

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. 研究実施体制

(1)「研究代表者(黒崎・高橋)」グループ

① 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)、高橋 宜聖(国立感染症研究所、室長)

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

① 主たる共同研究者:古川 鋼一 (名古屋大学大学院医学系研究科、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

§ 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)

研究の概要

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。

私たちは、既に、IgG1 タイプメモリーB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てきた。

1) 本年度はこの **Bach2** 発現抑制の細胞内メカニズムを検討し、PI3K-Akt 経路が関与していることが判明した。2) メモリーB細胞を活性化するためにはT細胞が要求されるが、この細胞が **Tfh** 由来のメモリー細胞であること、又、このメモリー**Tfh** 細胞を活性化するためにはメモリーB細胞の抗原提示活性が必須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、IgG⁺メモリーB細胞のIgG遺伝子座位に多くの変異(SHM)が導入されていること、又その変異ゆえ、異なるサブタイプのインフルエンザウイルスに対しても中和抗体を産生でき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 細胞から分化し生じたプラズマブラストが IL-10 を産生し、自己免疫炎症反応を抑制することを見いだした。又その IL-10 産生には転写因子 **IRF4**, **NFAT** が要求されることを明らかにした。

研究実施内容

転写因子 **Bach2** の抑制には細胞内シグナル経路 **PI3K-Akt** が重要である。

私たちは既に、IgG1⁺メモリーB細胞の迅速分化能は **Bach2** の抑制が一つの原因であることを明らかにしてきた (図1)。本年度はナイーブ B 細胞が抗原により活性化され、種々の細胞内シグナル経路がオンになるが、そのうちで **PI3K-Akt** 経路が **Bach2** 抑制に重要な役割を担っていることが判明した⁹⁾。

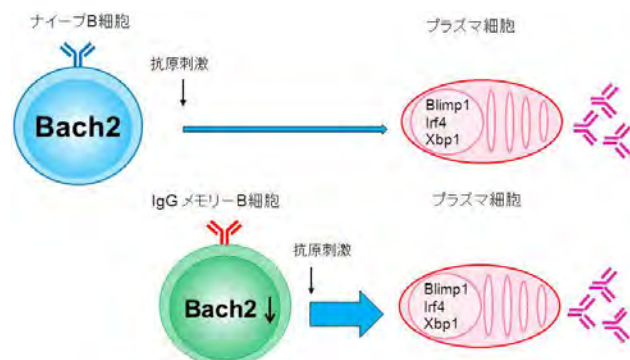


図1. IgG⁺メモリーB細胞はナイーブB細胞に比して転写因子 **Bach2** の発現量が低下している。そのため、抗原刺激により、より迅速に効果的にプラズマ細胞へ分化する。

メモリーTfh細胞が、メモリーB細胞により迅速に活性化され、転写因子 Bcl6 が再活性化されることが、液性記憶反応には必須である。

私たちはメモリーB細胞の活性化にはT細胞が要求されることを既に明らかにしてきた(Aiba, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107(27):12192-7, 2010)。T細胞は多くの亜集団が存在するが、エフェクターTfh細胞がメモリー化したメモリーTfh細胞がメモリーB細胞の活性化に必須であること、又、Tfh細胞の機能発現には転写因子 Bcl6 がオンになることが必要であるが、メモリーTfh細胞が Bcl6 オンになるためには、メモリーB細胞の抗原提示活性化が必須であることを明らかにした。

すなわち、メモリーB細胞・メモリーTfh細胞間の相互作用が、互いの活性化に必須であることが判明した(図2)。

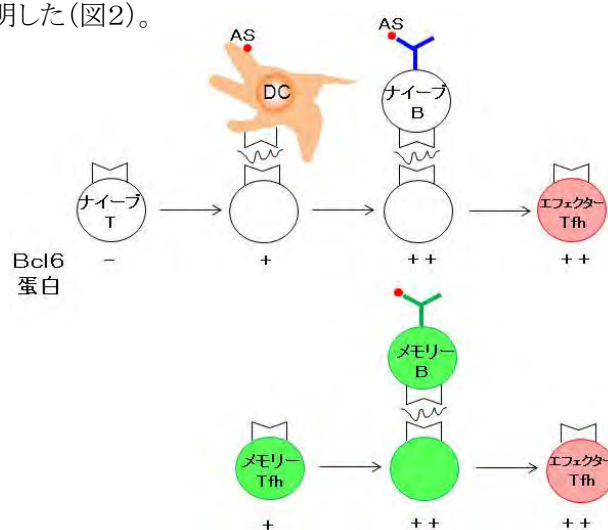


図2. ナイーブT細胞は、転写因子 Bcl6 の活性化に、DC細胞、B細胞と2種類の細胞による活性化が必要である(2ステップ)。それに比して、メモリーTfh細胞は、メモリーB細胞によって迅速に活性化される(1ステップ)。

肺に存在する IgG⁺メモリーB細胞には多くの体細胞突然変異が導入されており、抗原ドリフトしたインフルエンザウイルスに対して高い交差中和活性を示す。

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、同種のインフルエンザの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(Onodera, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 109,2485-90, 2012)。又このメモリーB細胞には、高頻度でIgG抗原結合領域に変異が導入されており、抗原ドリフトしたインフルエンザウイルスに対して高い交差中和活性を示すことを明らかにした。

抗原特異的B細胞がプラズマブラストに分化し、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(Matsumoto, et al. Immunity 34, 703-714, 2011)。又、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ブ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。更に、IL-10産生に転写因子 IRF4, NFAT が要求されることが判明した。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Fujii, Y, Shiota, M, Ohkawa, Y, Baba, A, Wanibuchi, H, Kinashi, T, Kurosaki, T, and Baba, Y. "Surf4 modulates STIM1-dependent calcium entry." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 422, 615-20, 2012(DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.05.037)
2. 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 (DOI: 10.1016 / j.immuni.2012.03.023)
3. Furukawa, K., Ohkawa, Y., Yamauchi, Y., Hamamura, K., Ohmi, Y., Furukawa, K. "Fine tuning of cell signals by glycosylation." *J. Biochem.* 151, 573-578, 2012 (doi: 10.1093/jb/mvs043)
4. 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 (DOI: 10.1073/pnas.1210706109)
5. 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(DOI: 10.1084/jem.20120127)
6. Kurosawa, M., Jeyasekharan, A., Surmann, E.-M., Hashimoto, N., Kurosawa, G., Furukawa, K., Venkitaraman, A., Kurosawa, Y. "Expression of LY6D is induced at the surface of MCF10A cells by X-ray irradiation." *FEBS J.* 279, 4479-4491, 2012 (DOI: 10.1111/febs.12034)
7. 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.* doi: 10.1016/j.imbio.2012.07.033. [Epub 2012 Aug 8]
8. 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.* pii: S0264-410X(13)00179-5. (doi: 10.1016/j.vaccine.2013.02.016) [Epub ahead of print]
9. Kometani, K., Nakagawa, R., Shinnakasu, R., Kaji, T., Rybouchkin, A., Moriyama, S., Furukawa, K., Koseki, H., Takemori, T. and Kurosaki, T. Repression of Bach2 predisposes IgG1 memory B cells toward plasma cell differentiation. *Immunity* (in press)