

ウイルス感染から身体を守る**抗体が作られる仕組み**を発見

—新規ワクチン戦略に期待—

キーワード：ワクチン、抗体、プラズマ細胞、胚中心

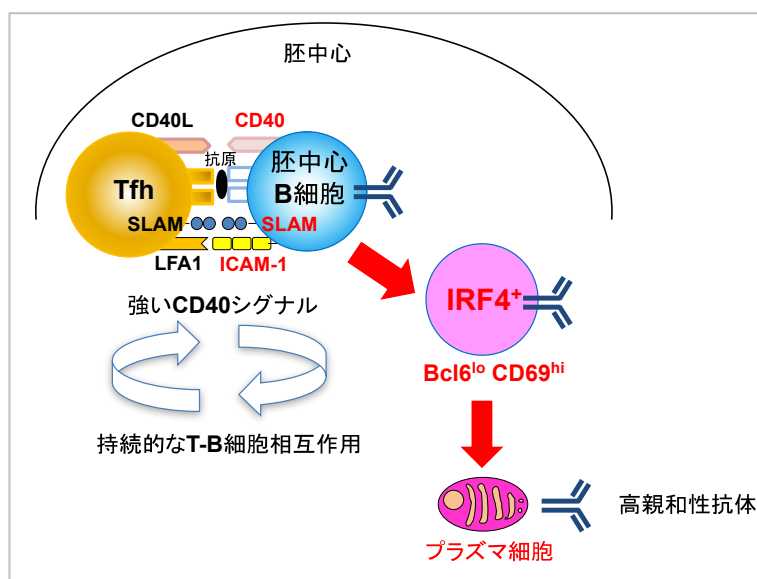
【研究成果のポイント】

- インフルエンザウイルス感染をきっかけとする死者が出ていることから、感染時の抗体生成などの生体防御メカニズムを解明し、効果的なワクチンを開発することは重要
- 細菌やウイルス感染時に十分に攻撃できる良質の抗体を作るプラズマ細胞がどのようなメカニズムで誕生するのかは十分に明らかにされてこなかった
- 今回、プラズマ細胞の前駆細胞がどのような刺激によってプラズマ細胞となるのかを明らかにした。その誘導法を利用した新たなワクチン開発につながると期待される

❖ 概要

免疫学フロンティア研究センターの伊勢渉特任准教授、黒崎知博特任教授（理化学研究所生命医科学研究センター一兼任）らの共同研究グループは、**病原体からの感染防御に必須の抗体^{※1}が作られる経路を明らかにしました。本成果は、効果的な抗体の産生を標的にした新規ワクチン開発に大きく貢献すると期待できます。**

今回、共同研究グループは、マウスを用いた解析を行い、ウイルスなどの病原体を生体内から除去するために必要な抗体分子の中でも、**病原体との親和性の高い良質な抗体がどのような仕組みにより作られるのかを明らかにしました。**ウイルス等の外来異物が体内に侵入すると、活性化したB細胞^{※2}が、胚中心^{※3}という微小構造の中で、高親和性の抗体を産生するプラズマ細胞^{※4}へと分化します。本研究では胚中心に存在するB細胞を詳細に解析し、**プラズマ細胞へ分化することが運命づけられた前駆細胞を同定することに初めて成功しました。**また、このプラズマ細胞の前駆細胞がどのような刺激によって誕生するのかを明らかにしました。**このプラズマ細胞の前駆細胞を効率良く誘導することが、新たなワクチン開発の指標になるものと期待されます。**



❖ 研究の背景

近年インフルエンザウイルス感染により、日本国内だけでも年間約 1000 人もの死者が出ています(厚生労働省 人口動態調査人口動態統計平成 28 年)。ウイルス・細菌感染に対する生体防御メカニズムを解明し、効果的なワクチンを開発することが、社会的に重要な課題となっています。ウイルスや細菌などの外来異物が私たちの生体に侵入すると、免疫系の細胞が活性化し、異物を排除するための物質を産生します。中でもとりわけ重要なのが抗体です。抗体は、B 細胞から分化した「プラズマ細胞」という細胞によって作られますが、プラズマ細胞には大きく分けて二種類のタイプが存在します。一つは異物によって速やかに誘導されるタイプで、親和性の低い抗体を迅速に産生します。もう一つは胚中心という場所で作られるタイプのプラズマ細胞で、親和性の高い良質な抗体を産生します。胚中心に存在する B 細胞(胚中心 B 細胞)は、自らの抗体遺伝子に変異を繰り返し導入することで、自らの抗体の性能を高めてゆき、細菌やウイルスを攻撃するための高親和性抗体を持つようになった胚中心 B 細胞がプラズマ細胞へと分化すると考えられてきました。よって、感染防御に効果的な、高親和性の良質抗体を産生するタイプのプラズマ細胞がどのようなメカニズムで誕生するのかを明らかにすることは非常に重要です。しかし、生体内におけるプラズマ細胞の数が非常に少なく解析が難しいこと、また胚中心を経て誕生したプラズマ細胞を他のタイプのプラズマ細胞と識別する方法がこれまでに存在しなかったことから、分化の経路は明らかにされていませんでした。

❖ 本研究の成果

研究グループは、まず、胚中心 B 細胞の中にはプラズマ細胞への分化が既に始まっているものが存在するのではないかと考えました。胚中心の B 細胞は、転写因子^{※5} Bcl6^{※6} を発現していますが、プラズマ細胞へ分化すると Bcl6 の発現を失います。そこで Bcl6 の発現を蛍光色素で追跡できるレポーターマウス^{※7} を用いて解析を行いました。すると、胚中心 B 細胞の一部で Bcl6 の発現が低下していることが判明しました(図 1)。また、この胚中心 B 細胞は、他の胚中心 B 細胞と異なり、プラズマ細胞への分化に必須の転写因子 IRF4^{※8} を強く発現していること、また細胞表面に CD69 という分子マーカーを持つことを見だし、Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞と呼ぶことにしました。

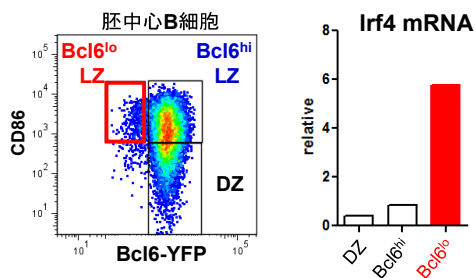


図 1 胚中心 B 細胞には Bcl6^{lo} 細胞が存在する

Bcl6 を黄色蛍光色素 (YFP) で標識した Bcl6-YFP レポーターマウスを抗原で免疫した後に解析したところ、胚中心の明領域 (Light zone, LZ) に、Bcl6-YFP の発現が低い B 細胞 (Bcl6^{lo} 細胞) が存在した (左の赤枠内)。この Bcl6^{lo} 細胞を分離して遺伝子発現を解析したところ、他の胚中心 B 細胞と比較して IRF4 を強く発現することが判明した (右の赤棒)。

続いて、Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞が、本当にプラズマ細胞の前駆細胞であるかどうかを検証しました。まず、本研究グループが以前報告した胚中心 B 細胞の運命追跡システム^{※9} を使用して、胚中心由来のプラズマ細胞を分離し、胚中心 B 細胞と抗体遺伝子の配列を比較しました。その結果 Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞と胚中心由来プラズマ細胞の抗体遺伝子の配列が似通っていたことから、Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞がプラズマ細胞へ分化したと考えられました。また、Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞は、親和性の高い良質な抗体を生み出す遺伝子変異を多く持つことも明らかとなりました。さらに、Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞は胚中心 B 細胞に特徴的な遺伝子の発現を失っていること、逆にプラズマ細胞に特徴的な遺伝子を発現し始めていることが明らかとなりました。これらの結果から、胚中心 B 細胞の中でも Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞はプラズマ細胞への分化が運命づけられた前駆細胞であると考えられました。

胚中心 B 細胞がプラズマ細胞へと分化するには、濾胞性ヘルパー T 細胞 (Tfh 細胞)^{※10} からのシグナルが必要であることが知られています。実際に、Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞では、Tfh 細胞からのシグナルが、CD40^{※11} という受容体を介して、他の胚中心 B 細胞よりも強く入っていることが判明しました。そこで、胚中心 B 細胞上で CD40 タンパクの発現を減少させたところ、プラズマ細胞への分化が約半分程度に減少しました(図 2)。このことから Tfh 細胞を介したヘルプシグナル^{※12}の量がプラズマ細胞への分化を制御していることが判明しました。

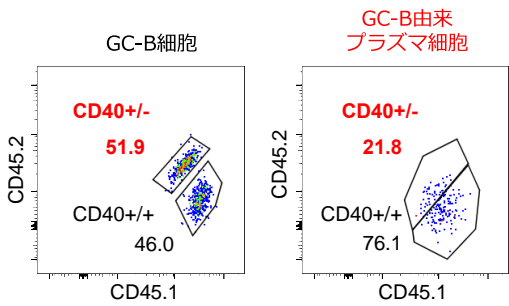


図 2 胚中心(GC)B 細胞の CD40 発現量とプラズマ細胞分化
 CD40 を正常に発現する B 細胞 (CD40+/+) と CD40 の発現を減少させた B 細胞 (CD40+/-) を 1:1 の比率でマウスに移入し、抗原刺激後、プラズマ細胞への分化能を比較した。CD40 の発現が減少した CD40+/-胚中心 B 細胞は正常に生存することができたが(左)、プラズマ細胞への分化能は約半分に低下していた(右)。

ではなぜプラズマ細胞の前駆細胞は Tfh 細胞から強いヘルプシグナルを受けられるのでしょうか？ Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞は接着分子である ICAM-1^{※11} や SLAM^{※12} を他の胚中心 B 細胞よりも多く発現し、実際に Tfh 細胞とより効率良く結合できることが明らかになりました(図 3)。この Tfh 細胞との結合を阻害すると IRF4 の発現量が低下し、Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞数も減少しました。以上の結果から、Tfh 細胞との安定的な相互作用が胚中心 B 細胞をプラズマ細胞の前駆細胞へと誘導するのに重要であることが示唆されました。

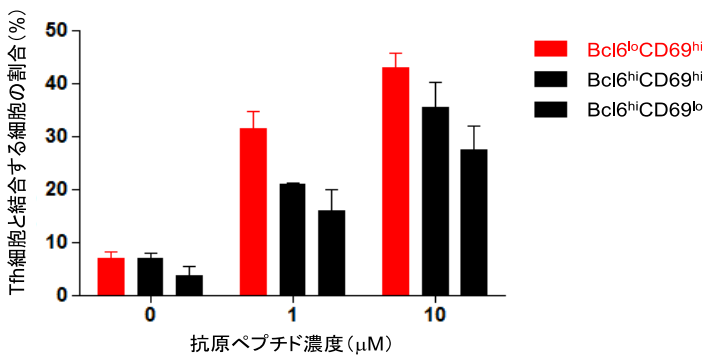


図 3 胚中心 B 細胞と Tfh 細胞の結合効率
 胚中心 B 細胞を分離し、抗原ペプチドの存在下、B 細胞と Tfh 細胞の結合を比較した。他の胚中心 B 細胞と比較して、Bcl6^{lo}CD69^{hi} 細胞 (赤棒) は Tfh 細胞とより効率よく結合することが分かった。

❖ 今後の期待

ワクチン療法の目的は、細菌・ウイルス感染に最も有効な抗体を誘導することです。本研究は高親和性の“良質”な抗体を産生するプラズマ細胞が誘導される経路を明らかにしました。今回の成果を応用し、高親和性の抗体をつくるプラズマ細胞を効率良く誘導する方法を開発することが、新しいワクチン戦略の一つの鍵になると期待できます。

❖ 用語説明

※1 抗体

プラズマ細胞が産生するタンパク質。特定のタンパク質など抗原を認識して結合し、無毒化(中和)する働きを持つ。

※2 B 細胞

免疫細胞の一種。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、記憶 B 細胞、プラズマ細胞へと分化する。

※3 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。胚中心では、B 細胞が活発に増殖するとともに、抗体遺伝子に変異が起こり、より親和性の高い抗体ができる。

※4 プラズマ細胞(形質細胞)

B 細胞が終末分化した細胞。抗体(免疫グロブリン)の合成と分泌に特化した細胞。

※5 転写因子

遺伝子の発現を調節するタンパク質。多くは DNA との結合部位を持つ。標的遺伝子の調節領域(プロモーターなど)に結合し、標的遺伝子の発現を活性化、あるいは抑制する。

※6 Bcl6

Bcl6 は転写因子として機能すると考えられ、多くの遺伝子の発現制御に関与している。特に、Bcl6 は胚中心 B 細胞の分化に必須である。胚中心 B 細胞は Bcl6 を高発現するが、記憶 B 細胞やプラズマ細胞は Bcl6 を発現しない。Bcl6 は B-cell lymphoma 6 の略。

※7 レポーターマウス

各種のイメージング手法などを用いて遺伝子発現をモニターできるマウス

※8 IRF4

Interferon regulatory factor 4 の略。IRF4 は多くの遺伝子の発現制御に関与する転写因子である。B 細胞からプラズマ細胞への分化に必須の因子であり、プラズマ細胞で高発現している。

※9 胚中心 B 細胞の運命追跡システム

IRF4 は多くの遺伝子の発現制御に関与する転写因子。B 細胞からプラズマ細胞への分化に必須の因子であり、プラズマ細胞で高発現している。IRF4 は Interferon regulatory factor 4 の略。

※10 濾胞性ヘルパーT 細胞(Tfh 細胞)

ヘルパーT 細胞の一種。T 細胞領域から濾胞へ移動して、B 細胞の働きを補助できるように変化した T 細胞。細胞表面分子を介した相互作用や、サイトカインと呼ばれる液性因子を分泌して B 細胞の働きを調節する。胚中心の誘導と胚中心 B 細胞の選択に必須。

※11 CD40

腫瘍壊死因子レセプター(TNFR)スーパーファミリーの一つで、全ての成熟 B 細胞に発現する分子。CD40 は T 細胞の CD154(CD40 リガンド)と結合し、B 細胞に増殖や分化を誘導するシグナルを伝達する。

※12 ヘルプシグナル

T 細胞が B 細胞を活性化するために伝達するシグナル。T 細胞上の CD154(CD40 リガンド)や T 細胞から産生される種々のサイトカイン(インターロイキン 4 やインターロイキン 21 など)が B 細胞上のリガンドやレセプターに結合することによって伝達される。

※13 ICAM-1

免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子。CD54 とも呼ばれる。リンパ球、内皮細胞など多くの細胞に恒常的に発現している。ICAM-1 は細胞接着分子 LFA-1(リンパ球機能関連抗原 1)と結合し、炎症や免疫応答での細胞間相互作用に重要な役割を果たす。ICAM-1 は Intercellular adhesion molecule 1 の略。

※14 SLAM

免疫グロブリンスーパーファミリーに属する。CD150とも呼ばれる。相手の細胞上のSLAMに対するリガンドとして作用する。SLAMの発現はB細胞、樹状細胞、活性化T細胞にみられ、B細胞の刺激、増殖誘導、アポトーシスの阻害などの機能に関与している。SLAM は Signaling lymphocyte activation moleculeの略

❖ 論文情報

本研究成果は、2018年4月18日(日本時間)に米国科学誌「Immunity」のオンライン版で公開。

【タイトル】

T follicular helper cell-germinal center B cell interaction strength regulates entry into plasma cell or recycling GC cell fate

(濾胞性ヘルパーT細胞と胚中心B細胞の相互作用強度が、プラズマ細胞になるか杯中心でリサイクルされるかの運命を決める)

【著者】

Wataru Ise, Kentaro Fujii, Katsuyuki Shiroguchi, Ayako Ito, Kohei Kometani, Kiyoshi Takeda, Eiryō Kawakami, Kazuo Yamashita, Kazuhiro Suzuki, Takaharu Okada and Tomohiro Kurosaki

❖ 特記事項

本研究は、JST戦略的創造研究推進事業CREST「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)」、さきがけ「生体システム理解・医科学応用を実現する1細胞核酸計測技術の開発(研究者:城口克之)」、文部科学省科学研究費補助金「液性免疫記憶の生成・維持・活性化機序(研究代表者:黒崎知博)」、「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(研究代表者:黒崎知博)」、「高親和性プラズマ細胞の選択および生存維持を担う分子機構の解析(研究代表者:伊勢渉)」、先進医薬研究振興財団研究助成「高親和性抗体を産生するプラズマ細胞の誘導・選択に関する分子機構の解明(研究者:伊勢渉)」の支援を受けて行われました。