

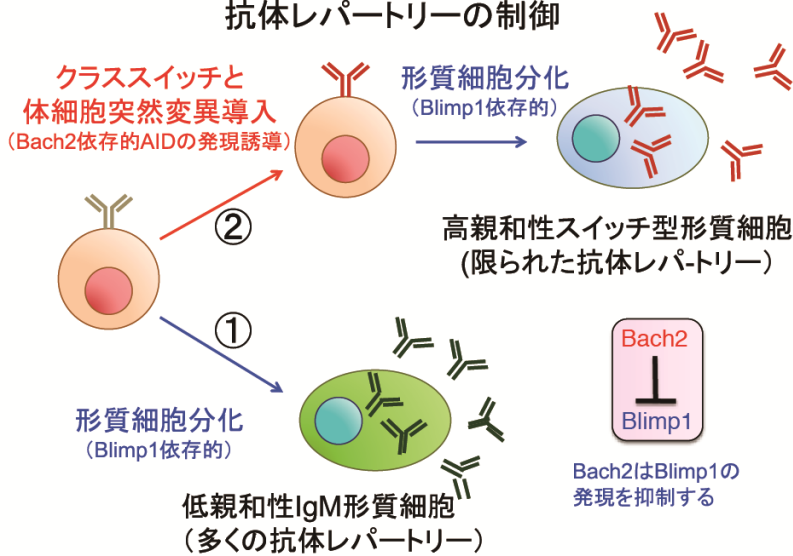
## 機能的抗体産生を制御する活性化 B 細胞運命決定機構の解明

-新しい免疫制御機構の理解とその応用による免疫反応制御薬の開発に期待-

### 概要

B 細胞が産生する抗体は、大きく二つに分類出来ます。一つは、『抗原に対する親和性の低い IgM 抗体』であり、もう一方は、『突然変異を多く持った、抗原に対する親和性の高いクラススイッチした抗体 (IgM 以外のクラスの抗体)』です。最近これらの抗体の免疫学的な機能の違いが明らかになりつつありますが、活性化した B 細胞が、どちらの抗体を分泌する細胞になるかを制御するメカニズムは全く不明でした。

### 形質細胞分化とクラススイッチ組換えによる 抗体レパートリーの制御



今回私たちは、この分化の方向性を決める分子機構を明らかにしました。活性化 B 細胞は、ミトコンドリアの活性の違いによって、クラススイッチ組換えを起こしやすい細胞集団 (左図②) と、形質細胞に分化しやすい細胞集団 (左図①) に分けられることを見いだしました。ミトコンドリア活性が高い細胞は、活性酸素種 (ROS) の発生が増強した結果、ヘム合成が阻害されている事が分かりました。この細胞では、ヘムによって活性が抑制される転写因子 Bach2 の

機能が維持された結果、クラススイッチ組換え・体細胞突然変異導入が誘導されることが明らかになりました (上図②)。ミトコンドリア活性の低い細胞では、ROS が少なくヘム合成が促進されるために、Bach2 機能が抑制され形質細胞への分化が促進されます (上図①)。今回の研究成果は、ミトコンドリアによる細胞分化制御の新しいメカニズムを見いだただけでなく、様々な免疫反応において、適正な抗体産生を誘導するために必要な分子機構の解明と、新規免疫療法薬の開発につながる事が期待されます。

### 1. 背景

細胞分化は一般的に instructive な (方向付け) シグナル (サイトカイン等分化の方向性を決めるもの) と細胞内の確率的な現象によって決定される事が知られています。事実、活性化 B 細胞の分化方向の決定は細胞自身の確率的な現象で決まっている事が示されています (Duffy ら Science 335, 338, 2012)。その一方で、B 細胞受容体からの刺激の強さが、形質細胞に分化させるための instructive なシグナルであることも示されています (Ochiai ら Immunity 38, 918, 2013)。しかし実際に、『形質細胞に分化するのか? クラススイッチ組換えを誘導するのか?』を決定している、確率的变化の実態や、instructive なシグナルの実態は、今日までまったく分かっていませんでした。

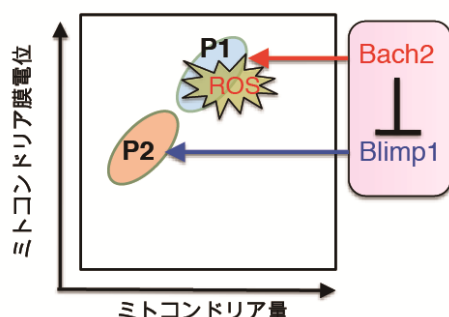
鉄とポルフィリンの錯体であるヘムは、ヘムタンパク質に酸素運搬、電子移動、触媒、ガスセンサー等、

様々な機能を付与する生体に必須の分子です。最近、ヘムに結合する転写因子が多数同定され、転写因子の機能を制御するシグナル分子としてのヘムの機能が注目されています。しかし、生体内でヘムが実際にシグナル分子として機能している証拠はほとんどありません。最近の報告から、脾臓のレッドパルプマクロファージは、赤血球を貪食した結果得られたヘムに依存して分化する事が示されました (Halldarら Cell 156, 1223, 2014)。このように、細胞外から取り込まれたヘムがシグナル分子として機能している例は示されましたが、細胞内で合成されるヘムがシグナル因子として機能している可能性については全く分かっていませんでした。

## 2. 研究手法・成果

私たちは、活性化 B 細胞の分化の方向性がミトコンドリア活性に依存している事を見いだしました。ミトコンドリア活性の高い細胞群 (下図 P1) はクラススイッチするのに対し、ミトコンドリア活性の低い細胞集団 (下図 P2) は形質細胞に分化する事が明らかになりました。この時、クラススイッチに必須の転写因子 Bach2 の発現はどちらの細胞集団でも変わらないのに対して、形質細胞分化に必須の転写因子 Blimp1 の発現は、ミトコンドリア活性の低い細胞集団(P2)で高いことが分かりました。このことは、ミトコンドリア活性の低い細胞集団で Bach2 の機能が抑制されている事を意味します(Blimp1 の発現は

### 活性化B細胞のミトコンドリア活性状態のFACS解析



P1: クラススイッチしやすい細胞集団  
P2: 形質細胞に分化しやすい細胞集団  
ROS: 活性酸素

Bach2 によって抑制される事が知られています)。実際、ミトコンドリア活性の低い細胞集団(P2)でのヘム合成能が高く、この細胞集団では Bach2 機能が抑制されていることが明らかになりました (ヘムは Bach2 を抑制する事が知られています)。さらに、ミトコンドリア活性がどのようにヘム合成を阻害しているのかを調べた結果、ミトコンドリア活性によって発生した活性酸素種が、ヘム合成を抑制していることも見いだしました。

本研究は、清水章先生 (京都大学医学部教授)、五十嵐和彦先生 (東北大学医学部教授)、竹谷茂先生 (京都工芸繊維大学教授)、Dr. Stephen L. Nutt (The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne, Professor)、青木耕史先生 (福井大学医学部教授) らとの共同研究により行われました。

## 3. 波及効果

### 細胞分化の理解と応用

今回の発見は、細胞外から取り込まれるヘムではなく、ミトコンドリア機能に依存した細胞内でのヘム合成能の変化が、細胞分化の方向性を自立的に決定していることを示しています。言い換えますと、すべての細胞の持つ基本的な機能である『細胞増殖』と、それに伴った『ミトコンドリア機能の変化』が、『細胞内ヘム合成能の変化』に変換され、最終的に『細胞分化を決定する』過程に結びついたという点が重要です。一般的に、様々な細胞系列において、細胞分化は細胞増殖 (細胞分裂) の変化を伴うことが知られています。このように、今回見いだした細胞分化制御機構は、活性化 B 細胞に限定した現象で

はなく、様々な他の細胞系列でも機能していることが考えられます。従って、こういった観点から様々な細胞の分化を再考する事によって、今まで見落とされていた細胞分化の新しい側面を見いだす事が可能になります。これらの発展した研究から得られた知見は、さらに、再生医療などにも貢献する事が期待されます。

### 免疫学的な応用

季節性インフルエンザに対して行われているワクチンは、流行するウィルスを事前に予測する事によって機能していますが、これらのウィルス種特異的な免疫では、突然変異を伴ったインフルエンザや、抗原特異性の異なる近縁の新型ウィルスに対しては効果がないことが知られています。この近縁の新型ウィルスによるパンデミック（感染症の世界的大流行）を抑制するためのワクチンとして、プレパンデミックワクチンや、パンデミックワクチンが作成されますが、どちらの方法でも、新しいウィルスを同定してからワクチンを作成することになるため、パンデミックを抑制する効果は時間的に限定されることが問題となります。これに対して、最近、『ウィルス同定前に行う事が可能な汎用ワクチン開発』のヒントとなる研究成果が報告されました。インフルエンザワクチンを投与する際、抗原に対して『高親和性でクラススイッチした抗体』の産生を抑制することによって、別のインフルエンザによる致死感染を予防出来る事が示されました。これは、低親和性の IgM 抗体を積極的に誘導する事によって、cross-protective immunity (交差予防免疫) が確立された事を意味します。この時、誘導された低親和性 IgM 抗体が、亜系インフルエンザウィルスや、変異を持った新型ウィルスの感染を抑制している事が考えられます。

今回私たちが見いだした、ミトコンドリア機能による免疫反応制御機構は、まさに低親和性の IgM 抗体を誘導する汎用性ワクチンを開発するためにも重要な発見であり、さらに、抗原特異的な免疫反応を増強する方法を確立するためにも必要な知見です。従って、この研究を発展させる事によって、新しい免疫療法を支える礎となる知識や、新規免疫療法薬の開発につながる研究が期待出来ます。

### 4. 今後の予定

本研究成果は、2015年4月10日10時(ロンドン)18時(日本時間)発行の科学誌 **Nature Communications**, DOI 10.1038/ncomms7750 (2015) に掲載されます。

### <論文タイトルと著者>

#### **Mitochondrial function provides instructive signals for activation-induced B-cell fates**

Kyoung-Jin Jang, Hiroto Mano, Koji Aoki, Tatsunari Hayashi, Akihiko Muto, Yukiko Nambu, Katsu Takahashi, Katsuhiko Itoh, Shigeru Taketani, Stephen L. Nutt, Kazuhiko Igarashi, Akira Shimizu, and **Manabu Sugai** (責任著者)

### <用語解説>

ヘム: 赤血球の酸素運搬に必要なヘモグロビンを構成する生体内分子。鉄とポリフィリンで出来ている。生体内の酵素機能などに必要な因子。

クラススイッチ組換え: 抗体の定常部領域に起こる DNA 組換え反応。この組換えによって、IgG, IgA, IgE

などクラスの異なった抗体(IgM ではない抗体)ができる。IgA は腸の免疫に必要であり、IgE はアレルギーに関与する。IgM はクラススイッチを受けていない抗体である。

形質細胞：B 細胞が分化して、大量に抗体を分泌するようになった細胞

<お問い合わせ先>

氏名 菅井 学

福井大学医学部分子遺伝学

福井県吉田郡永平寺町松岡下合月 23-3

TEL: 0776-61-8312 FAX: 0776-61-8164

e-mail: msugai@u-fukui.ac.jp