

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成29年度研究進捗評価用〕

平成 26 年度採択分
平成29年3月17日現在

メモリーB細胞の形成と維持を支える内的・外的メカニズム
Intrinsic and extrinsic Mechanism underlying generation
and maintenance of memory B cells

課題番号：26221306

黒崎 知博 (KUROSAKI TOMOHIRO)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任教授（常勤）



研究の概要

「液性免疫記憶」の中心的機能を担っているメモリーB細胞の分化・生成機構を明らかにすると同時に、そのユニークな機能を支えている分子機序を解明する。

研究分野：医歯薬学

キーワード：獲得免疫

1. 研究開始当初の背景

免疫システムは、「免疫記憶」により、予想される外来異物の再侵入への準備を可能にするとともに、再侵入に際して迅速に対応できるようになっている。この「免疫記憶」機能を担うメモリーB/T細胞は一次免疫反応中に生成されるわけであるが、ナイーブ細胞とは異なり、長期の寿命を有し維持され、異物の再侵入（2次免疫）により迅速・効率的に（メモリーB細胞の場合、長期抗体産生細胞へと）分化し、再侵入異物を速やかに排除すると考えられている。

この「免疫記憶」は免疫学において解明されるべき最も重要なものの一つである。しかしながら、生体内で個々の抗原に対するメモリーB細胞の数が極めて少なく、その解析が困難を極めることが大きな要因により、これら重要な課題が未解決のまま残されてきている。申請者は、既に、メモリーB細胞の単離法・機能検定系の開発を行いIgG1メモリーB細胞の、抗原再刺激による迅速にプラズマ細胞へ分化する、内的メカニズムを明らかにしてきた(Kometani et al; Immunity, 2013)。

2. 研究の目的

本研究課題では、これら既存の実績に基づき、更なる実験法(in vivo トラッキング系等)を開発し、以下の具体的な生物学的課題を明らかにしていく。1)メモリーB細胞は、一次免疫中に、どのような、分化径路を経て産

生されるのか、2)メモリーB細胞の生存維持を支える外的・内的ファクターは何なのか、3)このメモリーB細胞を、再度の抗原侵入により活性化するためには、どのような外的細胞・外的ファクターが必要とされるのか。を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

外来性抗原モデルとしてメモリーB細胞のトレースが最も確立しているNPハプテン抗原系を用いる。又、感染モデルとしてインフルエンザウイルスを用いて、BCRレパトアの系統的解析を行う。

メモリーB細胞はin vivoにおいて活性化された細胞から生成されるため、in vitroの実験系が必ずしもin vivoを反映しないという困難点が存在する。従って、1)in vivoトレースができるモデルマウスの開発、2)細胞系列特異的枯渇マウスの開発、3)ある特定遺伝子の胚中心(GC)特異的欠損マウスの樹立、等in vivoで追跡、deletionできるマウスの樹立が必須になる。

又、ユニークなメモリーB細胞の機能を支える分子基盤を明らかにするためには、single cellを用いてのtranscriptome解析等、少ない細胞で信頼のおける解析系を樹立する。

4. これまでの成果

1)胚中心(GC)B細胞がメモリーB細胞へと、運命決定するメカニズム解明。

ナイーブB細胞には存在しない新規BCRレパトアーを創出するという観点では、胚中心(GC)B細胞から作られるメモリーB細胞は生体防衛上必須であり、この分化メカニズム解明のためのfate-mappingマウスを開発した。このマウスを用いて、1)GC B細胞のうち、低親和性細胞がより選択的にメモリーB細胞へと分化する。2)さらに、この選択過程に転写因子Bach2の制御が重要であることを見出した。

2)メモリーB細胞維持のための必須の内的・外的ファクターの同定。

メモリーB細胞が生体で維持されるメカニズムに関して、NP-CGGを抗原刺激した場合に検討した。B細胞内因的ファクターとしては、IgM, IgG1メモリーB細胞ともにBCRを誘導的に欠損させることによりメモリーB細胞が消失する。又、IgMメモリーB細胞の場合はBAFFレセプターが必須であり、IgG1メモリーB細胞の場合はBAFFレセプターで約50%の細胞が消失し、BAFFレセプター及びTACIの両欠損によりほぼ100%消失する。このことは、IgG1メモリーB細胞に機能的相違があるサブセットが存在することが強く示唆する。B細胞外因的細胞としてはT細胞が考えられるが、CD4, CD8 T細胞共に枯渇してもメモリーB細胞の生存には影響は出なかった。

3)メモリーB細胞の2次応答迅速反応性を支える、メモリーT_{FH}細胞の役割解明。

申請者は既に2次免疫応答にT細胞からのヘルプが必須であることを報告してきた。この迅速液性免疫応答を支えるメカニズムに関して更に詳細な検討を加えた。その結果、1次免疫反応とは異なり、2次反応の時は、樹状細胞(DC)ではなくメモリーB細胞が抗原提示細胞として機能し、近傍に位置するメモリーT_{FH}細胞を活性化する。活性化されたT細胞は迅速に転写因子Bcl6を発現しエフェクターT細胞へと分化し、IL21を分泌し、速やかにメモリーB細胞を活性化することが明らかになった。

4)インフルエンザ感染時における形成されるメモリーB細胞のBCRレパトアー、及び認識エピトープ、親和性同定法の確立

インフルエンザ感染において、1)メモリーB細胞のBCRレパトアーと、その認識エピトープを迅速に検出する実験系の樹立、2)その実験系を用いて、今までのインフルエンザウイルスの感染既往が、メモリーB細胞レパト

アーにどのような影響を与えるか、3),1)2)を踏まえて、どのようなワクチンを開発すれば、新種ウイルスにも対応できるメモリーB細胞を誘導できるか。本研究課題では1)2)をゴールに研究を進めており、先ず1)の実験方法確立に至った。

5. 今後の計画

既述しているようにメモリーB細胞への分化機構の解析は予想以上に進捗し新規モデル提唱にまで移った。このモデルは非常に重要な示唆を含んでいるので、当初計画より、より重点的におこない、この課題に関して常に国際的にリードを保つよう遂行する。一方、他の課題(例えば、メモリーB細胞の長期生存に重要なファクター検索)は、新規テクノロジー(single cell transcriptome解析)を導入して、より少ない細胞で解析可能にして、新規ファクターの同定を行う。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

1. Shinnakasu, R., Kurosaki, T. Regulation of memory B and plasma cell differentiation. *Curr. Opin. Immunol.* (in press)
2. Igarashi, K., Kurosaki, T., Roychoudhuri, R. BACH family transcription factors in innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* (in press)
3. Inoue, T., Shinnakasu, R., Ise, W., Kawai, C., Egawa, T., Kurosaki, T. The transcription factor FOXO1 controls germinal center B cell proliferation in response to T cell help *J. Exp. Med.* (in press)
4. Shinnakasu, R., Inoue, T., Kometani, K., Moriyama, S., Adachi, Y., Nakayama, M., Takahashi, Y., Fukuyama, H., Okada, T., Kurosaki, T. Regulated selection of germinal center cells into the memory B cell compartment. *Nat. Immunol.* 2016 Jul; 17(7):861-9.
5. Ise, W., Inoue, T., McLachlan, J.B., Kometani, K., Kubo, M., Okada, T., Kurosaki, T. Memory B cells contribute to rapid Bcl6 expression by memory T_{FH} cells. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 2014 Aug 11; 111:11792-7.

ホームページ等

http://lymph.ifrec.osaka-u.ac.jp/research_j.html