

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

液性免疫制御による新しい治療法の開発

§1. 研究実施体制

(1)「研究代表者(黒崎・高橋)」グループ(研究機関別)

① 研究分担グループ長: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)
(研究代表者)

高橋 宜聖(国立感染症研究所免疫部、室長)(主たる共同研究者)

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)
- 他の細胞系列要求性の検定
 - ◇ メモリーB細胞活性化について(黒崎サブグループ)
 - ◇ プラズマ細胞の存在部位の同定(黒崎サブグループ)
- インフルエンザウィルスに対するメモリーB細胞応答の解析(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(研究機関別)

① 研究分担グループ長:古川 鋼一 (名古屋大学大学院医学系研究科、教授)(主たる共同研究者)

② 研究項目

- gGシアル酸モデルの検定
 - ◇ モデルマウスの樹立

§2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

本 CREST プロジェクトは、メモリーB細胞が、外来性抗原に対する2次免疫応答の迅速反応性、及び末梢における免疫寛容に重要な役割を担っていることに着目し、その奥底に潜むメカニズム解明を目指した提案である。

メモリーB細胞の定義は、抗原プライミング(Ag-experienced)細胞であるが、モデル抗原を用いて、1)メモリーB細胞には少なくとも IgM⁺IgD⁺, IgM⁺IgD⁻,IgG1⁺の3種類の亜集団に分類され、IgM⁺IgD⁺, IgG1⁺亜集団は、主として、胚中心(GC)過程を経て、一方 IgM⁺IgD⁻亜集団は GC 過程を経ずに、形成される、2)conventionalなメモリーB細胞である IgG1⁺細胞は、ナイーブB細胞に比して、より迅速にプラズマ細胞へ分化し、このメカニズムは、転写因子 Bach2 の発現抑制が原因であることを明らかにした。

感染モデル(インフルエンザウイルス)を用いて、IgA⁺メモリー, IgG⁺メモリーB細胞が、肺の実質組織に存在し、このメモリーB細胞が2次感染時に迅速に反応し、抗体産生を介して感染防御に寄与していることを明らかにした。

免疫寛容に関しては、マウス自己免疫 EAE モデルを用いて検討した。従来 B細胞は自己抗体を産生して、疾患の引き金・増悪因子と考えられてきたが、EAE モデルの場合、抗原特異的 B細胞が分化し、IL-10 誘導を介して、自己免疫炎症反応を抑制することを見いだした。

IgMメモリーB細胞に亜集団が存在する。

私たちは既に、conventionalメモリーB細胞である IgG1⁺タイプ以外に、IgM⁺IgD⁺, IgM⁺IgD⁻メモリーB細胞が形成されることを明らかにした。IgM⁺IgD⁺メモリーB細胞は体細胞突然変異が多数導入されているが、IgM⁺IgD⁻メモリーB細胞は殆ど導入されていないこと。又 GC を形成しない Bcl6 変異マウスを用いて、IgM⁺IgD⁺メモリーB細胞は GC 過程を経て、IgM⁺IgD⁻メモリーB細胞は経ずに生成されることが示唆された(図1)。

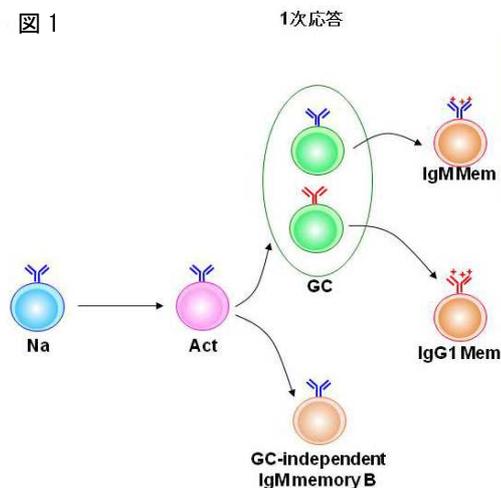


図1 ナイーブ B細胞は活性化すると胚中心(GC)へ向かう経路とGC非依存的にIgMメモリーB細胞に分化する経路に分かれる。GCからはIgMメモリーB細胞とIgG1メモリーB細胞が分化する。GCを通過した細胞はBCRに変異が導入され高親和性抗体を産生できる(星印)。

Conventional メモリーB細胞 (IgG1+タイプ) は、ナイーブ B 細胞に比して、転写因子 **Bach2** の発現が抑制されており、結果、より迅速にプラズマ細胞へ分化する。

私たちはメモリーB 細胞の *in vivo* 機能検定系を既に樹立してきた。この系を用いて、メモリー IgG1+細胞は、ナイーブ細胞に比して、細胞増殖能が増加していることはなかった。しかしながら、迅速にプラズマ細胞への分化を示した。プラズマ細胞への分化はシグナル分子 **Erk** が要求されるが¹⁾、このメモリーIgG1+細胞の迅速プラズマ分化には **Erk** 活性化にはナイーブ B 細胞と比較して、変化がなかった。しかし、転写因子 **Bach2** の発現が抑制されており、このことが迅速分化に関連していることを見いだした(図 2)。

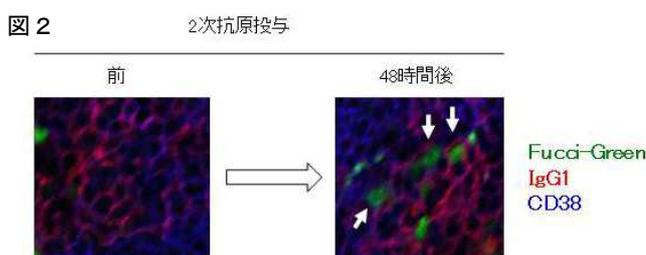


図2 細胞周期が増殖期においてのみ緑色蛍光蛋白質を発現する細胞周期モニターマウス、Fucci-Green マウスに免疫し、60 日後に可溶性抗原にて再感染させた。結果、胚中心近傍に位置する IgG1 メモリーB 細胞 (IgG1+CD38+) が 2 次抗原投与後に Fucci-Green 陽性になり、抗原に反応し増殖を始めたことが分かる。

肺に存在する IgA+, IgG+メモリーB 細胞が、2次感染時に迅速に反応し、抗体産生を介して感染防御に寄与している。

インフルエンザ感染モデルで、縦隔リンパ節だけではなく、肺実質組織にクラススイッチしたメモリーB 細胞が長期間存在し、この細胞が、2 次感染時に、先ず増殖・分化して、ウイルスに対しての中和抗体を産生することを明らかにした³⁾。又このメモリーB 細胞がウイルス除去に重要な役割を担っていることをも示した(図 3)。

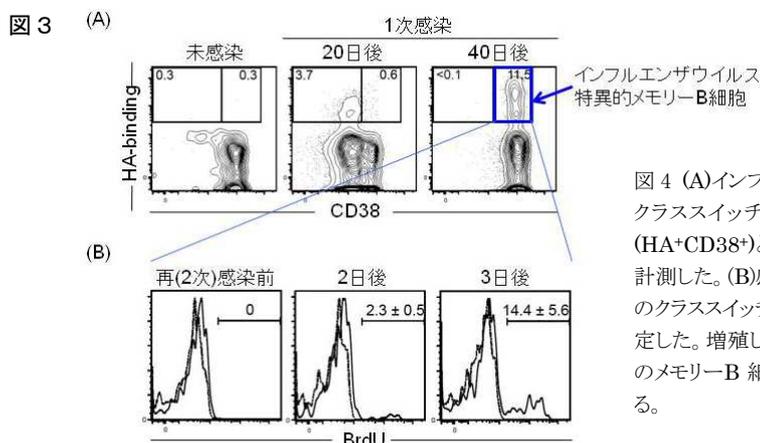


図 4 (A)インフルエンザウイルス感染後に肺に出現するクラススイッチを起こした抗原特異的メモリーB 細胞 (HA+CD38+)と胚中心 B 細胞(HA+CD38-)の細胞数を計測した。(B)感染 80 日後にウイルスを再感染させ、肺のクラススイッチメモリーB 細胞の BrdU の取り込みを測定した。増殖している細胞は BrdU を取り込むため一部のメモリーB 細胞が再感染後に増殖していることが分かる。

抗原特異的 B 細胞がプラズマプラストに分化し、IL-10 産生を介して、自己免疫炎症を抑制する。

EAE モデルで、B 細胞のカルシウムシグナルを欠損させると IL-10 産生の減弱、ひいては自己免疫炎症反応が著しく悪化することをみいだした²⁾。更に、この IL-10 産生は B 細胞がおこなうのではなく、それから分化したプラズマプラストから産生されることが、Blimp 欠損マウスを用いて明らかになった。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. 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*, vol. 4, No. 169, pp. ra25, 2011(DOI:10.1126 /scisignal.2001592)
2. 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*, vol. 34, pp.703-714, 2011 (doi:10.1016/j.immuni.2011.03.016)
3. 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.* vol.109, pp.2485-90, 2012 (DOI:10.1073/pnas.1115369109)