

令和元年6月22日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H05656

研究課題名（和文）交感神経によるリンパ球動態制御の分子基盤と生理的意義の解明

研究課題名（英文）The molecular basis and physiological significance of adrenergic control of lymphocyte trafficking

研究代表者

鈴木 一博 (Suzuki, Kazuhiro)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・教授

研究者番号：60611035

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 18,400,000円

研究成果の概要（和文）：我々の研究から交感神経がリンパ球の体内動態の制御に関与することが示されていた。本研究は、交感神経がリンパ球の体内動態を制御する分子メカニズムと生理的意義を明らかにすることを目的とした。本研究の結果、COMMD3/8複合体がリンパ球の移動と免疫応答の成立に重要な役割を果たしていることが明らかになるとともに、交感神経によるリンパ球の動態制御の仕組みが免疫応答の日内変動の形成に寄与することがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究からCOMMD3/8複合体が炎症性疾患の治療標的となる可能性が示されるとともに、Gタンパク共役型受容体の新たなシグナル伝達機構が明らかになった。また、交感神経によって生み出される免疫応答の日内変動は感染防御に有利に作用すると考えられることから、交感神経によるリンパ球の動態制御機構は神経系と免疫系が相互作用しながら進化する過程で編み出された生物の生存戦略の一つであることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Our previous study had demonstrated that adrenergic nerves control lymphocyte trafficking through lymph nodes. This study aimed at clarifying the detailed molecular mechanism and physiological significance of adrenergic nerve-mediated control of lymphocyte trafficking. As a result of this study, we found that the COMMD3/8 complex, a protein complex interacting with chemokine receptors, play important roles in lymphocyte migration and immune responses. Additionally, adrenergic nerves were found to generate diurnal rhythms in lymphocyte numbers in lymph node and consequentially the magnitude of immune responses through an oscillatory control of lymphocyte exit from lymph nodes.

研究分野：免疫学

キーワード：神経免疫関連 リンパ球動態 交感神経 アドレナリン受容体 ケモカイン受容体 GPCR COMMD3/8複合体

### 1. 研究開始当初の背景

「病は気から」ということわざにも示されるように、神経系による免疫系の制御機構が存在することは古くから指摘されてきた。しかし、神経系が免疫系を制御する細胞・分子レベルでのメカニズムは十分に解明されていない。我々は、交感神経がリンパ器官に投射することに着目し、交感神経による免疫制御機構について研究した結果、交感神経がリンパ球の体内動態を制御することを明らかにした (Nakai et al., *J. Exp. Med.* 2014)。リンパ球は、リンパ節からリンパ液中に脱出し、リンパ液が血液に合流するのに伴って血流に乗り、再びリンパ節に戻るという形で全身を巡っている。我々は、交感神経から放出される神経伝達物質ノルアドレナリンによってリンパ球に発現する  $\beta_2$  アドレナリン受容体が刺激されると、リンパ球をリンパ節に保持するためのケモカイン受容体 CXCR4 と CCR7 の反応性が高まる結果、リンパ球のリンパ節からの脱出が抑制されることを発見した。しかし、 $\beta_2$  アドレナリン受容体の活性化に伴ってどのようにしてケモカイン受容体の反応性が上昇するのか、またこのような形で交感神経によってリンパ球の体内動態が制御されることにどのような生理的意義があるのかは不明であった。

### 2. 研究の目的

上記の研究背景のもとで、 $\beta_2$  アドレナリン受容体とケモカイン受容体のシグナル伝達のクロストークのメカニズム、および交感神経がリンパ球の体内動態を制御することの免疫応答における役割を明らかにすることによって、交感神経によるリンパ球動態制御の分子基盤と生理的意義を解明することが本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

#### (1) 交感神経によるリンパ球動態制御の分子基盤

$\beta_2$  アドレナリン受容体とケモカイン受容体はいずれも G タンパク共役型受容体 (G protein-coupled receptor, GPCR) である。我々は本研究に先立って、 $\beta_2$  アドレナリン受容体および CXCR4 の細胞内 C 末端領域に会合する分子として、copper metabolism MURR1 domain-containing (COMMD) 3 と COMMD8 から成るタンパク複合体 (COMMD3/8 複合体) を同定していた。そこで本研究では、COMMD3/8 複合体が  $\beta_2$  アドレナリン受容体とケモカイン受容体のクロストークに関与するとの仮説のもとで、主に生化学的手法を用いて COMMD3/8 複合体の機能解析を行った。

#### (2) 交感神経によるリンパ球動態制御の生理的意義

交感神経の活動性は、1 日のうちで身体の活動性が高まる時間帯に上昇し、身体の活動性が低くなる時間帯に低下するという概日リズムを示す。そこで我々は、交感神経活動の概日リズムに応じてリンパ球の体内動態および免疫応答の強度がどのように変化するかをフローサイトメトリーや ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) などの手法を用いて解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) 交感神経によるリンパ球動態制御の分子基盤

我々は、COMMD3/8 複合体が欠損するとケモカイン受容体を刺激することによるリンパ球の移動 (ケモタキシス) が低下することを見出し、COMMD3/8 複合体がケモカイン受容体のシグナル伝達の正の制御因子であることを示した。さらに、そのメカニズムを解析した結果、COMMD3/8 複合体がシグナル伝達分子 GPCR kinase 6 (GRK6) をケモカイン受容体に動員することによって、ケモカイン受容体のシグナル伝達を促進することを突き止めた (Nakai et al., *J. Exp. Med.* 2019; 図 1)。

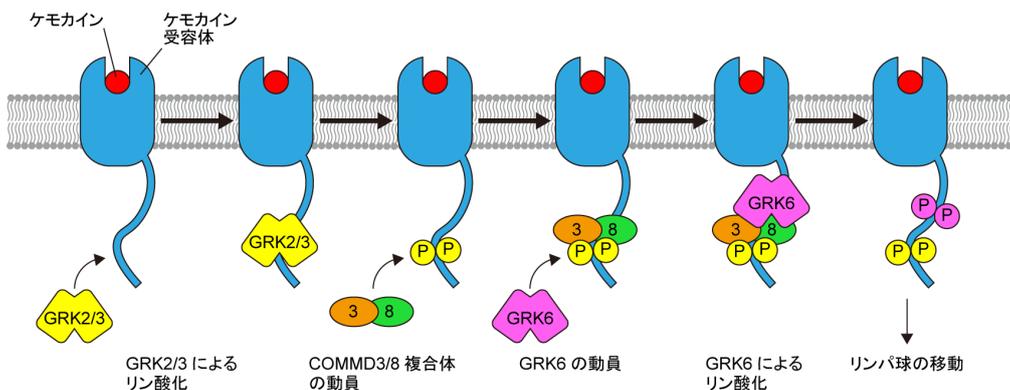
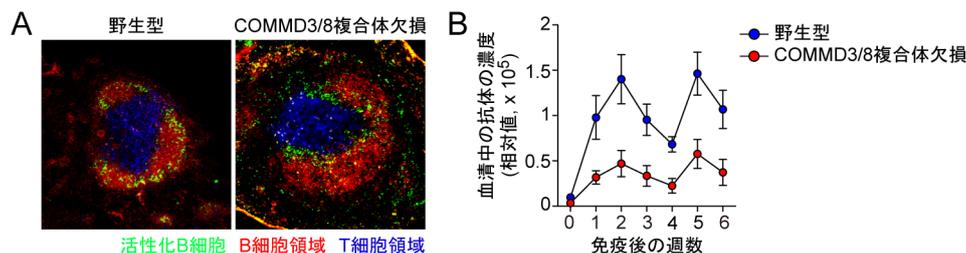


図 1. COMMD3/8 複合体の作用メカニズム。COMMD3/8 複合体は GRK6 をケモカイン受容体に動員することによってケモカイン受容体のシグナル伝達を促進し、リンパ球の移動を促す。

さらに我々は、COMMD3/8 複合体を欠損するマウスの体内におけるリンパ球の移動と免疫応答を解析した。その結果、COMMD3/8 複合体を欠損するマウスでは活性化 B 細胞の移動が異常を示すのに伴って、抗体産生や胚中心 B 細胞の生成など液性免疫応答が著しく低下することがわかった。このことから、COMMD3/8 複合体が生体内でのリンパ球の移動と免疫応答の成立に極めて重要な役割を果たしていることが明らかになった (Nakai et al., *J. Exp. Med.* 2019; 図 2)。



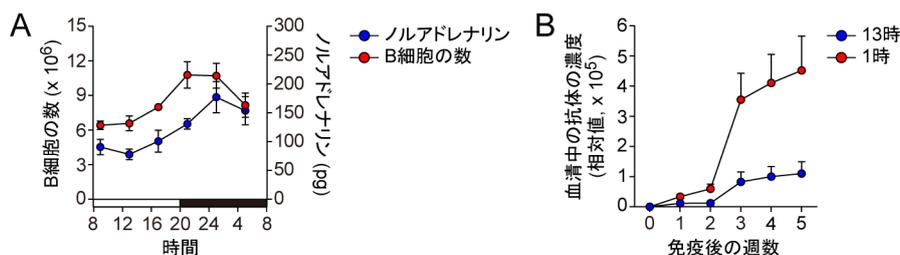
**図 2. COMMD3/8 複合体の免疫応答における役割.** (A)免疫 3 時間後のマウスの脾臓の組織像。野生型の活性化 B 細胞は B 細胞領域の外側に移動するのに対し、COMMD3/8 複合体を欠損する活性化 B 細胞は T 細胞領域側に移動する。(B)COMMD3/8 複合体を欠損するマウスでは免疫後の抗体産生が低下する。

COMMD3/8 複合体を欠損させることで免疫応答が低下したことから、COMMD3/8 複合体の機能を阻害することによって、過剰な免疫応答により引き起こされる自己免疫疾患やその他の炎症性疾患の病態が改善される可能性が示唆された。したがって、COMMD3/8 複合体はこれらの疾患の治療における新たな創薬ターゲットになると期待される。また本研究は、GPCR のシグナル伝達のこれまで認識されていなかった新たな制御メカニズムを解明した点においても有意義である。

しかし、COMMD3/8 複合体が  $\beta_2$  アドレナリン受容体とケモカイン受容体のクロストークに関与することを明確に示す実験結果は得られておらず、受容体間クロストークのメカニズムも未解明のままである。今後も  $\beta_2$  アドレナリン受容体とケモカイン受容体のクロストークのメカニズムについて解析を進め、交感神経系と免疫系を連動させる分子機構を明らかにする。

## (2) 交感神経によるリンパ球動態制御の生理的意義

我々は、マウスにおいて交感神経の活動性が高まる夜間にリンパ球のリンパ節からの脱出が抑制されるのに伴って、リンパ節におけるリンパ球の数が増加することを見出した (図 3A)。そこで、マウスを夜間に免疫したところ、リンパ節において昼間に比べて強い免疫応答が惹起されることがわかった (図 3B)。交感神経を除去する、あるいはリンパ節におけるリンパ球の出入りを遮断することによって、リンパ節におけるリンパ球数および免疫応答の日内変動が消失したことから、我々が見出した交感神経によるリンパ球動態の制御機構がこれらの日内変動に関与することが裏付けられた (Suzuki et al., *J. Exp. Med.* 2016)。



**図 3. リンパ節におけるリンパ球数と免疫応答の日内変動.** (A)マウスのリンパ節におけるB細胞の数とノルアドレナリンの含有量(交感神経活動の指標。いずれも昼間(8時~20時)に比べて夜間(20時~8時)に高い値をとる。(B)昼間(13時)と夜間(1時)にマウスを免疫し、血清中の抗体価を測定した。交感神経活動の高まる夜間に免疫した方が抗体価の上昇が顕著である。

本研究は、神経系と免疫系の関連性について重要な示唆を与える。多くの動物種にとって、交感神経活動の高まる時間帯は身体活動性の高まりとともに病原体に遭遇するリスクも高まる時間帯である。そのような時間帯に免疫応答をスタートさせる場であるリンパ節にリンパ球が集まり、より強い免疫応答を引き起こす準備ができていているということは、感染防御の観点から非常に理にかなっている。したがって、ここに交感神経によってリンパ球の体内動態が制御されることの生理的意義があると考えられ、それによってもたらされる免疫応答の日内変動は、神経系と免疫系が相互作用しながら進化する過程で編み出された生物の生存戦略の一つであると推測される。また、上記の知見に基づいて、接種時間を選んで感染症ワクチンの効果を高めるといったことが可能になるため、本研究は臨床医学的にも有意義である。

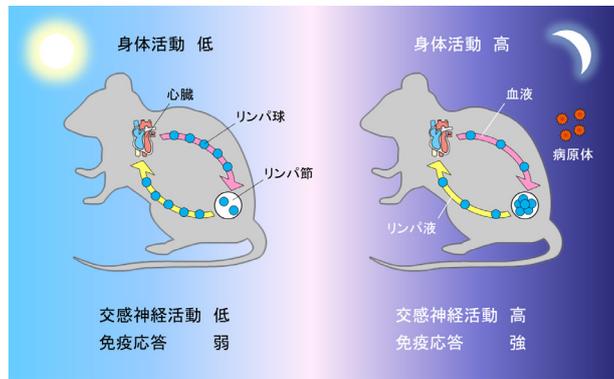


図4. 交感神経による免疫応答の日内変動. 1日のうちで交感神経活動が高まる時間帯には、リンパ球のリンパ節からの脱出が抑制され、リンパ球がリンパ節に蓄積する。この時間帯に免疫を施すと、リンパ節におけるリンパ球数の増加を反映して、交感神経活動が低い時間帯に比べてより強い免疫応答が起こる。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 7 件、すべて査読あり、\*責任筆者)

1. Nakai, A., Fujimoto, J., Miyata, H., Stumm, R., Narazaki, M., Schulz, S., Baba, Y., Kumanogoh, A. and **Suzuki, K.\***. The COMMD3/8 complex determines GRK6 specificity for chemoattractant receptors. *J. Exp. Med.* 2019 *in press*. doi: 10.1084/jem.20181494
2. Nakai, A. and **Suzuki, K.\*** Adrenergic control of lymphocyte trafficking and adaptive immune responses. *Neurochem. Int.* 2019 *in press*. doi: 10.1016/j.neuint.2018.10.017
3. **Suzuki, K.\*** and Nakai, A. Immune modulation by neuronal electric shock waves. *J. Allergy Clin. Immunol.* 141: 2022-2023, 2018. doi: 10.1016/j.jaci.2018.02.027
4. Ise, W., Fujii, K., Shiroguchi, K., Ito, A., Kometani, K., Takeda, K., Kawakami, E., Yamashita, K., **Suzuki, K.**, Okada, T. and Kurosaki, T\*. T Follicular Helper Cell-Germinal Center B Cell Interaction Strength Regulates Entry into Plasma Cell or Recycling Germinal Center Cell Fate. *Immunity* 48: 702-715, 2018. doi: 10.1016/j.immuni.2018.03.027
5. **Suzuki, K.\*** and Nakai, A. Control of lymphocyte trafficking and adaptive immunity by adrenergic nerves. *Clin. Exp. Neuroimmunol.* 8: 15-22, 2017. doi: 10.1111/cen3.12376
6. **Suzuki, K.\***, Hayano, Y., Nakai, A., Furuta, F. and Noda, M. Adrenergic control of the adaptive immune response by diurnal lymphocyte recirculation through lymph nodes. *J. Exp. Med.* 213: 2567-2574, 2016. doi: 10.1084/jem.20160723
7. **Suzuki, K.\*** and Nakai, A. Autonomic control of inflammation. *Clin. Exp. Neuroimmunol.* 7: 10-17, 2016. doi: 10.1111/cen3.12292

〔学会発表〕 (計 30 件)

1. **Suzuki, K.** Overview talk: immuno-neural crosstalk. The 47th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology. Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, Japan, December 10-12, 2018.
2. **Suzuki, K.** Adrenergic nerves control lymphocyte recirculation through lymph nodes. The 17th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji Yumebutai International Conference Center, Awaji, Hyogo, Japan, September 4-7, 2018.
3. **Suzuki, K.** Adrenergic nerves control lymphocyte trafficking and adaptive immune responses. The International Society for Autonomic Neuroscience 2017. WINC Aichi, Nagoya, Aichi, Japan, August 30-September 2, 2017.
4. **Suzuki, K.** Control of lymphocyte trafficking and adaptive immune responses by adrenergic nerves. The 6th NIF Winter School on Advanced Immunology, Grand Copthorne Waterfront Hotel, Singapore, January 22-26, 2017.
5. **Suzuki, K.** Control of lymphocyte trafficking by adrenergic nerves. The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology. Laguna Garden Hotel, Ginowan, Okinawa, Japan, December 5-7, 2016.

6. **Suzuki, K.** Adrenergic control of lymphocyte recirculation through lymph nodes. The 7th IFRcC Symposium “Immunology at the Forefront”, Knowledge Theater at Grand Front Osaka, Osaka, Japan, January 21-22, 2016.
7. **Suzuki, K.** Control of lymphocyte trafficking and inflammation through  $\beta_2$ -adrenergic receptors. The 4th CSI/JSI/KAI Joint Symposium on Immunology, Jinling Guanyuan International Hotel, Suzhou, China, September 20-21, 2015.
8. **Suzuki, K.** Control of lymphocyte dynamics by adrenergic nerves. NCNP Neuroimmunology International Symposium, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, Japan, June 10, 2015.

[図書] (計 1 件)

**Suzuki, K.** Chapter 33: Adrenergic control of lymphocyte dynamics and inflammation. In Chronic Inflammation: Mechanisms and Regulation. M. Miyasaka and K. Takatsu, editors. Springer Japan, KK, Tokyo. 429-439, 2016.

[その他]

大阪大学免疫学フロンティア研究センター 免疫応答ダイナミクス研究室 (鈴木研究室)  
ホームページ : <http://ird.ifrec.osaka-u.ac.jp/>

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。