

機関番号：82603

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590501

研究課題名（和文）気道粘膜組織に存在するメモリーB細胞の機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of memory B cells in lungs

研究代表者

高橋 宜聖（TAKAHASHI YOSHIMASA）

国立感染症研究所・免疫部・室長

研究者番号：60311403

研究成果の概要（和文）：

肺メモリーB細胞は二次リンパ器官のものと比較し、より成熟段階の進んだメモリーB細胞であることを見いだした。さらに、再感染したウイルスに反応して多量のIgA抗体産生細胞を産生し、気道中のウイルス量を有意に低下させることが明らかとなった。肺メモリーB細胞は、二次リンパ器官のメモリーB細胞と多くの遺伝子発現パターンを共有する一方で、肺メモリーB細胞で特異的に発現増加・低下する遺伝子が存在し、その中の1つの遺伝子を欠損したマウスを作製した。

研究成果の概要（英文）：

Lung memory B cells exhibited the increased maturity and conferred protection against re-infected viruses by producing robust numbers of IgA-secreting plasma cells. Lung memory B cells showed the similar gene expression profile with those in secondary lymphoid organs, but several genes were selectively upregulated in lung memory B cells. Gene-deficient mice were generated to define *in vivo* function of one of those genes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	0	1,900,000
2009年度	1,100,000	0	1,100,000
2010年度	700,000	0	700,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	0	3,700,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：免疫記憶

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 病原体の主要な侵入部位である気道粘膜系でのメモリーB細胞の解析はほとんどなく、粘膜組織での感染防御反応においてどのような機能的役割を担うのか不明である。  
(2) インフルエンザウイルス気道感染後の肺組織において、感染防御能を有するメモリーB細胞が存在することを見いだしている。

## 2. 研究の目的

(1) 肺メモリーB細胞の形態学的特徴と発現遺伝子を明らかにする。  
(2) 肺メモリーB細胞の産生と抗体産生分化のメカニズムを明らかにする。  
(3) TLR7が肺メモリーB細胞の分化制御に必要であるか否か明らかにする。

## 3. 研究の方法

インフルエンザウイルスを経鼻感染させたマウスの肺や、比較対象として所属リンパ節

と脾臓からウイルス特異的なメモリーB細胞をフローサイトメトリで同定・単離した。メモリーB細胞の産生kineticsを追跡するとともに、単離したメモリーB細胞の表現型・発現遺伝子をフローサイトメトリやDNAマイクロアレイ、Q-PCR法により解析した。また、メモリーB細胞をSCIDマウスに移入後、不活化ウイルスの全身免疫やウイルス気道感染を行い、メモリーB細胞の抗体産生分化能や感染防御能の評価を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 肺メモリーB細胞と二次リンパ器官のメモリーB細胞の産生kineticsを比較した結果、二次リンパ器官のメモリーB細胞は感染後20日までに存在頻度がピークに達するのに対し、肺メモリーB細胞はその後もゆるやかに増加しつづけることが明らかとなった。さらに産生された肺メモリーB細胞は、成熟型メモリーB細胞のマーカー分子として提唱されているCD73, CD80, CD273やIgA陽性細胞の頻度が高いことから、二次リンパ器官のメモリーB細胞と比較し、より成熟段階の進んだメモリーB細胞であると考えられた。

(2) 肺メモリーB細胞の発現遺伝子をDNAマイクロアレイで網羅的に解析したところ、二次リンパ器官のメモリーB細胞で高発現する複数の分子を同レベルで発現する一方、肺メモリーB細胞で特異的に発現増加・低下する遺伝子を同定することに成功した。肺メモリーB細胞で高発現する1つの分子に関し、遺伝子欠損マウスの作製を完了した。

(3) 再感染ウイルスに対する肺メモリーB細胞の応答性と機能を細胞移入実験により検証したところ、二次リンパ器官のメモリーB細胞に比べ、肺メモリーB細胞はより多量のIgA抗体産生細胞を産生し、気道中のウイルス量を有意に低下させることが明らかとなった。

(4) TLR7欠損マウスでも肺メモリーB細胞が正常に産生・維持されることが明らかとなった。

[雑誌論文] (計7件)

1. Yuki, N., Takahashi, Y., Ihara, T., Ito, S., Nakajima, T., Funakoshi, K., Furukawa, K., Kobayashi, K., Odaka, M. Lack of antibody response to Guillain-Barre syndrome-related gangliosides in mice and men after novel influenza vaccination. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2010. 査読有.
2. Kurosaki, T., Aiba, Y., Kometani, K., Moriyama, S., Takahashi, Y. Unique properties of memory B cells of different isotypes. *Immunol. Rev.* 237,

104-116, 2010. 査読無.

3. Nakashima, H., Hamaguchi, Y., Watanabe, R., Ishiura, N., Kuwano, Y., Okochi, H., Takahashi, Y., Tamaki, K., Sato, S., Tedder, T. F., Fujimoto, M. CD22 expression mediates the regulatory functions of peritoneal B-1a cells during the remission phase of contact hypersensitivity reactions. *J. Immunol.* 184, 4637-4645, 2010. 査読有.
4. Ishiura, N., Nakashima, H., Watanabe, R., Kuwano, Y., Adachi, T., Takahashi, Y., Tsubata, T., Okochi, H., Tamaki, K., Tedder, T. F., Fujimoto, M. Differential phosphorylation of functional tyrosines in CD19 modulates B lymphocyte activation. *Eur. J. Immunol.* 40, 1192-1204, 2010. 査読有.
5. Kishishita, N., Matsuno, T., Takahashi, Y., Takaba, H., Nishizumi, H., Nagawa, F. Regulation of antigen-receptor gene assembly in hagfish. *EMBO. Rep.* 11, 126-132, 2010. 査読有.
6. Takahashi, Y., Hasegawa, H., Hara, Y., Ato, M., Ninomiya, A., Takagi, H., Odagiri, T., Sata, T., Tashiro, M., Kobayashi, K. Protective immunity afforded by H5N1 (NIBRG-14)-inactivated vaccine requires both antibodies against hemagglutinin and neuraminidase. *J. Infect. Dis.* 199, 1629-1637, 2009. 査読有.
7. Yanagibashi, T., Hosono, A., Oyama, A., Tsuda, M., Hachimura, S., Takahashi, Y., Itoh, K., Hirayama, K., Takahashi, K., Kaminogawa, S. Bacteroides induce higher IgA production than *Lactobacillus* by increasing activation-induced cytidine deaminase expression on B cells in murine peyer's patches. *Biosci. Biotech. Biochem.* 73, 372-377, 2009. 査読有.

[学会発表] (計22件)

1. 高橋宜聖: Protective memory B cells against influenza virus infection in the lungs. 千葉大 G-COE シンポジウム (Development and maintenance of immunememory). 2010年12月4日. 東京.
2. Hikida, M.: IgG1 memory B cell compartment undergoes qualitative alteration after its initial

- generation early in the immune response. 14th International Congress of Immunology. 2010年8月26日. 神戸.
3. Onodera, T.: T-cell independent activation of virus-specific memory B cells requires Toll-like receptor (TLR) signaling. 14th International Congress of Immunology. 2010年8月26日. 神戸.
  4. Onodera, T.: T-cell independent activation of virus-specific memory B cells requires Toll-like receptor (TLR) signaling. 4th International conference on "B cells and autoimmunity" 2010年8月20日. 奈良.
  5. 大山堯人: Bacteroides の刺激を受けたパイエル板細胞におけるIgA誘導の特徴. 日本農芸化学会 2010年度大会. 2010年3月29日. 東京.
  6. 小川晋平: IL-5 を高産生する腸管 NK 様細胞の同定. 日本農芸化学会 2010年度大会. 2010年3月29日. 東京.
  7. 小川晋平: 腸管特有の細胞群 CD3-IL-2R+細胞の表現型および機能解析. 第39回日本免疫学会総会. 2009年12月2日. 大阪.
  8. 加地友弘: Non-mutated memory B cells develop under T-cell help without germinal center reaction, followed by the functional maturation as immune response progresses. 第39回日本免疫学会総会. 2009年12月3日. 大阪.
  9. 小野寺大志: T cell-independent activation of memory B cells with B-2 phenotype by whole virus particles. 第39回日本免疫学会総会. 2009年12月3日. 大阪.
  10. 高橋宜聖: ヒト血清移入マウスを用いたインフルエンザウイルス感染防御能の解析. 第13回日本ワクチン学会学術集会. 2009年9月27日. 札幌.
  11. 高橋宜聖: ヒト血清抗体・細胞移入マウスを用いた防御免疫評価系の構築. 日本食品免疫学会 2009年度大会. 2009年5月26日. 東京.
  12. 大山堯人: マウス腸内共生菌が誘導する腸管 IgA 産生の特徴. 日本食品免疫学会 2009年度大会. 2009年5月26日. 東京.
  13. 小川晋平: 腸管特有の細胞群 CD3-IL-2R+細胞の機能解析. 日本食品免疫学会 2009年度大会. 2009年5月26日. 東京.
  14. 大山堯人: マウス腸内共生菌が誘導する腸管 IgA 産生応答についての in vitro での解析. 日本農芸化学会 2009年度大会. 2009年3月29日. 福岡.
  15. 小川晋平: 腸管特有の細胞群 CD3-IL-2R+細胞の機能解析. 日本農芸化学会 2009年度大会. 2009年3月29日. 福岡.
  16. 柳橋努: Bacteroides は B 細胞の AID 発現を誘導し腸管 IgA 産生を亢進する. 日本農芸化学会 2009年度大会. 2009年3月29日. 福岡.
  17. 高橋宜聖: インフルエンザウイルスの感染防御に寄与するメモリー B 細胞の同定. 日本農芸化学会 2009年度大会. 2009年3月28日. 福岡.
  18. Yanagibashi, T.: バクテロイデスは胚中心の形成を促すことで大腸の IgA 産生を強く誘導する. 第38回日本免疫学会総会. 2008年12月3日. 京都.
  19. Ogawa, S.: パイエル板 CD3-IL-2R+細胞によるクラススイッチの誘導および IgA 分泌の促進. 第38回日本免疫学会総会. 2008年12月3日. 京都.
  20. Fu, S.: B 細胞と免疫器官における BILL-cadherin/cadherin-17 の発現パターン. 第38回日本免疫学会総会. 2008年12月2日. 京都.
  21. Takahashi, Y.: IgA+ memory B cells persist in the lung after an intranasal infection with influenza virus. 第38回日本免疫学会総会. 2008年12月2日. 京都.
  22. 高橋宜聖: H5N1 (NIBRG-14) ワクチンの感染防御効果には、抗ヘマグルチニン抗体と抗ノイラミニダーゼ抗体の両者が関与する. 第12回日本ワクチン学会学術集会. 2008年11月8日. 熊本.

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 宜聖 (YOSHIMASA TAKAHASHI)  
国立感染症研究所・免疫部・室長  
研究者番号：20590501

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：