

「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」
平成 21 年度採択研究代表者

黒崎 知博

大阪大学免疫学フロンティア研究センター
分化制御研究室・特任教授

液性免疫制御による新しい治療法の開発

§ 1. 研究実施の概要

本 CREST プロジェクトは、メモリー B 細胞の適切な活性化・生存維持が、外来抗原に対する迅速免疫応答性、及び末梢免疫寛容成立に重要な役割を担っていることに着目し、そのメカニズム解明を目指した提案である。

初年度半年で、モデル抗原を用いて、1) IgG メモリー B 細胞と、IgM メモリー B 細胞の存在部位が、異なること。2) IgG メモリー B 細胞の増殖・分化には T 細胞が要求されること。3) IgG メモリー B 細胞の生存には、細胞表面に発現している BCR が細胞内シグナル分子 PLC γ 2 を要求されることを明らかにした。

さらに、インフルエンザウイルス感染モデルを用いて、1) IgG メモリー B 細胞と IgA メモリー B 細胞が非リンパ器官(肺)に存在すること、2) ウイルス粒子によるメモリー B 細胞活性化の一部は、T 細胞非依存的かつ Toll-like レセプター依存的に起こることを明らかにした。

§ 2. 研究実施体制

(1)「研究代表者(黒崎)」グループ

① 研究分担グループ長: 黒崎 知博(大阪大学、特任教授)、高橋 宜聖(国立感染症研究所、主任研究官)

② 研究項目

■ 存在部位・活性化部位の同定

- ・ NPモデル抗原を用いて(黒崎サブグループ)
- ・ ウィルス抗原を用いて(高橋サブグループ)

- 末梢免疫寛容破綻メカニズム解明
 - ・ 新規自己免疫モデルマウス樹立(黒崎サブグループ)

(2)「共同研究者(古川)」グループ

- ① 研究分担グループ長:古川 鋼一(名古屋大学大学院、教授)
- ② 研究項目
 - IgGシアル酸モデルの検定
 - ・ モデルマウスの樹立

§ 3. 研究実施内容

メモリーB細胞の存在部位の同定。

「メモリーB細胞が何処に存在するか」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。モデル抗原として NP-CGG を用い、抗原特異的メモリーB細胞の存在部位を、従来の組織化学的手法、及び新規開発した遺伝学的手法(fate-mapping)を駆使して検索した。

抗原刺激したマウス2ヶ月後の脾臓を見てみると、退縮して小さくなっているが依然として胚中心(GC)が残っており、この退縮したGCの周囲にIgGタイプメモリーB細胞は存在していた。IgMタイプメモリーB細胞は、脾臓の濾胞(follicle)に散在していた。更に、2次抗原が侵入した時に、GC周囲に存在していたIgGタイプメモリーB細胞が、先ず増殖して活性化することを明らかにした。

インフルエンザウイルスを経鼻感染させた場合、2次リンパ器官と肺においてIgGメモリーB細胞とIgAメモリーB細胞が出現し、同一ウイルスの2次感染により、肺組織において速やかにIgG、IgA抗体産生細胞が誘導されることを明らかにした。肺組織内でのメモリーB細胞存在部位の同定を容易にするため、ウイルス特異的なV_H/V_L抗体遺伝子導入マウスを作製し、90%以上の末梢B細胞がウイルス特異的BCRを発現する遺伝子導入マウスを樹立することに成功した。

IgGタイプメモリーB細胞の近傍に濾胞(Follicular)タイプのヘルパーT細胞(Tfh)が存在する。

GC周辺に存在するメモリーB細胞の近傍にどのような細胞が存在するかは、メモリーB細胞の生存のためのニッチの同定につながり非常に重要である。その観点で、組織化学的に検討した結果、IgGタイプのメモリーB細胞に近傍に濾胞樹状細胞(FDC)、T細胞が存在することが判明した。T細胞は詳細な機能的分類がなされているが、PD1、CXCR5で染色されるTfhタイプの細胞であることが明らかになった。

T細胞要求性の証明。

メモリーB細胞活性化にT細胞が要求されることを、anti-CD4のdepletion抗体をマウスに投与することにより検定した。メモリーB細胞の初期増殖、及びそれに引き続くプラズマ細胞への分化共に、anti-CD4抗体投与群では、ほとんど消失した。又、このメモリーB細胞の活性化には、B細胞に発現しているMHC class IIが必須であることが判明した。これらの、結果をまとめると、2次抗原侵入後は、B細胞が抗原を認識し、antigen presenting cell (APC)として機能し、近傍に存在する抗原特異的T細胞を活性化し、活性化されたT細胞が、最終的にメモリーB細胞の増殖・分化に必須であると考えられる。

同様に、インフルエンザウイルスのシステムでT細胞要求性を検証したところ、メモリーB細胞の一部はT細胞非依存的に活性化することをanti-CD4抗体の投与、ならびにSCIDマウスへの細胞移入実験により明らかにした。さらに、T細胞非依存的なメモリーB細胞の活性化は、MyD88 / TRIF欠損により消失することから、Toll-like receptorを介したシグナルがこの過程に関与すると考えられた。

IgGタイプメモリーB細胞の生存にPLC γ 2が必須である。

既に、PLC γ 2がメモリーB細胞の生存に必須であることを明らかにしてきたが(Hikida et. al; J. Exp. Med, 2009)、更にこの効果が、B cell intrinsicであることを、in vivo, in vitroの実験手法で、B細胞特異的に誘導的にPLC γ 2をdeletionすることによって確認した。