

## B細胞が多発性硬化症の悪化を制御する仕組みを解明 (馬場准教授、黒崎教授、松本研究員らが Immunity に掲載)

大阪大学免疫学フロンティア研究センターの馬場義裕准教授、黒崎知博教授、松本真典研究員らと理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター分化制御研究グループ（黒崎知博グループディレクター）による共同研究グループは、免疫細胞の一つである制御性 B 細胞に細胞外からカルシウムを流入させるカルシウムセンサー「STIM」が、多発性硬化症の悪化を抑制する仕組みを解明しました。

多発性硬化症は、脳、脊髄、視神経などに炎症が起こり、運動麻痺や感覚障害などの神経症状の悪化を繰り返す疾患です。我が国での患者数は人口 10 万人あたり 8〜9 人程度と推定されています。多発性硬化症の発症や悪化のメカニズムは未だ明らかにされていませんが、神経繊維をさやのように覆っている髄鞘と呼ばれる組織を免疫細胞が破壊することにより引き起こされると考えられています。近年、「制御性 B 細胞」と呼ばれる免疫細胞集団がこの脳脊髄炎を抑制することが報告され注目されていますが、その抑制メカニズムは不明のままです。

今回、研究グループは多発性硬化症に類似する脳脊髄炎のマウス実験モデルを用いて、制御性 B 細胞への細胞外からのカルシウム流入が脳脊髄炎を抑制することを発見しました。さらに、このカルシウム流入にはカルシウムセンサーである STIM が重要であることを明らかにしました。実際、B 細胞で STIM を欠損するマウスでは、脳脊髄炎を抑制することができず、神経麻痺症状の重篤化が観察されました。

これらの結果から、制御性 B 細胞において STIM の機能を人為的に制御することができれば、多発性硬化症に対する新たな治療法の開発につながるものと期待されます。

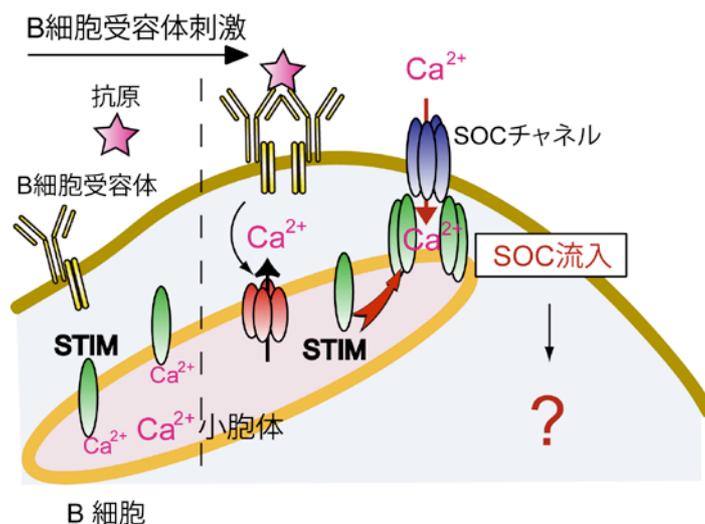
この研究成果は、独立行政法人科学技術振興機構の CREST「アレルギー疾患・自己免疫疾患などの発症機構と治療技術」研究領域（菅村和夫研究総括）における研究課題「液性免疫制御による新しい治療法の開発」（研究代表者：黒崎知博）の一環として行われました。

## 詳しい解説

### 1. 背景

私たちの体には、免疫系が「自己」と「非自己」を厳密に識別して、「非自己」のみを排除する機能が備わっています。しかし、一旦この免疫系が破綻してしまうと、免疫系が誤って「自己」の正常な細胞や組織に対して過剰に反応し、自己免疫疾患を引き起こすようになります。代表的な自己免疫疾患として、多発性硬化症や関節リウマチ、全身性エリテマトーデスなどが知られています。中でも中枢性脱髄疾患の一つである多発性硬化症は、脳、脊髄、視神経などに炎症が起こり、運動麻痺や感覚障害など、神経症状の悪化を繰り返す疾患で、我が国での患者数は人口 10 万人あたり 8～9 人程度と推定されており、特定疾患に認定されている指定難病です。多発性硬化症の発症や悪化のメカニズムは未だ明らかにされていませんが、神経繊維をさやのように覆っている髄鞘と呼ばれる組織を免疫細胞が破壊することにより、脳脊髄炎が引き起こされると考えられています。免疫細胞の中でも B 細胞は、B 細胞受容体を介して抗原を認識して活性化し、抗体産生や抗原提示、サイトカイン産生を引き起こすことから、多発性硬化症の発症や悪化を制御することが示唆されています。

B 細胞が抗原を介して B 細胞受容体から刺激を受けると、細胞内のカルシウム濃度が増加することが明らかとなっています。この細胞内カルシウム濃度の増加では、主に二つの異なる経路からカルシウムが供給されます。一つは細胞内カルシウム貯蔵庫である小胞体からの即時かつ一過性のカルシウム放出、もう一つは、小胞体内のカルシウム濃度が低下したことによって起こる細胞外から細胞内へのカルシウム流入です。後者は、B 細胞受容体刺激により減少した小胞体内のカルシウム濃度を、小胞体カルシウムセンサーである STIM タンパク質が感知して、細胞膜上のストア作動性カルシウム (SOC) チャンネルを活性化、開口させることにより、カルシウムの流入 (SOC 流入) を誘導する経路です。B 細胞の細胞内カルシウム濃度の増加は、SOC 流入が主な要因であり、長時間の持続的カルシウムシグナルを維持する上で重要であると考えられています (図 1)。

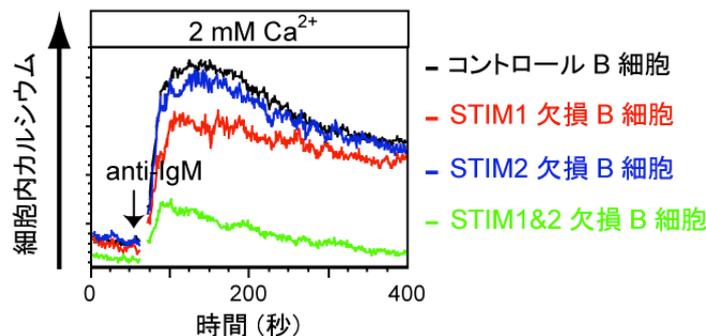


**図1 B細胞における STIM のストア作動性カルシウム流入活性化メカニズム**  
B細胞受容体に抗原が結合すると、細胞内に刺激が伝わり、小胞体カルシウムストアからカルシウムが細胞質に放出される。その後、小胞体に広く分布していた STIM が小胞体内腔のカルシウム枯渇を感知して細胞膜近傍へと集積することにより、SOC チャンネルを介した細胞外からのカルシウム流入が誘導される。

近年、「制御性 B 細胞」と呼ばれる細胞集団が抑制性サイトカインである IL-10 を産生して、脳脊髄炎を抑制することが報告され注目されていますが、その抑制メカニズムは不明のままです。研究グループは、SOC 流入を誘導する STIM1 およびその同族体である STIM2 に注目し、B 細胞の免疫抑制機能における SOC 流入の関与を解析することにしました。

## 2. 研究手法と成果

研究グループは、まず B 細胞特異的に STIM1 および STIM2 を欠損するマウスを作製して、カルシウム流入における STIM の役割を検討しました。その結果、B 細胞受容体を刺激した STIM1 欠損 B 細胞の細胞内カルシウム濃度の上昇は抑制され、STIM1 および STIM2 の両者を欠損する (STIM1&2 欠損) B 細胞ではさらに抑制されていました (図 2)。



**図2 STIM1 および STIM2 欠損 B 細胞のカルシウム動員**

コントロールと STIM1 および STIM2 を欠損する B 細胞を anti-IgM を用いて B 細胞受容体を刺激した際の細胞内カルシウム濃度を測定した。STIM1 欠損 B 細胞ではカルシウム動員が抑制され、STIM1 および STIM2 の両者を欠損する (STIM1&2 欠損) B 細胞ではさらに抑制された。

研究グループは、グラム陰性菌の細胞壁外膜の構成成分であるリポ多糖 (LPS) で活性化させた B 細胞は、B 細胞受容体を刺激すると IL-10 を強く産生することを見出しました。さらに、細胞外からの SOC 流入が、B 細胞による IL-10 の産生を誘導するかを検討したところ、STIM1&2 欠損 B 細胞は IL-10 をほとんど産生できないことを明らかにしました。また、この STIM1&2 欠損 B 細胞は、B 細胞受容体を刺激しても、NFAT (nuclear factor of activated T cells) という転写因子の活性化がほとんど認められませんでした。実際、NFAT の発現をノックダウンさせた B 細胞では IL-10 の産生が著しく抑制されており、NFAT が IL-10 の産生誘導に必須の転写因子であることがわかりました。そこで、研究グループは、多発性硬化症に類似する脳脊髄炎の実験モデルを用いて、制御性 B 細胞における SOC 流入が脳脊髄炎に与える影響を検討しました。髄鞘構成タンパク質として知られる MOG(ミエリンオリゴデンドロサイトタンパク質)のペプチドを免疫応答を促進するアジュバントとともにマウスへ皮下注射すると、免疫細胞が髄鞘を破壊して四肢の麻痺が引き起こされます (実験的自己免疫性脳脊髄炎 : experimental autoimmune encephalomyelitis [EAE])。この時に観察される EAE の麻痺症状をスコアで評価した結果、B 細胞で STIM1&2 を欠損したマウスでは、有意に EAE の増悪化が観察されました(図 3)。

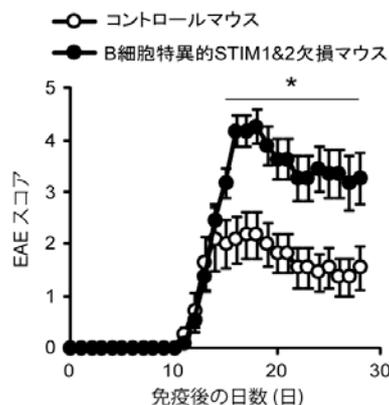


図 3 B 細胞特異的 STIM1&2 欠損マウスにおける EAE の増悪化

コントロールと B 細胞特異的 STIM1&2 欠損マウスへ髄鞘構成タンパク質である MOG のペプチドを皮下注射して、EAE を誘発させた。免疫後、マウスの上下肢の麻痺症状を経時的に観察することにより、EAE の麻痺症状をスコアで評価した。B 細胞特異的 STIM1&2 欠損マウスではコントロールマウスに比較して有意に EAE の増悪化が観察された。(★ : 有意差あり)

これらの結果は、制御性 B 細胞が脳脊髄炎を抑制するためには、STIM 依存的な SOC 流入が NFAT を介して IL-10 の産生を誘導することが必須であることを示しています (図 4)。

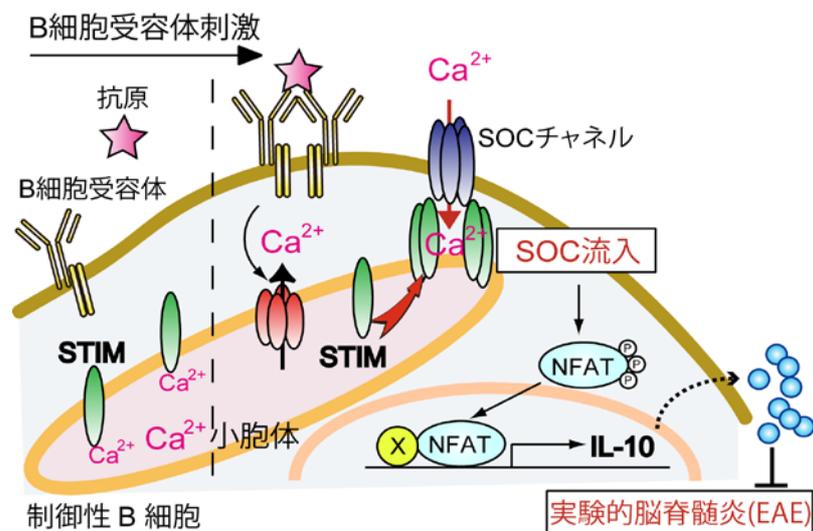


図 4 制御性 B 細胞内への SOC 流入による IL-10 産生メカニズム

制御性 B 細胞内への STIM 依存的な SOC 流入は NFAT の活性化を引き起こして IL-10 の産生を誘導し、EAE を抑制する。

### 3. 今後の期待

これまで、多発性硬化症が悪化するメカニズムはほとんど明らかにされていませんでした。しかし今回、STIM による脳脊髄炎の悪化を抑制するメカニズムを解明したことにより、制御性 B 細胞に発現する STIM の機能を人為的に制御することができれば、多発性硬化症に対する新たな治療法の開発につながるものと期待されます。