

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15497

研究課題名（和文）新規加齢性B細胞サブセットの解析による免疫老化メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the immunosenescence mechanism by analysis of novel age-associated B cell subsets

研究代表者

畑野 晋也（Hatano, Shinya）

九州大学・生体防御医学研究所・助教

研究者番号：90834929

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：申請者は、老化マウスB細胞にて高く発現する新たな加齢性B細胞マーカー候補遺伝子X（未発表のためXとする）を同定しており、B細胞におけるXの機能解析を試みた。若齢マウス脾臓のB細胞をin vitroにて加齢性B細胞誘導刺激を行った結果、加齢性B細胞誘導と共にXの発現が確認された。そこで、遺伝子X欠損マウスの脾臓B細胞において加齢性B細胞誘導刺激を行った結果、野生型マウスと比較して加齢性B細胞誘導の減少が観察された。また、遺伝子X欠損加齢マウスの脾臓B細胞を解析した結果、加齢性B細胞数が野生型加齢マウスと比較して減少した。以上の結果から、Xは加齢性B細胞分化誘導に関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、加齢によりB細胞にて発現するXは新規加齢性B細胞マーカーとなる可能性を示し、Xは加齢性B細胞誘導に関与することが示唆された。本研究成果は、加齢性B細胞の機能や性状の詳細な解明への貢献、そして老化による免疫低下を引き起こす機序をB細胞の視点からの解明に寄与することが示唆され、次世代ワクチンの開発や炎症疾患の新規診断と治療法開発につながる可能性を有しており、超高齢化社会における健康寿命の延長に貢献できることが期待される。

研究成果の概要（英文）：I has identified a new age-associated B cell marker candidate gene X (referred to as X as it has not been published) that is highly expressed in aging mouse B cells, and attempted to analyze the function of X in B cells. young mouse spleen B cells were stimulated with Aging B cell induction stimulation in vitro. As a result the expression of X was confirmed along with induction of age-associated B cells. Next, the splenic B cells of gene X-deficient mice were stimulated with Aging B cell induction stimulation in vitro, I found the decrease in age-associated B cell induction was observed compared to wild-type mice. Furthermore, analysis of splenic B cells from gene X-deficient aged mice showed that the number of age-associated B cells decreased compared to wild-type aged mice. These results suggest that X is involved in the induction of age-associated B cell differentiation.

研究分野：免疫学

キーワード：B細胞 加齢性B細胞 自己免疫疾患 液性免疫老化

1. 研究開始当初の背景

先進国では高齢化社会を迎え、医療の面において大きな社会問題となっている。なかでも、老化に伴う免疫機能低下による感染防御力の低下やワクチンの非効率化、炎症の遷延化の解決が急務である。液性免疫の要となるB細胞が感染防御や免疫調節、サイトカイン産生に関与することは知られているが、免疫老化や炎症増悪への関与は未解決課題として残されている。しかし、加齢に伴う免疫機能低下への影響に関しては全く手付かずの状態である。近年、加齢に伴い増加する特殊なB細胞サブセットとして、加齢性B細胞(Age-associated B cells; ABCs)が報告され、自己免疫疾患との関係が世界中で注目されている。しかし、加齢性B細胞サブセットを規定するマーカーは詳細に同定されておらず、そのため加齢性B細胞の機能や性状は不明である。また加齢性B細胞が老化による液性免疫低下にどのように関与するのか、十分な理解は進んでいない(図1)。

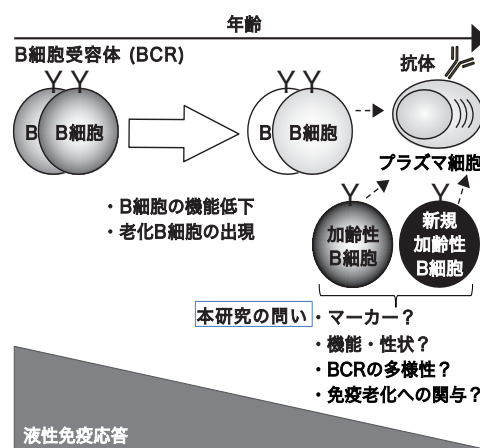


図1. 加齢に伴うB細胞と液性免疫変化のモデル

2. 研究の目的

老化による免疫低下を引き起こす機序をB細胞の視点から解明することを目的とする。加齢性B細胞サブセットを規定するマーカーは未だに未同定であり、そのため加齢性B細胞の詳細な機能や性状は十分に解明されていない。そのため、老化に伴って増加するB細胞をさらにB細胞の寿命に着目することで加齢性B細胞サブセットを規定するマーカーを同定し、その機能や性状、の詳細を明らかにすることを目指す。本成果は、次世代ワクチンの開発や炎症疾患の新規診断と治療法開発につながる可能性を有しており、超高齢化社会における健康寿命の延長に貢献できることが期待される

3. 研究の方法

(1) 新規加齢性(X陽性)B細胞サブセットの同定

申請者は網羅的遺伝子発現解析により、若齢マウスの脾臓のB細胞(8週齢マウスのB細胞)と比較して老化長寿B細胞(1年以上生存している長寿B細胞)にて発現が高い複数の遺伝子の同定に成功している。そのなかから、遺伝子X(未発表のためここでは遺伝子Xとする)に着目する。遺伝子Xは本来B細胞には発現しないとされており、炎症に関するシグナル伝達を制御する可能性があるためである。また、現在までに老化個体のB細胞研究において遺伝子Xに着目して研究された報告が存在しないことから、加齢性B細胞における遺伝子Xの機能を調べることは、加齢性B細胞の機能解明や液性免疫低下の仕組みの理解につながる可能性がある。

申請者はタンパク質レベルの発現をフローサイトメトリーによって解析し、遺伝子Xが規定するタンパク質Xは老化マウスのB細胞特異的に発現することを確認している(図2、未発表)。さらに、これまで言われてきた加齢性B細胞(CD19⁺CD21⁻CD23⁻)に特異的に発現し、なおかつ加齢性B細胞を細分化できることが判明している(未発表)。さらにX発現B細胞の詳細なサブセットを明らかにするため、加齢に伴い出現するX発現B細胞をフローサイトメーターにより解析を行う。

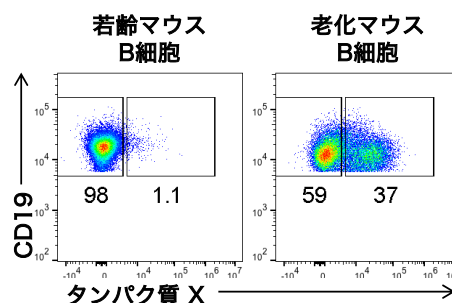


図2. 若齢および老化マウスの脾臓B細胞におけるタンパク質Xの発現

(2) X陽性加齢性B細胞サブセットの機能解析

遺伝子X欠損加齢マウス、またB細胞特異的CD19-Creを発現するマウスと遺伝子Xのfloxマウスを掛け合わせたB細胞特異的遺伝子X欠損老化マウスの解析を行い、加齢性B細胞における遺伝子Xの生理的役割を解明する。また、*in vitro*にて加齢性B細胞誘導刺激実験を行い、B細胞におけるXの発現に必要な因子、およびXが加齢性B細胞への分化に関与するか調べる。また、*in vivo*にて加齢性B細胞が誘導され、かつ自己免疫疾患の症状悪化に加齢性B細胞が関与することが知られる自己免疫疾患マウスモデルにおいては、イミキド誘発性ループス様自己免疫疾患(SLE)モデル、bm12マウス細胞の移入によるSLEモデルを用いてX陽性加齢性B細胞サブセットの機能を検証する。

4. 研究成果

(1) X 陽性 B 細胞サブセットの特徴の同定

老化マウスの脾臓における X 陽性 B 細胞を詳細に解析したところ、自己免疫疾患に関与する TLR7 や TLR9 の発現、またメモリーマーカーである CD73 の発現や抗原提示に関与する補助シグナル分子 CD80・CD86 の発現が高いなどの特徴を同定した。また、これらの特徴はイミキミド SLE モデル、bm12 マウス細胞の移入による SLE マウスモデルにて出現する X 陽性 B 細胞においても、同様な特徴が観察された。

(2) 新規加齢性 B 細胞サブセットにおける X の機能解析

老化マウスにおいて加齢性 B 細胞が X を発現する機序が不明であるため、その解明に取り組んだ。老化で増加する加齢性 B 細胞は自己免疫疾患の悪化に関与することが知られており、SLE の発症や悪化に関しては、ヒトやマウスにおいて自己抗原に対する反応、特に TLR7 が関与することが報告されている。また、濾胞ヘルパー T 細胞 (Tfh) が産生する IL-21 が加齢性 B 細胞の増加に関与することが示唆されている。そこで、若齢野生型 (WT) マウスの脾臓における B 細胞を単離し、*in vitro* にて加齢性 B 細胞誘導刺激 (R848:TLR7 リガンド, IL-21, 抗 IgM 抗体, BAFF) 実験を行ったところ、X の発現が誘導されることがわかった (図 3、未発表)。

次に、遺伝子 X が加齢性 B 細胞分化誘導に関与するか調べるために、若齢 WT マウスおよび遺伝子 X 欠損マウスにおける脾臓の B 細胞を単離し、*in vitro* にて加齢性 B 細胞誘導刺激実験を行った。その結果、これまで言われてきた加齢性 B 細胞の特徴である CD11c⁺ T-bet⁺ B 細胞は、WT マウスと比較して遺伝子 X 欠損マウス B 細胞において誘導減少が観察された (図 4、未発表)。

さらに加齢した遺伝子 X 欠損マウス脾臓の解析を行った。その結果、CD11c⁺ T-bet⁺ B 加齢性 B 細胞数は、加齢 WT マウスと比較して減少した (図 5、未発表)。また、若齢 B 細胞特異的遺伝子 X 欠損マウスにおいて、イミキミド SLE モデル、bm12 マウス細胞の移入による SLE マウスモデルを試みた結果、同様に加齢性 B 細胞数がコントロールマウスと比較して減少する傾向が観察された。

以上の本研究の成果により、加齢により B 細胞にて発現する X は新規加齢性 B 細胞マーカーとなる可能性を示し、X 陽性 B 細胞サブセットの特徴を同定した。また X は加齢性 B 細胞誘導に関与する可能性が示された。本研究成果は、加齢性 B 細胞の機能や性状の詳細な解明への貢献、そして老化による免疫低下を引き起こす機序を B 細胞の視点からの解明につながる可能性が示唆され、超高齢化社会における健康寿命の延長に寄与することが期待される。

本成果において、加齢性 B 細胞誘導刺激 (R848:TLR7 リガンド, IL-21, 抗 IgM 抗体, BAFF) にて X の発現が誘導されたが、B 細胞が X を発現する機序は不明である。今後の展望として、本結果を参考にこれらの刺激の中で、誘導に重要な刺激は何か、また B 細胞における X 発現誘導にはどのようなシグナルリング経路により制御されているか、今後詳細に調べる。

また、X は ITAM を持つシグナル分子として機能する膜貫通タンパク質であり、他の細胞表面レセプターと共役して機能を発揮することが知られているが、老化マウスの B 細胞において発現が増加する X と会合する受容体は不明である。そこで、老化 B 細胞にて発現する X と会合する分子・受容体を質量分析法により同定を試みる。同定した受容体と分子 X の会合により誘導されるシグナルが、加齢性 B 細胞の分化や機能にどのように関与するのか、検証を試みる予定である。

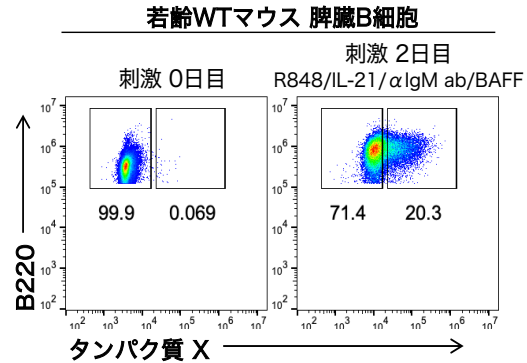


図3. 若齢WTマウス脾臓B細胞における加齢性B細胞誘導刺激によるタンパク質Xの発現

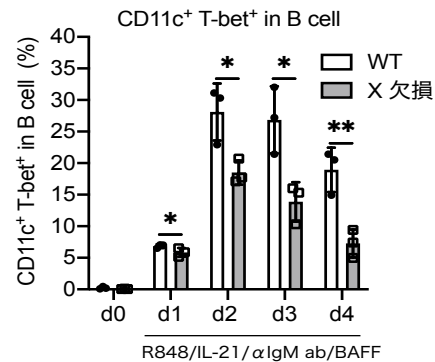


図4. 若齢WTマウスおよび遺伝子X欠損マウスB細胞における加齢性B細胞誘導刺激によるCD11c⁺ T-bet⁺発現

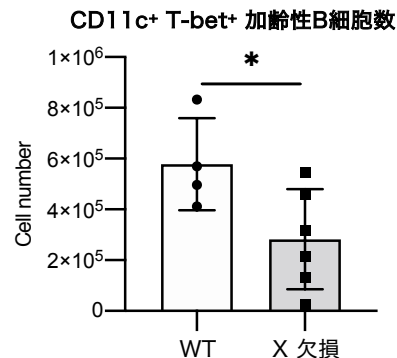


図5. 加齢WTおよび加齢遺伝子X欠損マウスの脾臓におけるCD11c⁺ T-bet⁺ 加齢性B細胞数

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------