

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：84420

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670241

研究課題名(和文) 腸管IgAメモリー応答を担う分子・細胞メカニズムの解明

研究課題名(英文) B cell memory machinery in the intestinal IgA responses

研究代表者

國澤 純 (KUNISAWA, Jun)

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研究所 ワクチンマテリアルプロジェクト・プロジェクトリーダー

研究者番号：80376615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：腸管でのIgA抗体の誘導や維持に関わると思われるエネルギー代謝に着目した研究を遂行した。メタボローム解析から、ナイーブB細胞がクエン酸回路依存的にエネルギー産生しているのに対し、IgA抗体産生細胞は解糖系へとシフトしていることが判明した。さらにクエン酸回路に必須のビタミンB1を欠乏したマウスにおいては、ナイーブB細胞が減少し、経口ワクチンに対するIgA応答が減弱していた。これらのことからIgA抗体のメモリー応答へと続く分化過程でエネルギー代謝の変化が起こると共に、エネルギー代謝に必要なビタミンB1への依存性も変化することが判明した。

研究成果の概要(英文)：It was demonstrated that in the intestinal IgA exhibits memory responses, but underlying mechanisms remain unclear. In this study, we performed metabolic analysis for energy metabolism that seems to be involved in the induction and maintenance of intestinal IgA responses. Naive B cells from the Peyer's patches predominantly use TCA cycle, whereas IgA producing cells in the intestinal lamina propria shift their energy metabolism to glycolysis-initiated one. In agreement with these metabolic changes, naive B cells were dramatically reduced in mice lacking vitamin B1, an essential co-factor for the TCA cycle and intestinal IgA responses against oral vaccine were consequently impaired. These findings suggest that energy metabolism during B cell differentiation for intestinal IgA responses was changed, which is possibly associated with the induction and maintenance of intestinal IgA memory responses.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫学 発生・分化

1. 研究開始当初の背景

経口ワクチンに代表される粘膜ワクチンの有効性が注目されており、現在、各種感染症を標的とした様々な粘膜ワクチンの開発が進められている。これまでの研究から、粘膜ワクチンにより誘導される生体防御システムにおいて中核的役割を担っている IgA 抗体を介した免疫応答において、メモリー(記憶)機構が存在することが示されている。免疫学の分野において、B 細胞メモリーについてはまだ多くが未解明であり、現在、血清中の IgG メモリーや IgM メモリーを中心とした研究が精力的に進められている。一方で、粘膜組織での IgA メモリー応答については現象としては確認されているものの、その応答を担うサブセットの同定や、腸管 IgA メモリーサブセットの誘導・維持メカニズムはほとんど解明されていないといっても過言ではない。

2. 研究の目的

これまでの経口ワクチンの開発研究から、粘膜組織での生体防御を担う主要エフェクター分子として機能する IgA 抗体においても、メモリー反応は誘導されていることが示されているが、その誘導や維持に関わる機序は未解明である。本研究では粘膜ワクチン、特に経口ワクチンに対する腸管での IgA 抗体応答に焦点をあて、免疫メモリーに関する分子・細胞・生体レベルでの誘導、維持に関するメカニズムを解明することを目的に研究を遂行した。これにより、現在実用化が進められている粘膜ワクチンにおいても免疫メモリーを誘導するための新しい戦略が提唱できるものと期待される。

3. 研究の方法

免疫の誘導や活性化、維持に関わるのが近年示されているエネルギー代謝に焦点を当て、IgA メモリー応答につながるナイーブ B 細胞からの分化過程におけるエネルギー代謝を測定した。エネルギー産生過程において生じる代謝産物の測定のために、パイエル板からナイーブ B 細胞を、腸管の絨毛組織から IgA 抗体産生細胞をそれぞれ分離し、質量分析器を用いたメタボローム解析を行った。さらにクエン酸回路を不全にする目的で、クエン酸回路に必須のビタミンであるビタミン B1 を欠乏したマウスを作出し、免疫応答を解析した。さらに各種の細胞表面マーカーを指標に IgA 細胞を複数のサブセットに分類し、免疫不全マウスに各細胞サブセットを養子移入し、メモリー応答を解析することで、腸管 IgA メモリー応答を担う細胞サブセットの同定を試みた。

4. 研究成果

細胞の各分化過程におけるエネルギー代謝を測定するために、パイエル板からナイーブ B 細胞を、腸管の絨毛組織から IgA 抗体産生細胞をそれぞれ分離し、質量分析によ

るメタボローム解析を行った。その結果、ナイーブ B 細胞がクエン酸回路依存的にエネルギー産生しているのに対し、IgA 抗体産生細胞は解糖系へとシフトしていることが判明した。これらのエネルギー代謝と関連し、クエン酸回路に必須のビタミンであるビタミン B1 を欠乏したマウスにおいては、ナイーブ B 細胞が減少し、その結果、経口ワクチンに対する IgA 抗体産生応答が減弱することが判明した。これらのことから IgA 抗体のメモリー応答へと続く分化過程においてエネルギー代謝の変化が起こること、それと連動しエネルギー代謝に必要なビタミン B1 に対する依存性も変化することが判明した。さらに IgA 細胞を細胞表面マーカーにより分類し解析を行った結果、腸管での IgA メモリーを担うであろうと予想されるサブセットを同定した。

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 9 件)

1. J. Kunisawa* and H. Kiyono, Sphingolipids and epoxidized lipid metabolites in the control of gut immunosurveillance and allergy. *Front Nutrition* 査読有 3:3, 2016 (doi: 10.3389/fnut.2016.00003)
2. Y. Goto, A. Lamichhane, M. Kamioka, S. Sato, K. Honda, J. Kunisawa*, H. Kiyono, IL-10-producing CD4⁺ T cells negatively regulate fucosylation of epithelial cells in the gut. *Sci Rep* 査読有 5:15918, 2015 (doi: 10.1038/srep15918)
3. J. Kunisawa*, Y. Sugiura, T. Wake, T. Nagatake, H. Suzuki, R. Nagasawa, S. Shikata, K. Honda, E. Hashimoto, Y. Suzuki, M. Setou, M. Suematsu, H. Kiyono, Mode of bioenergetic metabolism during B cell differentiation in the intestine determines the distinct requirement for vitamin B₁. *Cell Rep* 査読有 13, 122-131, 2015 (doi: 10.1016/j.celrep.2015.08.063)
4. H. Suzuki and J. Kunisawa*, Vitamin-mediated immune regulation in the development of inflammatory diseases.

- Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets* 査読有 15: 212-215, 2015
5. Y. Kurashima, H. Kiyono, and J. Kunisawa*, Pathophysiological role of extracellular purinergic mediators in the control of intestinal inflammation. *Mediators of Inflammation* 査読有 2015: 427125, 2015 (doi: 10.1155/2015/427125)
 6. J. Kunisawa* and H. Kiyono, Vitamins mediate immunological homeostasis and diseases at the surface of the body. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets* 査読有 15: 25-30, 2015
 7. J. Kunisawa*, Vitamin B9 and ATP in the control and development of intestinal inflammation. *Inflammation and Regeneration* 査読有 35: 14-18, 2015
 8. J. Kunisawa*, E. Hashimoto, A. Inoue, R. Nagasawa, Y. Suzuki, I. Ishikawa, S. Shikata, M. Arita, J. Aoki, and H. Kiyono, Regulation of intestinal IgA responses by dietary palmitic acid and its metabolism. *J Immunol* 査読有 193: 1666-1671, 2014 (doi: 10.4049/jimmunol.1302944)
 9. Y. Kurashima, T. Amiya, K. Fujisawa, N. Shibata, Y. Suzuki, Y. Kogure, E. Hashimoto, A. Otsuka, K. Kabashima, S. Sato, T. Sato, M. Kubo, S. Akira, K. Miyake, J. Kunisawa*, and H. Kiyono, The enzyme Cyp26b1 mediates inhibition of mast cell activation by fibroblasts to maintain skin-barrier homeostasis. *Immunity* 査読有 40:530-41, 2014(doi: 10.1016/j.immuni.2014.01.014)
- [学会発表](計 27 件)
1. 國澤純、栄養を介した免疫制御と創薬・機能性食品開発への展開 **日本薬学会第 136 年会** 横浜(パシフィコ横浜)(2016 年 3 月 28 日)
 2. 國澤純、腸内環境を介した免疫制御の基礎的解明と創薬、機能性食品開発への展開 **第 97 回日本栄養・食糧学会関東支部会大会シンポジウム** 東京(東京大学)(2016 年 3 月 12 日)
 3. Jun Kunisawa, Diet-Commensal Crosstalk for the control of gut immunity **Environment controlling normal and diseased hematopoietic and immune systems** (Yokohama, RIKEN, 2 March, 2016)
 4. 國澤純、栄養 腸内フローラネットワークを介した免疫制御と疾患 **BMFH シンポジウム 2016** 東京(東京大学)(2016 年 2 月 13 日)
 5. 國澤純、腸から眺めるヘルスサイエンス **第 3 回先進イメージング医学研究会・学術集会** 神戸(有馬温泉ホテル)(2016 年 2 月 12 日)
 6. 國澤純、免疫制御における腸内環境の影響と免疫創薬、機能性食品、ワクチンへの展開 **第 6 回学際的脂質創生研究部会講演会** 徳島(徳島大学)(2015 年 1 月 22 日)
 7. 國澤純、医薬・健康・栄養の複合的観点から見たヘルスサイエンス **彩都産学官連携フォーラム 2016** 大阪(千里ライフサイエンスセンター)(2016 年 1 月 20 日)
 8. 國澤純、腸内環境を介した免疫制御とアジュバント開発への展開 **第 9 回次世代アジュバント研究会** 大阪(千里ライフサイエンスセンター)((2016 年 1 月 19 日)
 9. Jun Kunisawa, Unique immunological environment in the gut and its application to the development of mucosal vaccine, **The 13th US-Japan Symposium on**

- Drug Delivery Systems** (Hawaii, 17 December, 2015)
10. 國澤純、食と腸管免疫を起点とした機能性食品、創薬に向けた新たな展開 **HiHA 第5回ワークショップ** 広島(広島大学)(2015年11月27日)
 11. Jun Kunisawa, Environmental factors regulate the function of IgA-producing cells in the gut, **The 3rd Symposium of International Immunological Memory and Vaccine Forum (IIMVF) “What’s Immunological Memory?”** (Berlin, 30-31 October, 2015)
 12. 國澤純、多元的腸管ネットワークを介した免疫制御とワクチン開発への展開 **BIKEN 次世代ワクチン協働研究所開設記念セミナー** 大阪(大阪大学微生物病研究所)(2015年6月9日)
 13. 國澤純、腸管での多元的免疫ネットワークを介した生体防御と疾患 **第5回家畜感染症学会シンポジウム・総会** 東京(東京大学医科学研究所)(2015年6月5日)
 14. 國澤純、栄養・腸内フローラを介した免疫制御と創薬研究への展開 **千里ライフサイエンスセミナー - 粘膜免疫システムの解明と免疫疾患 -** 大阪(千里ライフサイエンスセンター)(2015年5月11日)
 15. 國澤純、粘膜免疫のユニーク性を標的としたワクチンの開発の最前線 **日本薬学会第135年会** 神戸(神戸学院大学)(2015年3月28日)
 16. Jun Kunisawa, Lipid-mediated immune network in the development of intestinal allergy **第88回日本薬理学会年会** 名古屋(名古屋国際会議場)(2015年3月20日)
 17. 國澤純、腸管免疫ネットワークの学術的解明と創薬・ワクチン開発への展開 **第7回 鈴鹿病態薬学研究会** 三重(鈴鹿医療科学大学)(2015年2月25日)
 18. 國澤純、腸内環境因子を介した免疫制御の基礎的解明と免疫創薬への応用 **千里ライフサイエンスセミナー - アカデミア創薬の進展 -** 大阪(千里ライフサイエンスセンター)(2015年2月13日)
 19. 國澤純、腸内環境を介した免疫制御とワクチン開発・免疫創薬への展開 **第19回 関西大学先端科学技術シンポジウム** 大阪(関西大学)(2015年1月23日)
 20. Jun Kunisawa Functional Diversity of IgA-producing Plasma Cells for the Development of Mucosal Vaccine **The 1st International Symposium on Mucosal Immunity and Vaccine Development 2014** (University of Tokyo, Tokyo, 21 October, 2014)
 21. 國澤純、脂質 免疫ネットワークを起点にした免疫疾患の解明と創薬研究への展開 **第87回 日本生化学会** 京都(国立京都国際会館)(2014年10月16日)
 22. 國澤純、東洋医学を起点とした粘膜免疫制御メカニズムの解明と創薬への展開 **日本生薬学会第61回年会** 福岡(福岡大学)(2014年9月13日)
 23. 國澤純、粘膜免疫のユニーク性に基づく粘膜ワクチンの開発・免疫創薬への新展開 **第30回 日本DDS学会** 東京(慶応義塾大学)(2014年7月31日)
 24. 國澤純、腸内環境因子を介した免疫制御の解明と創薬・ワクチン開発への展開 **第18回 腸管出血性大腸菌感染症**

研究会 京都（同志社大学寒梅館）
（2014年7月15日）

25. 國澤純、東洋医学を起点とした粘膜免疫制御メカニズムの解明と創薬への展開 **第65回日本東洋医学会学術総会** 東京（東京国際フォーラム）（2014年6月28日）

26. Jun Kunisawa Commensal Bacteria and Diet in the Control of Intestinal Immunosurveillance and Diseases **18th Annual Meeting of Intestinal Microbiology** (University of Tokyo, Tokyo, 12 June, 2014)

27. 國澤純、腸内環境ネットワークを介した免疫制御とヘルスサイエンス **第14回日本抗加齢医学会総会** 大阪（大阪国際会議場）（2014年6月6日）

〔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
http://www.nibio.go.jp/vaccine_material_project/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

國澤 純（KUNISAWA, Jun）
国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養

研究所・ワクチンマテリアルプロジェクト・プロジェクトリーダー
研究者番号：80376615

(2) 研究分担者
なし（ ）

研究者番号：

(3) 連携研究者
なし（ ）

研究者番号：