

令和 3 年 5 月 7 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02626

研究課題名(和文) I型インターフェロンが誘導するB細胞機能の二面性と自己免疫疾患病態の理解

研究課題名(英文) Dual roles of type I interferon-activated B cells and the effect on autoimmunity

研究代表者

馬場 義裕 (Baba, Yoshihiro)

九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究者番号：20415269

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：I型インターフェロン(IFN-I)が、自己免疫疾患に対して病態の増悪と抑制の二面性を持つことが知られるが、その分子機序は不明である。本研究では、IFN-Iに対するB細胞応答を検証することで、その疑問にアドレスした。その結果、ヒトB細胞がIFN-Iの刺激でIL-10を産生するプラズマブラストを誘導することを見出し、その性状を明らかにした。また、このIL-10産生B細胞がT細胞増殖を抑制することを示した。マウスB細胞において、TLRアゴニストによるプラズマ細胞分化の仕組みは不明な点が多いが、IFN-Iが協調して働くIL-10産生と非産生プラズマ細胞分化シグナルの存在を示唆する知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会を迎えた先進国では自己免疫患者数の増加が大きな問題となっているが、その発症原因は不明であり、治療法も限定的である。制御性B細胞の分化がIFNで誘導されるという知見は、自己免疫疾患を抑制するB細胞を増幅させて治療に用いる方法に重要な情報となると考えられる。また、TLRアゴニストとIFN-Iのクロストークにより、自己免疫を増悪する抗体産生プラズマブラストから抑制するプラズマブラストへ分化の方向性を制御する可能性を示唆しており、プラズマ細胞分化の新規分子機構となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Although type I interferon (IFN-I) is known to have the dual role of exacerbation and suppression of autoimmune diseases, its underlying molecular mechanism remain unclear. In this study, we addressed the issue by examining the B cell response to IFN-I. We showed that human B cells give rise to IL-10-producing plasmablasts by stimulating IFN-I, and revealed its properties. Furthermore, we found that the IL-10 plasmablasts inhibit T cell proliferation. We also showed that murine B cells respond to TLR agonists and IFN-I synergistically and cooperately to differentiate into IL-10-producing and non-producing plasmablasts.

研究分野：免疫学

キーワード：B細胞 インターフェロン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自己免疫疾患において、B細胞は自己抗体や炎症性サイトカイン産生により病態を悪化させることが広く知られている。興味深いことに、全てのB細胞が免疫反応を亢進するわけではなく、負に制御する、つまり、自己免疫病を抑制するB細胞(制御性B細胞)が同定され、B細胞の新たな機能として非常に注目されている。特に、抗炎症性サイトカイン IL-10 を産生するB細胞は、様々な自己免疫病を抑制することが示されているが、その分化機序や病態への関与は不明な点が多い(文献1)。

I型インターフェロン(IFN α およびIFN β)が自己免疫疾患病態と深い関わりがあることが示されているが、自己免疫疾患の種類によって、I型IFNの作用が多様であることも知られている(文献2)。全身性エリテマトーデス(SLE)をはじめとする自己免疫疾患ならびにそのマウスモデルでは、I型インターフェロンは病態を増悪化させる因子として考えられており、実際SLEでは抗IFN抗体の臨床応用が行われている。また、I型IFN製剤投与により、様々な自己免疫現象、例えば、慢性関節リウマチ、SLE、溶血性貧血、自己免疫性肝炎、糖尿病の発症との関連が疑われている。一方で多発性硬化症や重症筋無力症ではI型IFN製剤が再発予防薬として使用されており、I型インターフェロンは自己免疫疾患によって「増悪」と「抑制」の相反する作用を示す。しかし、その現象を支えるメカニズムは不明であり、解明が期待されている。このように、I型インターフェロンが、自己免疫疾患に対して病態の増悪と抑制の二面性を持つことが知られ、自己免疫疾患の種類によって異なるが、その機序は不明である。そこで、本研究では、I型インターフェロンに対するB細胞応答を検証することで、増悪と抑制のB細胞機能のバランス変化が病態に及ぼす影響を検討した。

2. 研究の目的

我々は、「プラズマブラスト」と呼ばれるB細胞サブセットがIL-10産生B細胞の実体であること、ならびに、I型インターフェロンがヒトIL-10産生制御性プラズマブラストの誘導に必須であることを発見している(文献3)。一般的に、プラズマブラストは自己抗体や炎症性サイトカインの分泌により、自己免疫を増悪させることから、自己免疫疾患に対するI型インターフェロン作用の多様性の謎を解く糸口となる可能性がある。そこで、本研究では、I型IFNで誘導されるプラズマブラストの性状とその分子機序の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウスB細胞の分化誘導

C57B6/Jマウス、Blimp1-GFP、IL-10-Venus、IFN受容体欠損マウスからB細胞をCD43ビーズによりnegative selectionで単離した。各種刺激物とサイトカインによりB細胞を培養し、数日後、フローサイトメトリーにてB細胞分化とサイトカイン産生を調べた。抗体産生はELISA法およびELISPOT法により検査した。

(2) ヒト末梢血からの細胞分離と培養

T細胞増殖は静脈血をフィコール分離し、単核球のみを単離し、-80度で凍結保存した。単核球を解凍し、CD19MACSビーズのpositive selectionによりヒトB細胞を単離した。精度はフローサイトメトリーにより90%以上であることを確認し、培養実験に用いた。プラズマブラストへの誘導には、IL-2、IL-6、CpG、I型インターフェロン(IFN- α)で刺激し、3-4日後にフローサイトメトリーにて解析した。T細胞はMACSのnegative selectionで単離した。T細胞の増殖は、CFSEで標識したT細胞を末梢血由来抗原提示細胞と抗CD3抗体の存在下で培養し、CFSEの希釈を指標にフローサイトメトリーで解析した。

(3) サイトカイン産生

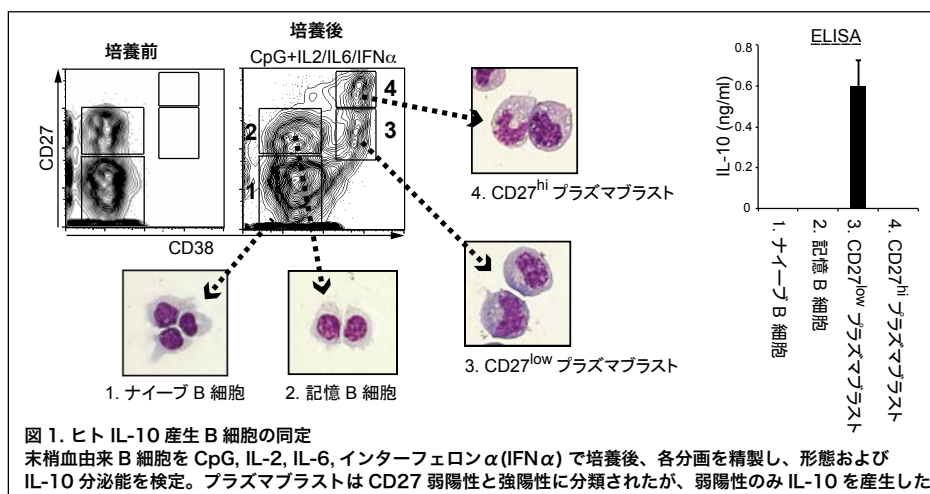
IL-10産生は細胞内染色、または、MACSのIL-10産生検出キットを用いて検証した。IL-10の分泌はELISA法により解析した。

4. 研究成果

(1) I型IFN誘導性ヒトプラズマブラストの性状解析と分化機序の解明

ヒト末梢血由来B細胞をin vitroの刺激(IL-2、IL-6、CpG、IFN- α)でプラズマブラストが誘導され、そのなかのCD27^{low}CD38⁺分画が特異的にIL-10を産生することを世界に先駆けて発見している(図1)。一方、IFN- α なしのIL-2、IL-6、CpG刺激でもプラズマブラストが分化誘導するが、IL-10を産生しないことがわかった。しかし、PMAとイオノマイシン刺激においてはIL-10が検出されることから、IL-10産生能力を有していると考えられる。IL-2、IL-6、CpG、IFN- α で誘導されるプラズマブラストの表現系を詳細に解析したところ、IgM+CD27^{low}CD38⁺であり、IgGのクラススイッチしていない集団であることが示唆された。また、IFN-betaにおいても同様の結果を得た。さらに、独自に樹立したストローマ細胞株で共培

養でも IL-2, IL-6, CpG, IFN- α 条件下で同様の IL-10 産生 B 細胞集団が誘導された。液体培養では細胞数の増加はみとめられなかったが、ストローマとの共培養では、大幅に増殖することがわかった。さらに、分化誘導した B 細胞と末梢血由来 T 細胞と共存下で、抗 CD3 抗体による T 細胞増殖を調べると、培養 B 細胞が T 細胞増殖を抑制することが判明した。



(2) I 型 IFN のマウスプラズマブラスト誘導メカニズム

野生型マウスから単離した B 細胞を IFN- α 刺激しても B 細胞は増殖もせず、プラズマブラストへの分化も誘導しないが、別の刺激物と共刺激すると IFN- α により、強力にプラズマブラストへ分化誘導させることを見出した。実際、Blimp1-GFP マウスを利用することにより、Blimp1 の発現上昇がみられた。さらに、培養後、ELISA および ELISPOT 法により抗体産生が検出された。この作用は IFN レセプター欠損マウス B 細胞ではみられないことから、IFN による直接的効果であると考えられる。以上の結果は、シグナルのクロストークの存在を強く示唆しており、現在、その分子メカニズムの解明に当たっている。

(3) マウスおよびヒト「前駆」制御性 B 細胞の同定

ヒト末梢血 B 細胞は様々な細胞サブセットが混在している。その中でも CD24+CD27-CD38^{low} ナイブ未熟 B 細胞が効率的に IL-10 産生プラズマブラストに分化することがわかった。

マウス脾臓 B 細胞を CD19+CD21+CD23+濾胞性 B 細胞、CD19+CD21^{hi}CD23^{low} 辺縁帯 B 細胞、CD19+CD21-CD23-で上記(2)の実験を行ったところ、サブセットにより IFN の反応性が違うことが判明し、プラズマブラスト分化能に影響することがわかった。

高齢化社会を迎えた先進国では自己免疫患者数の増加が大きな問題となっているが、その発症原因は不明であり、治療法も限定的である。制御性 B 細胞の分化が IFN で誘導されるという知見は、自己免疫疾患を抑制する B 細胞を増幅させて治療に用いる方法に重要な情報となると考えられる。また、TLR アゴニストと IFN-I のクロストークにより、自己免疫を増悪する抗体産生プラズマブラストから抑制するプラズマブラストへ分化の方向性を制御する可能性を示唆しており、プラズマ細胞分化の新規分子機構となることが期待される。

<引用文献>

1. Baba, Y., Matsumoto, M. & Kurosaki, T. Signals controlling the development and activity of regulatory B-lineage cells. *Int Immunol* 27, 487-493 (2015).
2. Cho, H. & Kelsall, B. L. The role of type I interferons in intestinal infection, homeostasis, and inflammation. *Immunol Rev* 260, 145-167 (2014).
3. Matsumoto M, Baba A, Yokota T, Nishikawa H, Ohkawa Y, Kayama H, Kallies A, Nutt SL, Sakaguchi S, Takeda K, Kurosaki T & Baba Y. Interleukin-10-producing plasmablasts exert regulatory function in autoimmune inflammation. *Immunity* 41, 1040-1051 (2014).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yasuda T, Saito Y, Ono C, Kawata K, Baba A, Baba Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Generation and characterization of CD19-iCre mice as a tool for efficient and specific conditional gene targeting in B cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 5524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-84786-6.	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 Tanaka S, Ise W, Inoue T, Ito A, Ono C, Shima Y, Sakakibara S, Nakayama M, Fujii K, Miura I, Sharif J, Koseki H, Koni PA, Raman I, Li QZ, Kubo M, Fujiki K, Nakato R, Shirahige K, Araki H, Miura F, Ito T, Kawakami E, Baba Y, Kurosaki T.	4. 巻 21
2. 論文標題 Tet2 and Tet3 in B cells are required to repress CD86 and prevent autoimmunity.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nat. Immunol.	6. 最初と最後の頁 950-961
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41590-020-0700-y.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sakaguchi T, Okumura R, Ono C, Okuzaki D, Kawai T, Okochi Y, Tanimura N, Murakami M, Kayama H, Umemoto E, Kioka H, Ohtani T, Sakata Y, Miyake K, Okamura Y, Baba Y, Takeda K.	4. 巻 31
2. 論文標題 TRPM5 Negatively Regulates Calcium-Dependent Responses in Lipopolysaccharide-Stimulated B Lymphocytes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 107755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.107755.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka S, Baba Y.	4. 巻 1254
2. 論文標題 B Cell Receptor Signaling.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Adv. Exp. Med. Biol.	6. 最初と最後の頁 23-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-15-3532-1_2.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Baba Y, Saito Y, Kotetsu Y.	4. 巻 32
2. 論文標題 Heterogeneous subsets of B-lineage regulatory cells (Breg cells).	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int. Immunol.	6. 最初と最後の頁 155-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz068.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Usui R, Yabe D, Fauzi M, Goto H, Botagarova A, Tokumoto S, Tatsuoka H, Tahara	4. 巻 9
2. 論文標題 GPR40 activation initiates store-operated Ca(2+) entry and potentiates	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 15562
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-52048-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakai A, Fujimoto J, Miyata H, Stumm R, Narazaki M, Schulz S, Baba Y, Kumanogoh A, Suzuki K.	4. 巻 216
2. 論文標題 The COMMD3/8 complex determines GRK6 specificity for	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Exp. Med.	6. 最初と最後の頁 1630-1647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20181494.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 齋藤雄一, 馬場義裕	4. 巻 68
2. 論文標題 アレルギー発症と制御におけるB細胞の役割	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 アレルギー	6. 最初と最後の頁 661-667
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15036/arerugi.68.661.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo Y, Higa S, Iwasaki T, Matsumoto T, Maehara K, Harada A, Baba Y, Fujita M, Ohkawa Y.	4. 巻 13
2. 論文標題 Sensitive detection of fluorescence in western blotting by merging images.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0191532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0191532.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 馬場義裕
2. 発表標題 B細胞の免疫応答制御機構
3. 学会等名 第16回皮膚免疫疾患研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 馬場義裕
2. 発表標題 B細胞による自己免疫疾患制御
3. 学会等名 免疫と神経疾患オンラインセミナー (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 馬場義裕
2. 発表標題 B細胞はどのようにして免疫応答を制御するのか
3. 学会等名 第93回染色体工学研究センターセミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 馬場義裕
2. 発表標題 B細胞の免疫応答制御機構
3. 学会等名 がん免疫セミナー(千葉)(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 馬場義裕
2. 発表標題 B細胞の免疫応答制御機構
3. 学会等名 がん免疫セミナー(東京)(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 馬場義裕
2. 発表標題 免疫反応を抑制するB細胞
3. 学会等名 第18回レジェンドセミナー(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ono C, Kochi Y, Tanaka S, Yamamoto K, Baba Y.
2. 発表標題 Role of Fcrl5 in B cell immune response and peripheral tolerance
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanaka S, Ise W, Kurosaki T, Baba Y.
2. 発表標題 Ten-eleven translocation (Tet) in B cells prevent autoimmunity
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hatano S, Tun X, Matsumoto M, Baba Y, Yoshikai Y.
2. 発表標題 Development of IL-17A+ V β 6 T cells in mouse thymus
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 馬場義裕
2. 発表標題 Humoral immunity and diseases
3. 学会等名 第47回日本免疫学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 馬場義裕
2. 発表標題 B細胞による炎症制御機構
3. 学会等名 第9回中国免疫不全症研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 馬場義裕	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 9
3. 書名 「B細胞分化」標準免疫学	

1. 著者名 川上亮、馬場義裕	4. 発行年 2018年
2. 出版社 先端医学社 炎症と免疫	5. 総ページ数 86-91
3. 書名 制御性B細胞と疾患	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------