

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19539

研究課題名（和文）抗体産生細胞が担当する免疫記憶の調節技術の開発

研究課題名（英文）Modulating immunological memory of antibody-producing cells

研究代表者

高井 俊行（TAKAI, Toshiyuki）

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：20187917

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：プラズマセル（PC）を維持する骨髄中のニッチとして間葉系幹細胞（MSC）に着目し、MSCとPCとの共培養系で培養1週間後の抗体産生量を指標とした評価に基づき、MSCに由来するIL-6をはじめとする可溶性因子および未同定のMSCとPCとの直接的相互作用がPCの抗体産生能力に影響を与えることを発見した。この直接作用のひとつとして、PC上の免疫制御レセプターであるLILRB4（B4）とMSC上に新たに発見したB4リガンド（B4L1）が一定の役割を果たしている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自然感染やワクチン接種により得られる終生免疫ないし長期的な免疫の維持機構はよくわかっていない。況や、この免疫記憶の調節技術も開発されていない。免疫記憶の維持が行われている場は主に骨髄と考えられ、骨髄中での抗体産生細胞由来の記憶細胞と骨髄中の細胞の相互作用に着目して得られた本研究成果は抗体産生の維持機構、免疫記憶の機構を理解し、その維持、改変技術の開発に向けた基盤となるもので、よりよいワクチン開発に資するものである。

研究成果の概要（英文）：We established an experimental system composed of culturing murine bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSC) and plasma cells (PC) in vitro and monitoring antibody production levels after the 7-day culture. We found that the antibody production by PC was influenced by IL-6 and other soluble factors secreted by MSC and unidentified direct interaction between MSC and PC. We also suggested that the direct interaction involves binding between an immunoregulatory receptor LILRB4 (B4) on PC and a novel B4 ligand, B4L1, expressed on MSC.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫記憶 免疫寛容・自己免疫 免疫シグナル伝達 炎症 免疫制御・移植免疫

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫応答と免疫寛容の切り替えに関して細胞表面のペア型制御性受容体が果たす役割について特に B 細胞を中心に 20 年に亘り研究してきた。最近、自己免疫疾患を難治化させる、持続的に自己抗体を産生している形質細胞 (PC) での受容体の役割に関する研究にも展開を開始したところ、MHC クラス I レセプター Pir をはじめとする制御性受容体が、PC において発現していることを見出した。これに基づき、長寿命 PC は末梢組織や骨髄などで定着する運命を辿ることから、制御性受容体に対応するリガンドが骨髄細胞、特に間葉系幹細胞 (MSC) をはじめとするニッチ細胞に発現するのかについて調査を開始した。また制御性受容体とそのリガンドとの相互作用により、MSC から放出される可溶性因子が調節されているのかに関する探索を足がかりに、MSC と PC の共存下で抗原特異的な PC を操作し、免疫記憶を調節できる可能性を探ることを発案した。

2. 研究の目的

終生免疫を担う獲得免疫記憶の能力は成人後、加齢に伴って低下することが一般に知られている。免疫記憶は感染やワクチン接種により成立すると考えられるが、長期に亘って記憶が維持される場合もあれば、短期間に記憶が消失する場合もある。この原因となる分子と細胞のメカニズムは十分に理解されていないため、免疫記憶を維持するための技術・方法や、自己反応性やアレルギー疾患などの不都合な記憶を特異的に消去できる方法もない。また、とりわけ我が国のような長寿社会では高齢者の免疫記憶の「劣化」の防止が課題となる。劣化とは、免疫記憶の容量および特異性などの質の低下と、アレルギーや自己免疫などの疾患を誘発するような不都合な記憶の蓄積であると解釈できる。そこで本研究では、長期に抗体産生する免疫記憶リンパ球である長寿命の PC およびそれを維持する骨髄等の組織の微小環境であるニッチを構成する細胞としての役割を持つ可能性を我々が見出した間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell, MSC) に着目し、PC と MSC との共培養系における直接および間接的相互作用の分子実体の同定を基盤に、PC による免疫記憶の調節技術の開発に挑戦することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) PC を維持するニッチとして間葉系細胞、とりわけその幹細胞である MSC に着目して研究を進めた。MSC に由来する、ケモカイン CXCL12 を高発現する CXCL12-abundant reticular cell (CAR) 細胞は、造血幹細胞と血球系細胞の維持と分化を支持する役割が指摘されているが、MSC や CAR と PC との関係性は明らかにされていない。そこで、骨髄細胞からフローサイトメトリー (FCM) により容易に精製できるようになった MSC と PC との共培養系を確立し、培養 1 週間後の抗体産生量、および培地中に遊離されるサイトカインなどの分子の同定と定量を指標とした評価を行った。

(2) 未同定の直接的相互作用に寄与する細胞表面分子の実体を分子生物学的、生化学的手法により同定し、組換えタンパク質、遺伝子導入・欠損細胞により証明することを目指した。とりわけ制御性受容体 LILRB1/B2/B4 などを中心に解析を進めた。我々はすでにこれら受容体分子のノックアウトマウスを作成済みであるため、これらから単離した細胞を用いて解析した。

4. 研究成果

(1) プラズマセル (PC) を維持する骨髄中のニッチとして間葉系幹細胞 (MSC) に着目し、MSC と PC との共培養系で培養 1 週間後の抗体産生量、サイトカイン等の産生量を指標とした評価に基づき、MSC に由来する IL-6 をはじめとする可溶性因子および未同定の MSC と PC との直接的相互作用が PC の抗体産生能力に影響を与えることを発見し (Fig. 1)、論文報告した (Kayaba A et al. *Int Immunol* 2018)。

(2) PC に発現する制御性受容体、とりわけヒト LILRB4 およびそのマウス相同分子とされる gp49B の PC 維持機構における役割の解析に移行した。これにより、LILRB4 / gp49B のリガンドとして新たなタンパク質を同定することに成功し、B4L1 と呼称した。LILRB4 (gp49B) / B4L1 の相互作用が自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス (SLE) における PC の病原性の獲得に重要であることが示唆され、自己免疫、炎症性疾患、がんなどへの関与を示したデータを取得して特許申請を行うとともに、PC の維持と免疫記憶や自己免疫、炎症、がんにおける LILRB4 リガンドの役割が注目される展開となった (Wong YL et al. *Int Immunol* 2019; Sugahara-Tobinai A et al. *Pediatr Infect Dis J.* 2019)。

(3) 予期せぬ結果と新たな知見：免疫制御受容体 LILRB4 はがん免疫にも関係することが示唆されているが、今回の成果では免疫記憶や自己免疫に一定の役割を演じていることが示唆された。米国を中心に B4 ががん免疫に関係することはすでに特許等で押さえられているものの、B4L1 は従来報告のあった B4 のリガンドである ApoE や CD166、Angpt1s とは全く異なる分子であり、これに基づく創薬は十分に新規性があると考えられた。すなわち、今回の成果によりがんと自己免疫を同時に制御できる創薬の可能性や、よりよいワクチン開発につながることで期待された。

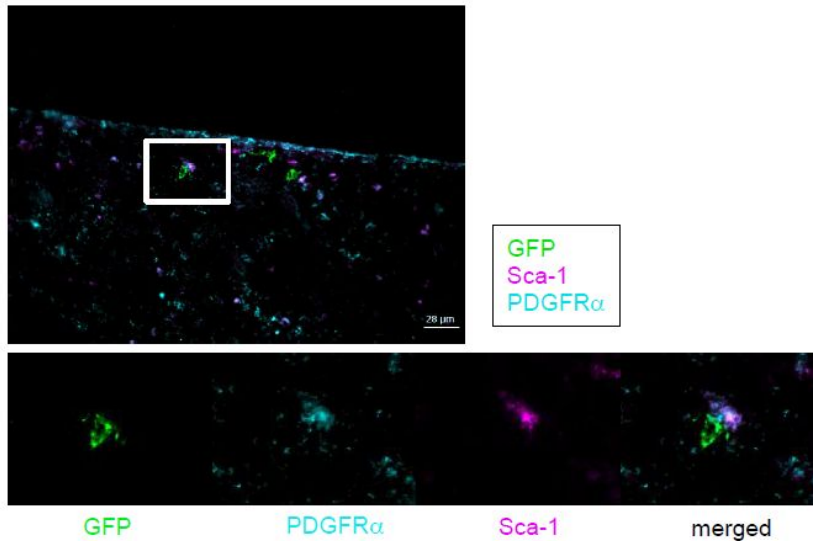


Fig. 1. Mesenchymal stem cells support antibody production by plasma cells

Bone marrow mesenchymal stem cells (BM MSCs) can inhibit functions of T and B cells but can also form niches in which blood cells are maintained. Although several cell types including BM MSCs and molecules including IL-6 are known to support the BM niches in which also long-lived plasma cells (PCs) might produce antibodies, the exact mechanisms remain unclear. Using flow cytometry to isolate PDGFR α ⁺Sca-1⁺ BM MSCs and CD138⁺ PCs, **Kayaba *et al.*** show that, *in vitro*, the MSCs efficiently support survival of PCs and also enhance antibody (IgG and IgM) production. IL-6 is important but other potential factors are identified. *In vitro*, contact between MSCs and PCs is needed for optimal enhancement of antibody production; *in vivo*, a minor population of PCs co-localize with PDGFR α ⁺Sca-1⁺ MSCs (see figure; PCs are GFP⁺). Single cell RNA sequencing shows that the MSCs are a heterogeneous population and four different types can be identified. The authors discuss how these might have different functions in supporting the survival and functions of PCs.

INTIMM-17-0195.R2 Doi: 10.1093/intimm/dxy018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kayaba A, Itoh-Nakadai A, Niibe K, Shirota M, Funayama R, Sugahara-Tobinai A, Wong YL, Inui M1, Nakayama K, Takai T	4. 巻 24;30(6)
2. 論文標題 Bone marrow PDGFR +Sca-1+-enriched mesenchymal stem cells support survival of and antibody production by plasma cells in vitro through IL-6.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int Immunol	6. 最初と最後の頁 241-253
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxy018.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sugahara-Tobinai A, Inui M, Metoki T, Watanabe Y, Onuma R, Takai T, Kumaki S.	4. 巻 38(4)
2. 論文標題 Augmented ILT3/LILRB4 Expression of Peripheral Blood Antibody Secreting Cells in the Acute Phase of Kawasaki Disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatr Infect Dis J	6. 最初と最後の頁 431-438
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/INF.0000000000002259.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Wong YL, Su MT, Sugahara-Tobinai A, Itoi S, Kezuka D, Endo S, Inui M, Takai T.	4. 巻 21;31(6)
2. 論文標題 Gp49B is a pathogenic marker for auto-antibody-producing plasma cells in lupus-prone BXSB/Yaa mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int Immunol	6. 最初と最後の頁 397-406
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxz017.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 免疫チェックポイントB4-B4リガンド（B4L1）阻害剤，以下成立前につき略。	発明者 高井俊行，乾 匡 範，蘇 美慈，遠藤 章太	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-148423	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

ホームページ： <http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/expimmu/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	乾 匡範 (Inui Masanori)		
研究協力者	伊藤 亜里 (Itoh-Nakadai Ari)		
研究協力者	萱場 敦子 (Kayaba Atsuko)		
研究協力者	飛内 章子 (Sugahara-Tobinai Akiko)		