

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 30 日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：平成 22 年度～平成 23 年度

課題番号：22791099

研究課題名(和文) 新規の制御性 B 細胞分画の同定と皮膚免疫疾患への関与のメカニズムについての検討

研究課題名(英文) Contribution to cutaneous immunological diseases by new regulatory B cells

研究代表者

中島 広子 (NAKASHIMA HIROKO)

国立国際医療研究センター皮膚科 医師

研究者番号：30549910

研究成果の概要(和文)：CD22欠損マウスでは接触皮膚炎のモデルである接触過敏反応(CHS)が遷延する。この遷延は、CD22を欠損する腹腔内B-1a細胞のリンパ組織での生存、保持、移動が劣るためと考えられた。CD19欠損マウスでもCHSが増悪するため両者を比較したところ、CHSの惹起相はさらに急性期と回復期に分けられ、腹腔内B-1a細胞は回復期で抑制的に作用していることが判明した。

研究成果の概要(英文)：CD22^{-/-} mice showed delayed recovery from CHS reactions compared with wild type mice. Our current study reveals a defect in survival or retention in activated CD22^{-/-} peritoneal B-1 cells and a regulatory role of peritoneal B-1a cells in CHS. Comparing with CHS in CD19^{-/-} mice revealed that peritoneal B-1a cells are likely to suppress the late remission phase as “regulatory B cells”. CD22 deficiency results in disturbed CHS remission by impaired retention or survival of peritoneal B-1a cells that migrate into lymphoid organs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 22 年度	1,500,000 円	450,000 円	1,950,000 円
平成 23 年度	1,300,000 円	390,000 円	1,690,000 円
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000 円	840,000 円	3,640,000 円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 皮膚科学

キーワード：CD22 制御性 B 細胞 接触皮膚炎

1. 研究開始当初の背景

近年様々な免疫反応で B 細胞の抑制性のサブセットが明らかになってきている。接触過敏反応などの炎症性疾患を通して、すでに脾臓 CD5⁺CD1d^{hi}B 細胞などの制御性 B 細胞分画が報告されている。B 細胞の抑制性受容体 CD22 を欠損するマウスでの DNFB による接触過敏反応を観察したところ、野生型に比して遷延することが判明した。しかし、既知の制御性 B 細胞分画脾臓 CD5⁺CD1d^{hi}B 細胞は、野生型と差がな

かった。従って、CD22 欠損マウスでの接触過敏反応の遷延は新たな制御性 B 細胞分画の異常による可能性があると考え、本研究を計画した。

2. 研究の目的

本研究の目的は新規の制御性 B 細胞分画を同定することである。また、CD22 欠損マウスを通して新規制御性 B 細胞を研究するうえで、CD22 分子が制御性 B 細胞に与える影響も明確になると考える。より specific な分画を制御することが可能になれば、皮膚免疫疾患に対しより有効性が

高く副作用やリスクの少ない治療の開発に有用であると考え。

3. 研究の方法

(1)CD22 欠損マウスで、制御性 T 細胞分画や既知の制御性 B 細胞である脾臓 CD5⁺CD1d^{hi}B 細胞の IL-10 などのサイトカイン産生能が野生型マウスに比してどのようになっているか、定量的 RT-PCR や細胞内染色、フローサイトメトリーを用いて検討した。

(2)感作したドナーマウスから未感作のレシピエントマウスに感作リンパ節細胞を移入し、レシピエントマウスを惹起する移入実験を行った。ドナーマウスとレシピエントマウスを CD22 の有無で様々に組み合わせることで、CD22 欠損マウスでの障害が感作と惹起のどちらの相にあるのかが明らかになる。

(3)未感作の CD22 欠損マウスに惹起前に野生型マウスの様々なリンパ球分画 (T 細胞・B 細胞、脾臓細胞、リンパ節細胞、腹腔内細胞、など) を移入することで、本来遷延する接触過敏反応がどのように変化するかを検討した。移入することで正常化するような分画がある場合、これが責任細胞分画であると考えられる。

(4) 接触過敏反応に際しての責任細胞分画に数的な変化が生じるかどうかをフローサイトメトリーで検討した。また、野生型分画と比してサイトカイン産生能に差がないかどうかを、定量的 RT-PCR を用いて検討した。

(5)各々染色した野生型/CD22 欠損マウスリンパ球を移入したマウスで接触過敏反応を起こすことで、フローサイトメトリーなどを用いて各相でのリンパ組織への分布について検討した。

(6) CD22 欠損マウスと CD19 欠損マウスはいずれも接触過敏反応が増悪する。これらの責任細胞分画に同じものが含まれるかどうかを、CD22 欠損マウスと CD19 欠損マウス間での移入実験を行い検討した。

4. 研究成果

(1) CD22 欠損マウスでは既知の制御性 B 細胞分画の数、分布に問題がなく、新規の分画の存在が想定された。

(2)塗布後 2 日では CD22 欠損マウスが recipient の場合も、接触過敏反応は野生型と同様に惹起された。しかし、惹起後 10 日では野生型では反応がほぼ収束しているのに対し、recipient が CD22 欠損マウスの場合は耳介腫脹が持続していた。同様に、感作した CD22 欠損マウスの鼠径リンパ節細胞を未感作の野生型、CD22 欠損マウスに移入した実験系でも、CD22 欠損マウスが recipient の場合は耳介腫脹は持続していた。donor 細胞が CD22 欠損マウスのリンパ節細胞の場合は、耳介腫脹の程度、回復ともに有意差を認めなかった。

T 細胞のみを単離して移入した場合には、全細胞を移入した場合とほぼ同等の接触過敏反応が誘導された。一方、B 細胞単独を未感作マウスに移入しても接触過敏反応は誘導されなかった。つまり、感作されたリンパ節 T 細胞があれば野生型由来でも CD22 欠損マウス由来でも未感作マウスに移入後惹起して反応を成立させることができること、recipient マウスにおける CD22 発現が、接触過敏反応の正常な収束に必要な必要であることが示唆された。

(3)CD22 欠損マウスでの接触過敏反応の遷延は、野生型腹腔内 B-1a 細胞の移入により正常化された。この正常化は抗 IL-10 受容体抗体の同時注射でブロックされ、IL-10 を介していると考えられた。

(4) CD22 欠損マウスでも、野生型マウスでも、惹起後 2 日では IL-10 産生能が亢進していた。CD22 欠損マウスと野生型マウスの間では感作前、惹起後いずれも腹腔内 B 細胞の IL-10 産生に有意な差はなかった。以上より、CD22 欠損マウスの腹腔内 B 細胞による IL-10 産生は、惹起後野生型と同等に亢進することがわかった。

(5)移入する前の野生型由来 B 細胞/CD22 欠損マウス由来 B 細胞の割合を R_o とし、惹起 1 日後もしくは 5 日後に脾臓もしくはリンパ節から得られた野生型由来 B 細胞/CD22 欠損マウス由来 B 細胞の割合を R_i とした。さらに、 R_i/R_o で脾臓、リンパ節への遊走能を比較した。惹起後 1 日では、 R_i/R_o は脾臓でもリンパ節細胞でもほぼ 1.0 であり、野生型マウス由来 B 細胞と CD22 欠損マウス由来 B 細胞の数に差はないと考えられた。ところが、惹起後 5 日の R_i/R_o は spleen で平均 1.58、リンパ節で平均 1.76 と 1.0 を大きく上回った。すなわち、野生型マウス由来の B 細胞がより多く存在しているということであり、CD22 欠損マウスでは野生型マウスに比してリンパ組織への遊走能、あるいはリンパ組織での生存能が障害されている可能性が示唆された。

(6) いずれの B-1a 細胞を移入した場合も、未処置の野生型マウスにくらべて惹起後 2 日の時点では耳介腫脹反応の増悪が見られた。野生型マウスの腹腔内 B-1a 細胞を移入したものでは惹起後 10 日の時点で、ほぼ未処置の野生型と同等に反応から回復していた。しかし、CD22 欠損マウスの腹腔内 B-1a 細胞を移入した CD19 欠損マウスでは、惹起後 10 日の時点で、耳介腫脹は持続したままであった。つまり、野生型腹腔内 B-1a 細胞は、CD19 欠損マウスにおいても耳介腫脹反応からの回復を促進するが、急性期の耳介腫脹反応を改善することはできないことがわかった。また、CD22 欠損マウスの腹腔内 B-1a 細胞では、この作用が障害さ

れていることがわかった。
以上より、制御性 B 細胞には複数のサブセットが存在し、それぞれが異なる時期に作用することで反応の抑制や収束に関わっていると考えられた。

5. 主な発表論文等

(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 2 件)

- ① Hiroko Nakashima, Yasuhito Hamaguchi
ほか 9 名 CD22 expression mediates the regulatory functions of peritoneal B-1a cells during the remission phase of contact hypersensitivity reactions, The Journal of Immunology, 査読有, 2011 年, 184 巻 4637-4645 頁
- ② 中島 広子, B 細胞と接触過敏反応, 皮膚病診療, 査読無, 2011 年, 33 巻 7 号, 680-685 頁

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 広子 (NAKASHIMA HIROKO)

国立国際医療研究センター皮膚科 医師

研究者番号：30549910

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：

