学術集会。千葉、2013年12月13日
 17. 松本真典(大阪大学) “Plasmablasts control T cell autoimmunity through their interleukin-10 Production.” 第42回日本免疫学会学術集会。千葉、2013年12月13日
 18. 大海雄介(名古屋大学) “Function analysis of the glycosylation on IgG in rheumatoid arthritis.” The 6th Nagoya Global Retreat. 大府、2014年2月14日
 19. 大海雄介(名古屋大学)、伊勢涉(大阪大学)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)、原園景(国立医薬品食品衛生研究所)、川崎ナナ(国立医薬品食品衛生研究所)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)、古川鋼一(名古屋大学) 「関節リウマチにおける抗原特異的IgG糖鎖の機能解析」 第33回日本糖質学会年会。名古屋、2014年8月11日
 20. 安達悠(国立感染症研究所)、井上毅(大阪大学)、黒崎知博(大阪大/理化学研究所)、阿戸

学(国立感染症研究所)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)“Persistent local germinal centers select cross-reactive antibody into immunological memory following influenza virus infection.”第43回日本免疫学会学術集会。京都、2014年12月10日

21. 小野寺大志(国立感染症研究所)、安達貴弘(東京医科歯科大)、鏝田武志(東京医科歯科大)、黒崎知博(大阪大/理化学研究所)、安達悠(国立感染症研究所)、阿戸学(国立感染症研究所)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)“CD273+ memory B cells replenish bone marrow plasma cells in the steady state after influenza vaccination.”第43回日本免疫学会学術集会。京都、2014年12月11日
22. 宮内浩典(理化学研究所)、石毛晶子(理化学研究所)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)、長谷川秀樹(国立感染症研究所)、竹森利忠(理化学研究所)、久保允人(東京理科大学/理化学研究所)“Influenza A virus (IAV) vaccination effectively induces germinal center independent protective immunity.”第43回日本免疫学会学術集会、京都。2014年12月11日

③ ポスター発表 (国内会議 8件、国際会議 7件)

1. 小野寺大志(国立感染症研究所) “T-cell independent activation of virus-specific memory B cells requires Toll-like receptor (TLR) signaling.” The 4th International Symposium on “B cells and Autoimmunity. 奈良市、2010年8月21日
2. 松本真典(大阪大学) “Physiological roles of STIM-dependent calcium influx in B cells.” The 4th International Symposium on B cells and Autoimmunity. 奈良市、2010年8月20日
3. 松本真典(大阪大学) “Physiological Roles of STIM-dependent calcium influx in B cells.” The 14th International Congress of Immunology. 神戸市、2010年8月23日
4. 伊勢涉(大阪大学) “The transcription factor BATF controls the global regulators of class-switch recombination in both B cells and T cells.” 第40回日本免疫学会学術集会。千葉、2011年11月28日
5. 小野寺大志(国立感染症研究所) “Role of Toll-like receptor signaling for the development and reactivation of virus-specific memory B cells.” 第40回日本免疫学会学術集会。千葉、2011年11月28日
6. 横井勇祐(国立感染症研究所/東京大学) “Localization and reactivation of virus-specific memory B cells at the site of virus infection.” 第40回日本免疫学会学術集会。千葉、2011年11月28日
7. 井上 毅(大阪大学) “Functional Characterization of CNOT3 Subunit of the CCR4-NOT Deadynylase Complex During B Cell Development.” The 1st Winter School on Advanced Immunology. 淡路、2012年1月20日
8. 小野寺大志(国立感染症研究所)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)、小林和夫(国立感染症研究所)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学) “B-cell intrinsic Toll-like receptor signaling accelerates memory B cell response to booster influenza vaccination.” 第41回日本免疫学会学術集会。神戸、2012年12月6日
9. 佐藤佳代子(国立感染症研究所)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)、阿戸学(国立感染症研究所)、浅沼秀樹(国立感染症研究所) “Split influenza vaccines induce high levels of virus-specific antibodies at the booster immunization.” 第41回日本免疫学会学術集会。神戸、2012年12月7日
10. 伊勢涉(大阪大学)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所) “Development of a novel way to treat autoimmune disease by regulating humoral immune systems.” JST-CREST International Symposium - Frontiers in Immunology & Inflammation: From Molecules to Disease. 東京、2013年2月12-13日
11. 大海雄介(名古屋大学)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)、伊勢涉(大阪大学)、饗

場祐一(理化学研究所)、小野寺大志(国立感染症研究所)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)、古川鋼一(名古屋大学)。「関節リウマチにおけるIgG糖鎖の機能解析」、第32回日本糖質学会。大阪、2013年8月5日

12. 小野寺大志(国立感染症研究所)、饗場祐一(理化学研究所)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)、小林和夫(国立感染症研究所)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)“B-cell intrinsic Toll-like receptor signaling accelerates memory B cell response to booster influenza vaccination.” Keystone symposia, B cell development and function. キーストーン、2013年2月13日
13. 大海雄介(名古屋大学)、伊勢渉(大阪大学)、高橋宜聖(国立感染症研究所/大阪大学)、原園景(国立医薬品食品衛生研究所)、川崎ナナ(国立医薬品食品衛生研究所)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)、古川鋼一(名古屋大学)“Function analysis of the sialic acid on antigen specific IgG in rheumatoid arthritis.” 第87回日本生化学会大会。京都、2014年10月17日
14. 伊勢渉(大阪大学)“Regulation of germinal center response by the transcription factor BATF.” 第43回日本免疫学会学術集会。京都、2014年12月11日
15. 井上毅(大阪大学)、山本雅(沖縄科学技術大学院大学)、黒崎知博(大阪大学/理化学研究所)“Regulation of early B cell development by the CCR4-NOT mRNA deadenylase complex.” Keystone Symposia: Golden Anniversary of B Cell Discovery. バンフ、2015年3月24日

(4)受賞・報道等

①受賞

1. 馬場義裕 第6回日本免疫学会研究奨励賞「カルシウムシグナルを介した免疫制御機構」2010年10月17日
2. 黒崎知博 平成24年度科学技術分野の文部科学大臣表彰受賞「アレルギー反応の制御因子同定の研究」2012年4月9日
3. 伊勢渉 第7回日本免疫学会研究奨励賞「抗体産生応答を制御する転写因子の機能解析」2012年12月6日
4. 黒崎知博 第二回大阪大学総長顕彰〔研究部門〕2013年6月25日
5. 馬場義裕 第二回大阪大学総長奨励賞〔研究部門〕2013年6月25日
6. 伊勢渉 第二回大阪大学総長奨励賞〔研究部門〕2013年6月25日
7. 黒崎知博 第三回大阪大学総長顕彰〔研究部門〕2014年5月20日
8. 馬場義裕 第三回大阪大学総長顕彰〔研究部門〕2014年5月20日
9. 伊勢渉 第三回大阪大学総長奨励賞〔研究部門〕2014年5月20日

②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 「多発性硬化症が悪化するメカニズムを解明」大阪大学プレスリリース 2011年4月29日
概要:本研究グループは多発性硬化症に類似する脳脊髄炎をおこす実験モデルを用いることにより、制御性B細胞の細胞外から細胞質内へのカルシウム流入が脳脊髄炎を抑制するために重要であることを発見しました。そして、そのカルシウム流入には、STIMというたんぱく質が必須なことを明らかにしました。実際、B細胞でSTIMを欠損したマウスは脳脊髄炎を抑制することができず、神経症状の重篤化がみられました。この発見は、制御性B細胞におけるSTIMの機能を人為的に操作することで、新たな多発性硬化症に対する治療法の開発に繋がる成果として期待されます。
2. 科学新聞(4面)「Bリンパ球の抗体産生細胞への分化」2011年4月29日
3. 「Bリンパ球の免疫応答の様子をリアルタイムで可視化」理化学研究所・大阪大学プレスリリース 2011年6月3日
概要:本研究グループは、免疫機能を持つBリンパ球1が、抗体を長期間に産生するのに必須の

免疫応答(胚中心反応)を行うための細胞分化が起きる場所を特定し、この細胞分化の後、胚中心へと移動するBリンパ球やその働きを助けるTリンパ球3の様子をリアルタイムで可視化することに世界で初めて成功しました。胚中心反応に必須の転写因子である Bcl6 に注目し、まず、Bcl6の発現の詳細な追跡を、組織切片の観察やフローサイトメトリーによって行いました。さらに、Bcl6の機能が欠損した場合のBリンパ球の細胞移動の解析を、二光子励起レーザー顕微鏡という特殊な顕微鏡を用いた最新の生体ライブイメージング技術を用いて行いました。その結果、Bリンパ球は、胚中心の外側にある濾胞外縁部と呼ばれる場所で Bcl6 の発現を開始すること、この Bcl6 の発現によって胚中心へ移動することが明らかとなりました。Bcl6 は、胚中心反応を担うもう一種のリンパ球である濾胞ヘルパーT細胞の Tリンパ球からの細胞分化にも必須であることが知られています。研究グループは、この濾胞ヘルパーT細胞における Bcl6 の発現についても、同様の解析を行いました。その結果、Bcl6 の発現が上昇して細胞分化した後、徐々に低下し、免疫記憶をつかさどるメモリーT細胞に似た増殖停止などの特徴を備え始めることを見いだしました。これらの成果は、抗体の長期産生や免疫記憶形成を促進する新しいワクチンの開発へとつながるものと期待されます。

4. 化学工業日報(朝刊9面)「免疫応答の可視化成功」2011年6月3日
5. 日刊工業新聞(朝刊24面)「免疫システムの形成過程可視化」2011年6月17日
6. 「B細胞が肺炎球菌などに反応して活性化する仕組みを解明」理化学研究所・大阪大学プレスリリース 2011年6月27日
免疫細胞の一種であるB細胞が、肺炎球菌などの病原体成分に反応して抗体を産生するためには、抗原のシグナル伝達を担うアダプター分子「CIN85」が必須であることを解明しました。本研究グループは、B細胞内に存在し、細胞外からのシグナルの伝達を担うアダプター分子CIN85に注目し、このタンパク質がNF- κ Bという転写因子の活性化に必須であり、CIN85が存在しないと、病原体成分の一種であるII型T細胞非依存的抗原(TI-II抗原)に対して抗体を産生することができなくなることを発見しました。CIN85によるNF- κ Bの活性化の機構は、これまで知られていなかった全く新しいメカニズムです。
7. 読売新聞(朝刊)「多発性硬化症 カルシウム不足で悪化」2011年6月27日
8. 日刊工業新聞(朝刊27面)「肺炎球菌へのB細胞抗体 必須分子を特定」2011年6月28日
9. 化学工業日報(朝刊9面)「B細胞 活性化の仕組み解明 アダプター分子『CIN85』シグナル伝達に必須」2011年6月28日
10. 日経産業新聞(10面)「多発性硬化症 悪化防ぐ仕組み解明」2011年7月15日
11. 「免疫応答の要となる分子の閾値(いきち)決定機構を解明 - 細胞におけるアナログ情報のデジタル変換」理化学研究所プレスリリース 2014年5月10日
共同研究グループは、免疫細胞の1つであるB細胞の情報伝達経路「CARMA1-TAK1-IKK」に注目し、この経路について詳細な分子動態の計測を行い、数理モデリングにより解析しました。その結果、経路内に存在する細胞内情報を増幅する正のフィードバックが、B細胞受容体のアナログの分子情報をデジタル(0か1)活性に変換し、1細胞ごとにNF- κ Bのいき値を決定していることが分かりました。NF- κ Bの活性化に関わるリン酸化酵素「IKK」の異常と疾病との関連はすでに広く知られていますが、本研究ではアダプター分子「CARMA1」の重要性も明らかになりました。CARMA1の遺伝子異常は、がんやアトピー性皮膚炎の発症にも関与することが臨床データからも明らかであり、本研究成果はこれらの疾病の発症機構を解く鍵になると期待できます。
12. 日経バイオテク ONLINE 「理研とUCLA、B細胞活性化に至る信号伝達がデジタル化される機構を明らかに」2014年5月21日
13. 「効率よく記憶免疫反応が起きる仕組みを解明」大阪大学プレスリリース 2014年7月29日
本研究では、免疫記憶を司っている主要な免疫細胞である記憶B細胞と記憶T細胞(記憶濾胞性ヘルパーT細胞)が近傍に存在していること、そしてこれらの細胞が直接相互作用することで、記憶免疫応答(記憶抗体産生応答)が効率良く誘導される仕組みが明らかとなりました。この記憶抗体産生応答では記憶T_{FH}細胞がキープレーヤーとして働きます。従ってこの記憶T_{FH}細胞を効率良く誘導することができれば、より良い抗体産生を目的としたワクチン療法の新規開

発や改良が図れると期待できます。

14. Medical Tribune 第 58 回日本リウマチ学会特集号「抗シトルリン化蛋白抗体の糖差修飾 関節炎抑制効果を有する可能性を指摘」 2014 年 7 月 24 日
15. 科学新聞(8 面)「『記憶免疫反応』効率化の仕組み解明」 2014 年 8 月 22 日

§ 5 研究期間中の活動

5. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2010/8/19-21	The 4 th International Conference on B Cells and Autoimmunity	奈良ロイヤルホテル	300 人	B 細胞と自己免疫をテーマに基礎研究者と臨床研究者が集会、最新の研究を発表・情報交換
2011/1/18	サイエンスカフェ 第三回 免疫の不思議	アートエリア B1 (大阪市北区)	80 人	「免疫の不思議」と題し、CREST 研究内容を一般向けに分かりやすく説明
2011/8/21	免疫ふしぎ未来 2011	日本科学未来館 (東京都お台場)	1000 人	「免疫をつけてインフルエンザをふせぐ」と題し、CREST 研究内容を一般向けに分かりやすく説明
2012/7/28	サイエンスカフェ 第 9 回 体を守る免疫のサイエンス「ワクチンはなぜ効くのか」	アークカフェ (大阪市北区)	40 人	ワクチンの効く仕組みを、CREST 研究内容を踏まえて一般向けに分かりやすく説明
2012/8/19	免疫ふしぎ未来 2012	日本科学未来館 (東京都お台場)	1000 人	「インフルエンザと免疫」と題し、CREST 研究内容を一般向けに分かりやすく説明
2012/11/10	サイエンスカフェ・オンザエッジ	コマンタレヴエー (福岡市博多区天神)	40 人	一般向けに研究内容を踏まえて九州大学山崎晶教授とのトークセッション
2012/12/3	CREST-IFReC Special Seminar	大阪大学	70 人	Dr. Nussenzweig 教授による特別セミナー
2013/8/11	免疫ふしぎ未来 2013	日本科学未来館 (東京都お台場)	2000 人	「インフルエンザ-変化するウイルスと免疫の戦い」と題し、CREST 研究内容を一般向けに分かりやすく説明
2013/10/25	ラボカフェ	アートエリア B1	40 人	一般向けに CREST 研究内容を紹介

§ 6 最後に

本プログラム支援により、基礎研究・応用研究ともに、大きく進んだと考えている。例えば、その証拠として、メモリーB細胞の基礎研究は2009年からはじめたばかりであるが、高橋、黒崎がそれぞれの実験系を用い、又CREST支援により強力に推進することができ、Nat. Rev. Immunol.からこの分野の進展と将来性に関しての執筆を依頼された。又、自己免疫疾患への応用に関しては、2014年keystoneシンポジウムで黒崎が招待され発表したが、私たちの「活性化 feed-back モデル」は、多くの研究者の支持を集め高く評価された。

参加した研究者のcuriosity-drivenのポリシーで基礎研究を推進してきたが、中間評価で指摘されたように、特に応用研究に向けては、戦略性をもってすすめることが重要と実感している。その点では、前半は不十分であったが、後半は、古川、高橋、黒崎が頻繁に議論をし、互いの強みを補えあえる研究体制をひけてきたのではないかと考えている。特に古川のシアル酸化に関する研究成果は、このような戦略が実を結んだもので、シアル酸化を用いた免疫医薬療法開発の重要なリード提供になったと考えており、この実現に向けた研究を今後進めていく。