

研究種目：特定領域研究  
研究期間：2007～2011  
課題番号：19059015  
研究課題名（和文）人工免疫組織の作出と応用

研究課題名（英文）Generation and application of artificial lymphoid tissues

研究代表者

渡邊 武 (WATANABE TAKESHI)  
京都大学・医学研究科・研究員

研究者番号：40028684

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：免疫学、再生医学、感染症、腫瘍免疫、バイオテクノロジー、人工組織

#### 1. 研究計画の概要

本研究では、末梢リンパ節あるいは脾臓組織の構築を人工的な方法で行い、その構造が自然のリンパ組織に類似し、かつ抗原特異的免疫学的機能を有する組織を構築する方法を確立することを目標とする。すでにこれまでに我々は、自然のリンパ節に類似した組織の人工的構築に成功し、人工リンパ節を非免疫状態の個体、あるいは免疫不全症(SCID)の個体に移植し抗原で免疫すると、抗原特異的抗体産生系において、正常リンパ節では到達し得ないほどの強い二次免疫反応を誘導出来ることを発表してきた。このような高効率の免疫機能をもった人工リンパ節の成功は我々が世界で初めてである。

平成19年—21年度の研究目標は、(1)このようなリンパ組織を構築出来るストローマ細胞、インデューサー細胞の遺伝子プロファイリングを行い、その遺伝子シグニチュアを検索する。(2)人工リンパ節に濃縮されるB細胞、ヘルパーT細胞の遺伝子プロファイリングを行う。(3)我々の人工リンパ節法を用いると、親和性が非常に高い抗原特異的抗体産生細胞が高効率で得られることから、新たなモノクローナル抗体作成法であると考えられる。人工リンパ節を用いて抗体産生性ハイブリドーマの作成を行う。(4)人工リンパ節を用いた腫瘍治療モデルを確立する。(5)ヒト化マウス等を応用してヒト型人工リンパ節の構築を行うための基礎的検討を行う。

#### 2. 研究の進捗状況

我々はストローマ細胞とコラーゲンスポンジのスキュフォールドを用いる簡単な方法で、自然のリンパ節に類似した組織の人工的構築が可能であること、人工リンパ節を非免疫状態の個体、あるいは免疫不全症(SCID)の個体に移植し抗原で免疫すると、抗原特異的抗体産生系において、正常リンパ節では到達し得ないほどの強い二次免疫反応を誘導出来ることを報告してきた。一方、人工リンパ節を構築する際にTh-1型の免疫反応を誘導するような条件下で人工リンパ節を構築すると抗原特異的にIFN $\gamma$ を効率に産生する組織を構築出来、このような人工リンパ組織を担がんマウスに移植すると強い抗腫瘍効果が得られることを示した。この高効率の免疫誘導機能の機構を解析したところ、抗原特異的な記憶T細胞様のヘルパーT細胞、および抗原特異的記憶B細胞が人工リンパ節内に濃縮されるという結果が得られた。このことは、人工リンパ節において強い二次免疫反応が急速に引き起こされる理由の一つと考えられた。さらに、人工リンパ節内に、エフェクター型メモリーT細胞のみならず濾胞性ヘルパーT細胞(Follicular helper T cells)が高度に濃縮されてくることが明確となった。このように、我々の作製した人工リンパ節では、その詳細な機構はまだ不明であるが、抗原特異的な濾胞性ヘルパーT細胞(T-FH)および免疫記憶T細胞、記憶B細胞が効率よく濃縮されてくるのがわかった。このような特徴的な機能が備わった理由の一つとして、我々が用いているストローマ細胞

の特性があると考えている。

### 3. 現在までの達成度

①当初の計画異常に進展している。期待した以上の免疫能が得られたこと、その機能について細胞レベル、分子レベルでの解析が進んだ。

### 4. 今後の研究の推進方策

人工リンパ節に集積するメモリー細胞の機能、発現分子の解析を行い、免疫記憶細胞の本態を明らかにするとともに、メモリー細胞ニッチの探索を行い、より効率よくメモリーTおよびB細胞が濃縮される人工リンパ節の構築を目標とする。また、ヒト型の人工リンパ組織の構築に向けて、新たなインデューサー細胞、ストローマ細胞の同定、確立を目指す。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件、全て査読有り)

1. Tan J., and Watanabe T.. Synthesis of tissue-engineered lymphoid tissues. (review). *Advances in Immunology* 2010; (in press).

2. Ke-Y Wang, A.Tanimoto, S.Yamada, X Guo, Y Ding, T. Watanabe, T. Watanabe, K.Kohno, K-I Hirano, H.Tsukada and Y.Sasaguri: Histamine regulation in glucose and lipid metabolism via histamine receptors: Model for nonalcoholic steatohepatitis in mice. *American J. Pathology* 2010 (in press)

3. M. Hondo, K. Nagai, K. Ohno, Y. Kisanuki, J.T. Willie, T. Watanabe, M. Yanagisawa, T. Sakurai. Histamine-1 receptor is not required as a downstream effector of orexin-2 receptor in maintainance of basal sleep/wake states. *Acta Physiologica* 198:287-294, 2010.

4. M.Tomura, T.Honda, H.Tanizaki, A.Otsuka, G.Egawa, Y.Tokura, S.hori, J.G.Cyster, T.Watanabe, Y.Miyachi, O.Kanagawa, K.Kabashima. Activated Regulatory T cells are the major T cell type emigrating

from sensitized skin. *J. Clin. Invest.* 120(3):883-893, 2010.

5. Beghdadi W., Porcherie A., Dubayle D., Peronet R., Huerre M., Watanabe T., Ohtsu. H., Louis, J., Mecheri S.. Inhibition of histamine-mediated signaling confers significant protection against severe malaria in mouse model of disease. *J. Exp. Med.* 2008; 205:395-408.

6. McGlade P, Gorman S., Lenzo JC., Tan JW., Watanabe T., Finlay-Jones JJ., Thomas WR., Hart PH.. Effect of both UVB irradiation and histamine receptor function on allergic responses to an inhaled antigen. *J Immunol.* 2007; 178: 2794-802.

7. Okamoto N., Nishimoto S., Chihara R., Shimizu C. Watanabe T. Artificial lymph nodes induce potent secondary immune responses in naïve and immunodeficient mice. *J. Clin. Invest.* 2007; 117: 997-1007.

[学会発表] (計1件)

第2回ヨーロッパ免疫学会議(ドイツ、ベルリン): Generation of Artificial Lymph Nodes as a synthetic immunology.

2009年9月

[産業財産権]

○取得状況 (計1件)

名称: 人工リンパ節

発明者: 渡邊 武、末松佐知子

権利者: 独立行政法人理化学研究所

種類:

番号: 特許第4097544号

取得年月日: 平成20年3月21日

国内外の別: 国内および国外

○出願状況 (計3件)

名称: 癌治療用人工リンパ節

発明者: 渡邊 武

権利者: 独立行政法人理化学研究所

種類:

番号: 特願2007-315574

出願年月日: 平成19年12月6日

国内外の別: 国内、国外

外国出願: 平成19年11月21日