

# 細菌・ウイルス感染防御に必須の良質抗体産生を解明

## — 転写因子「Foxo1」の働きに注目、ワクチン戦略のターゲットに！ —

キーワード: 免疫、胚中心 B 細胞、転写因子 Foxo1

### 【研究成果のポイント】

- ◆ 良質な抗体産生細胞が誕生する場である胚中心<sup>※1</sup>で、B 細胞<sup>※2</sup>が増殖・分化する仕組みは理解されていない
- ◆ 転写因子<sup>※3</sup>Foxo1<sup>※4</sup>が、胚中心 B 細胞の適切な増殖・分化に必須の機能を担っていることを解明
- ◆ 今回の成果を応用し、良質の抗体<sup>※5</sup>の産生を導くワクチン療法の開発に期待

### ❖ 概要

大阪大学免疫学フロンティア研究センターの井上毅特任助教(常勤)、新中須亮特任助教(常勤)、伊勢渉特任准教授(常勤)、黒崎知博特任教授(常勤、理化学研究所統合生命医科学研究センター グループディレクター)らの研究グループは、免疫組織に存在する、良質な抗体を産生する重要な場、「胚中心」の B 細胞の働きを制御する仕組みを明らかにしました。この胚中心 B 細胞が適切に増殖・分化するために、転写因子である Foxo1 が必須の機能を担っていることを解明しました。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*Journal of Experimental Medicine*』(3月28日(火)付け:日本時間3月28日(火)23時)にオンライン掲載されます。

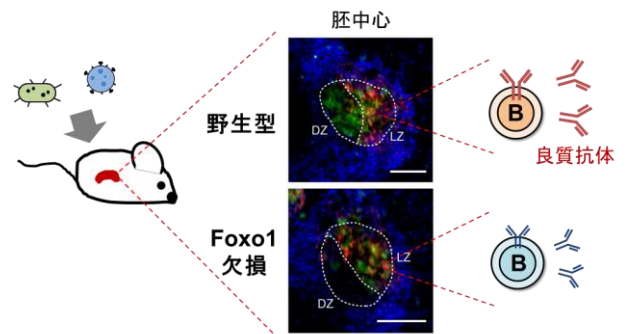
### ❖ 研究の背景

インフルエンザウイルス感染により年間約1万人(国内)もの死者が出ているように、ウイルス・細菌感染に対する生体防御メカニズムの解明は依然として重要な課題です。われわれの体内では、ウイルス・細菌などに感染すると、脾臓やリンパ節といった免疫組織で「胚中心」という反応場が形成されます。この胚中心に存在する B 細胞(胚中心 B 細胞)は、抗体遺伝子への変異導入を繰り返して自らの抗体の性能を高めていき、侵入した細菌、ウイルスを攻撃できる良質の抗体を作ります。しかし、この胚中心 B 細胞の増殖・分化を制御するメカニズムは、これまで十分に明らかにされていませんでした。

### ❖ 本研究の成果

同研究グループは転写因子 Foxo1 に着目し、B 細胞特異的に誘導的に Foxo1 を欠損させることができるマウスモデルを作製し、胚中心 B 細胞における Foxo1 の役割を解析しました。

まず、抗原刺激を与える前のナイーブ B 細胞で Foxo1 を欠損させ、免疫応答反応を誘導したところ、Foxo1 欠損 B 細胞は対称細胞群と比較してより活発な増殖を引き起こしました(図 1)。一般的に Foxo 転写因子ファミリーは細胞の静止状態(quiescence)をつかさどる因子と考えられており、がん細胞においてもしばしば Foxo1 の機能喪失が見られることから Foxo1 はがん抑制遺伝子としても知られています。このことから、Foxo1 欠損に伴って増殖が活発化することはこれまでの知見から予想されるものでした。



Foxo1は良質抗体産生に必要

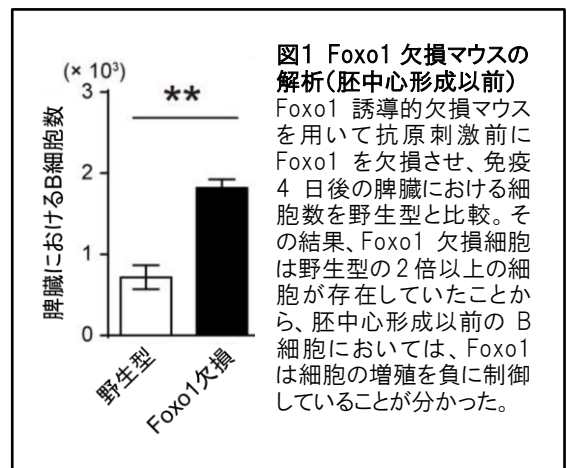


図1 Foxo1 欠損マウスの解析(胚中心形成以前)  
Foxo1 誘導的欠損マウスを用いて抗原刺激前に Foxo1 を欠損させ、免疫 4 日後の脾臓における細胞数を野生型と比較。その結果、Foxo1 欠損細胞は野生型の 2 倍以上の細胞が存在していたことから、胚中心形成以前の B 細胞においては、Foxo1 は細胞の増殖を負に制御していることが分かった。

次に胚中心形成後の B 細胞において誘導的に Foxo1 を欠損させたところ、意外なことに著明な胚中心 B 細胞の退縮、増殖の減少が見られ、Foxo1 は胚中心の維持・増殖に必要であることが分かりました(図 2)。すなわち、Foxo1 が胚中心ではナイーブ B 細胞やほかの細胞系列と逆の働きをしていることを示唆しています。

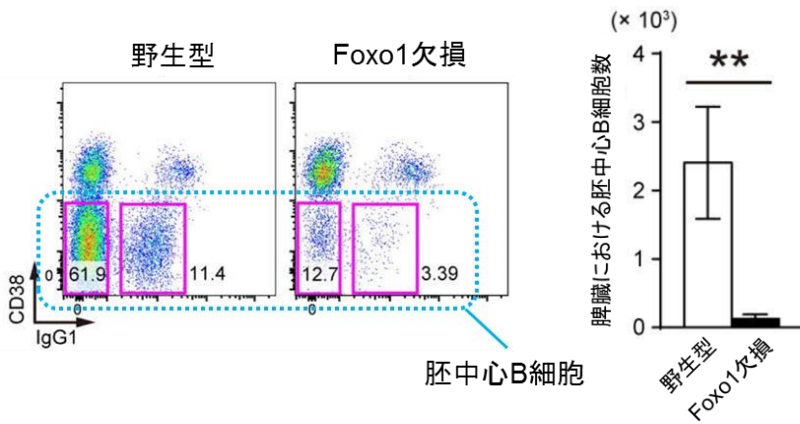


図2 Foxo1 欠損マウスの解析(胚中心形成後)

図1と同様にFoxo1誘導的欠損マウスを用いて、抗原刺激に伴う胚中心形成後にFoxo1を欠損させ、脾臓における胚中心を解析(左:脾臓細胞のフローサイトメトリー解析、右:胚中心B細胞数のグラフ)。その結果、図1とは反対にFoxo1欠損マウスでは胚中心B細胞の数が著しく減少することが分かった。

胚中心は、組織学的に dark zone (暗領域)と light zone (明領域)に分けられます。dark zone では B 細胞が活発に増殖しながら抗体遺伝子に体細胞突然変異を導入する一方、light zone では胚中心 B 細胞が近縁に存在する濾胞樹状細胞や濾胞性ヘルパー T 細胞との相互作用を通して親和性選択を受け、抗体産生細胞や記憶 B 細胞に分化していくと考えられています。

これまで胚中心 B 細胞が dark zone/light zone 間をどのようなメカニズムで遷移しているかはほとんど分かっていませんでした。今回、Foxo1 欠損マウスの胚中心ではこの dark zone が選択的に失われていたことから、胚中心 B 細胞が light zone から dark zone へ移行するためには Foxo1 が必須であることが分かりました(図 3)。

また、この移行の過程では、light zone B 細胞はヘルパー T 細胞への抗原提示を行い、それに応じたヘルパー T 細胞からの刺激を受けとることが必要であると考えられていますが、Foxo1 欠損胚中心 B 細胞は T 細胞への抗原提示能に異常をきたしており、これが dark zone へと移行できない原因の一つであると考えられます(図 4)。

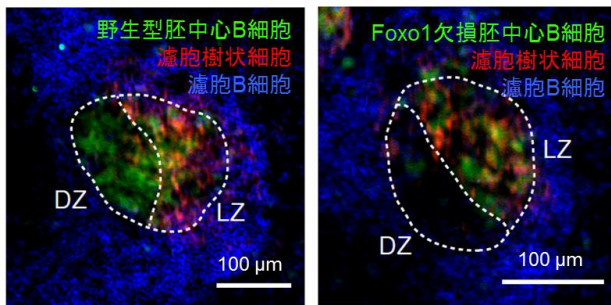
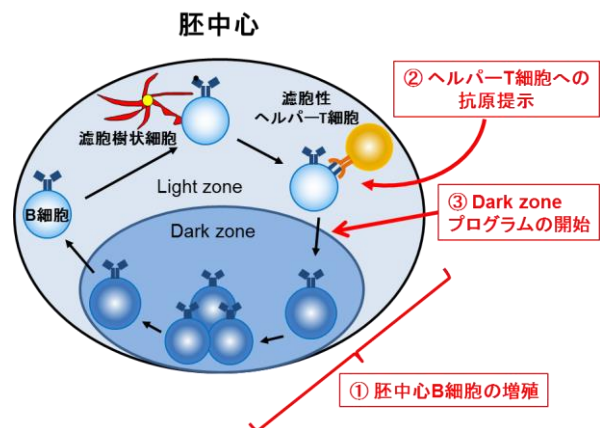


図3 Foxo1 欠損マウスの脾臓切片の顕微鏡観察

胚中心形成後に誘導的にFoxo1を欠損させたのち、脾臓切片の胚中心に顕微鏡観察。濾胞B細胞(青)のない領域が胚中心を示しており(点線)、その中でも濾胞樹状細胞(赤)が存在する領域がlight zone (LZ)、存在しない領域がdark zone (DZ)を表した。野生型胚中心B細胞(緑)は、dark zone (DZ)とlight zone (LZ)両方に分布しているのに対し(左)、Foxo1欠損胚中心B細胞はlight zoneにしか存在していないことが分かった(右)。なお、濾胞(ろほう)とは多数の細胞からなる完全に閉じた袋状の構造物

図4 本研究で明らかになった胚中心 B 細胞における Foxo1 の役割

Foxo1 は胚中心 B 細胞の増殖のために重要な転写因子であり、Foxo1 がないと胚中心の dark zone が失われ、胚中心が退縮していく。また、light zone においても、Foxo1 は濾胞性ヘルパー T 細胞への抗原提示や、T 細胞からの刺激に応じた dark zone プログラムに必要な遺伝子群の発現といった胚中心 B 細胞のさまざまな局面で大事な働きをしていることが分かった。Foxo1 の機能をうまく制御できれば、より良い抗体産生を導くことができるようになると期待される。



さらに研究グループは、Foxo1 欠損細胞の異常の原因を探るべく、網羅的遺伝子発現解析を行い、Foxo1 欠損胚中心 B 細胞において別の転写因子 Batf の発現が著しく減少していることに着目しました。Batf は胚中心 B 細胞の light zone で高い発現を示す転写因子であることが知られており、light zone B 細胞において、T 細胞からの刺激に応じて発現が誘導されることが分かったためです。そこで Batf を Foxo1 と同じように胚中心 B 細胞で誘導的に欠損させるマウスを作製、解析したところ、Foxo1 欠損のときと同様に胚中心が著しく退縮していくことが観察されました。さらに、Foxo1 欠損胚中心 B 細胞に Batf を外来的に発現誘導すると、退縮していた胚中心が回復しました。このことから、Foxo1 は Batf の発現誘導を介して胚中心 B 細胞の増殖・維持を制御していることが示唆されました。

## ❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

ワクチン療法の目的は、細菌・ウイルス感染に一番有効な抗体産生を誘導することですが、本研究は、新規ワクチン開発に重要な貢献をすると考えられます。今回研究グループはマウスモデルを用いた研究から、転写因子 Foxo1 が、胚中心 B 細胞が適切に増殖・分化するために必須の機能を担っているほか、胚中心のさまざまな局面で重要な役割を果たしていることを明らかにしました。

今回の成果を応用し、Foxo1 を標的として胚中心 B 細胞の機能を制御できれば、有効なワクチン戦略の開発につながります。

## ❖ 用語解説

### ※1 胚中心

免疫応答の際にリンパ節や脾臓などの免疫組織において誘導される微小構造。ここでは B 細胞が活発に増殖するとともに、抗体遺伝子に変異を入れてより良い抗体を産生できるようになる。胚中心は構造学的に dark zone (暗領域) と light zone (明領域) に分けられる。

### ※2 B細胞

免疫細胞の一種で、細胞表面にあるB細胞抗原受容体と呼ばれるタンパク質で病原体などの抗原を認識し抗体を産生する。B細胞は、抗原の刺激に応じて胚中心B細胞、抗体産生細胞および記憶B細胞へと分化する。

### ※3 転写因子

DNA上に存在する転写を制御する領域に結合し、特定の遺伝子の働きを促進、あるいは抑制する機能を持つタンパク質群。

### ※4 Foxo1

フォークヘッド型転写因子 Forkhead box-containing protein, O1 の略。さまざまな組織、細胞で働いているが、胚中心 B 細胞における機能は不明であった。

### ※5 抗体

B 細胞が産生するタンパク質で、特定のタンパク質など抗原を認識して結合し無毒化する働きを持つ。例えば、インフルエンザにはインフルエンザ専門の B 細胞とそれが作り出す抗体がある。

## ❖ 特記事項

本研究成果は、米国の科学雑誌『*Journal of Experimental Medicine*』にオンライン掲載されています。

【論文タイトル】The transcription factor Foxo1 controls germinal center B cell proliferation in response to T cell help.

【著者】Takeshi Inoue, Ryo Shinnakasu, Wataru Ise, Chie Kawai, Takeshi Egawa, Tomohiro Kurosaki

本研究は、大阪大学、理化学研究所が共同で行ったものです。

大阪大学免疫学フロンティア研究センター(IFReC)は、日本が科学技術の力で世界をリードするため「目に見える世界的研究拠点」の形成を目指す文部科学省の世界トップレベル研究拠点プログラム(WPI) に採択されています。