

令和 4 年 6 月 18 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07618

研究課題名(和文) IgG陽性記憶B細胞の新規な選択機構と制御機構の解明

研究課題名(英文) Analyses on novel selection and regulatory mechanisms of IgG-positive memory B cells

研究代表者

疋田 正喜 (HIKIDA, Masaki)

秋田大学・理工学研究科・教授

研究者番号：60228715

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに、未解明の点が多く残されている記憶B細胞の機能制御を目指して網羅的な解析を行った結果、IgG陽性B細胞で選択的に発現しているParm1を見いだしている。本研究では、Parm1の機能検索を行った結果、Parm1は、抗原受容体シグナルを負に調節していることが明らかとなった。さらに、Parm1をノックアウトしたIgG陽性Bリンパ腫において、アポトーシスを制御するbcl-2ファミリーの抗原受容体シグナル依存性の発現が上昇していることが明らかとなった。これらの結果から、Parm1が抗原受容体シグナルによる記憶B細胞の生死の決定に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種々のワクチンが作用を發揮するために非常に重要な役割を果たしている記憶B細胞の機能制御機構には、未だに不明な点が多く残されている。また、記憶B細胞が異常に活性化することで、ある種の自己免疫疾患が引き起こされることも知られている。一方で、ワクチンなどによって誘導される適切な強度の記憶応答が、自己免疫疾患などを引き起こさない仕組みは全く不明である。本研究の成果は、記憶B細胞の異常な活性化を抑制する分子を見いだした非常に重要な研究である。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to reveal still unknown regulatory mechanisms of memory B cells. As the result of comprehensive screening, we found a signaling molecule Parm1, which selectively expresses in IgG positive B cells. In this study, we found that physiological function of Parm1 is a negative regulator of BCR signal. In addition, it was also found that expression levels of bcl-2 family molecules, which regulates BCR-mediated apoptosis, were up regulated. These results suggests that Parm1 plays an essential role in the live/dead fate decision of memory B cells by BCR signaling.

研究分野：免疫学

キーワード：記憶B細胞 免疫応答 自己免疫疾患 アポトーシス 抗体産生 抗原受容体

## 1. 研究開始当初の背景

多くの自己免疫疾患において、IgG 陽性の記憶 B 細胞が自己抗体を産生し病態形成に重要な役割を果たしていることが知られている。一方で、なぜ、自己反応性の IgG 陽性 B 細胞が末梢に生成されてしまうのか、また、そのような細胞がどのように活性化されるのか、という大きな問題は未解決のまま残されている。自己免疫疾患の根治療法開発を目指す上で、これらの疾患の病態形成メカニズムを明らかにすることは非常に重要であると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究においては、IgG 陽性 B 細胞で選択的に発現している分子である Parm1 の生理学的な役割を明らかにすることで、記憶 B 細胞の活性化や生死の運命決定がどのような分子機構で行われているのかという問題を明らかにすることを目指す。

## 3. 研究の方法

本研究においては、IgG2a 陽性 B リンパ腫である A20 細胞の Parm1 遺伝子を遺伝子編集法により破壊した細胞を使用して抗原受容体シグナルが野生型 A20 シグナルとどのように変化しているのかをシグナル分子群のリン酸化を指標に明らかにした。また、Parm1 ノックアウトマウスを用いて、通常の記憶応答における Parm1 の役割を明らかにした。

## 4. 研究成果

本研究では、IgG 陽性 B 細胞で選択的に発現していることが既に明らかとなっている Parm1 の生理的機能の検索を行った。その結果、Parm1 欠損 A20 細胞においては、BCR 刺激による PLC $\gamma$ 2 や Erk1、2 といったシグナル分子群のチロシンリン酸化が亢進していたことから、Parm1 は、PLC $\gamma$ 2 を介する抗原受容体シグナルを負に調節していることが明らかとなった。BCR 刺激によって誘導されるカルシウム応答も亢進していたことから、PLC $\gamma$ 2 の活性化が亢進していることが確かめられた。一方で、Akt を介して活性化するシグナル分子群のリン酸化には影響を与えていないことも明らかとなった。これまで、記憶 B 細胞でのみ発現しているシグナル調節分子は見いだされていないことから Parm1 は非常に新規性の高い分子であることが明らかとなった。

さらに、Parm1 をノックアウトした IgG 陽性 B リンパ腫である A20 細胞において、BCR の強架橋によってアポトーシスを誘導することを試みた。その結果、野生型 A20 細胞同様、Parm1 欠損 A20 細胞においてもアポトーシスの誘導は確認できなかった。しかし、アポトーシスの惹起に重要な役割を果たしていることが知られている bcl-2 ファミリー分子の一つである Bim の発現誘導について検討を加えた結果、野生型 A20 細胞において BCR 架橋で誘導される Bim の発現が Parm1 欠損 A20 細胞において有意に亢進していることが明らかとなった。この結果は、Parm1 が BCR シグナルを負に調節することで、抗原受容体の架橋によって誘導される記憶 B 細胞の細胞死を制御している可能性を示している。

加えて、C57BL/6 の遺伝背景を持つ Parm1 欠損マウスを NZB マウスに9世代バッククロスを行い自己免疫疾患に Parm1 が与える影響を検討した。その結果、有意差はないものの、自己抗体の産生が亢進する傾向が確認された。このことは、Parm1 による負の制御が通常免疫応答のみならず、自己抗体の産生調節にも関与していることを示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sugimoto-Ishige Akiko, Harada Michishige, Tanaka Miho, Terooatea Tommy, Adachi Yu, Takahashi Yoshimasa, Tanaka Takashi, Burrows Peter D, Hikida Masaki, Takemori Toshitada	4. 巻 33
2. 論文標題 Bim establishes the B-cell repertoire from early to late in the immune response	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 79~90
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxaa060	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

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Sayaka Fukushima, Mizuki Ishikawa, Kagefumi Todo, Haruka Honda and Masaki Hikida
2. 発表標題 Augmentation of auto-antibody production in Parm1-deficient NZB mice
3. 学会等名 日本免疫学会 学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------