

高親和性抗体を産生するプラズマ細胞の誘導・選択に関する分子機構の解明

伊勢 渉

大阪大学免疫学フロンティア研究センター 分化制御研究室

【研究の背景】

ウイルスなどの感染から生体を防御するためには高親和性の中和抗体が必要不可欠である。高親和性抗体を産生するプラズマ細胞は二次リンパ器官の胚中心(Germinal center: GC)で B 細胞から分化する。ワクチン開発の観点からも GC-B 細胞からプラズマ細胞への分化機構を理解することは重要である。

【目 的】

GC-B 細胞中のプラズマ細胞の前駆細胞を同定することで、GC からプラズマ細胞が選択・誘導される機構を明らかにすることを目的とする。

【方 法】

GC-B 細胞が高発現する転写因子 Bcl6 のレポーターマウスを用い、Bcl6 発現、その他の転写因子、細胞表面分子発現パターンを組み合わせることにより、GC-B 細胞をいくつかのサブセットに分類する。その中からプラズマ細胞の形質を発現する細胞を同定する。またこの細胞の遺伝子発現や抗原レセプターの配列、親和性等を解析し、他の GC-B 細胞サブセットと比較する。このプラズマ細胞前駆細胞を誘導するのに必要なシグナルを解析するために、CD40^{lox}、Irf4^{lox} マウスを S1pr2-Ert2cre と交配することで、GC 特異的遺伝子欠損マウスを樹立して、抗原の免疫によって誘導されるプラズマ細胞前駆細胞数の変動を解析する。

【結 果】

1) GC light zone B 細胞の一部が Bcl6^{lo}IRF4⁺CD69^{hi} という phenotype を示すことを見出した。この細胞は高親和性抗体を発現し、プラズマ細胞の抗体遺伝子と clonal relationship があることが判明した。また GC-B 細胞の signature gene の発現が有意に低下しており、逆にプラズマ細胞の signature gene の一部が高発現していた。In vitro で IL-21 と培養すると Blimp-1 mRNA の発現が上昇した。またプラズマ細胞分化が欠失している Irf4 KO GC B 細胞にはこの細胞は存在しなかった。以上の結果から Bcl6^{lo}IRF4⁺CD69^{hi} 細胞はプラズマ細胞の前駆細胞であることが判明した。

2) 遺伝子発現解析の結果から、Bcl6^{lo}IRF4⁺CD69^{hi} 細胞では他の GC-B 細胞と比較して CD40 刺激によって誘導される遺伝子の発現が有意に高いことが判明した。この結果は Bcl6^{lo}IRF4⁺CD69^{hi} 細胞は GC 内に存在するヘルパー T 細胞から強く刺激を受けていることを示唆する。そこで強い CD40 シグナルが Bcl6^{lo}IRF4⁺CD69^{hi} 細胞の誘導に必要なのではないかと考え、GC B 細胞の CD40 発現量を減らした時の影響を検討した。すなわち CD40^{lox/+} x S1pr2-ERT2cre マウスを抗原で免疫後タモキシフェンを投与することで、誘導性に CD40^{+/-} GC B 細胞を誘導した。その結果、CD40^{+/-} GC-B 細胞由来のプラズマ細胞数は有意に減少し、GC 内の Bcl6^{lo}IRF4⁺CD69^{hi} 細胞数も有意に減少していた。このことから強い CD40 シグナルが GC 内のプラズマ細胞前駆細胞を誘導するために必要であることが判明した。

3) Bcl6^{lo}IRF4⁺CD69^{hi} 細胞は CD40 に加え、SLAMF7、ICAM-1 といった接着分子の発現量が他の GC-B 細胞と比較して高くなっていた。抗原特異的 T 細胞との conjugate 形成効率を調べたところ、Bcl6^{lo}IRF4⁺CD69^{hi} 細胞は他の GC-B 細胞と比較して、抗原特異的 T 細胞とより多くの conjugate を形成することが in vitro および in vivo で示された。Anti-ICAM-1 抗体を投与

すると conjugate 形成ならびに B 細胞の IRF4 発現が抑制されたことから、Bcl6^{hi}IRF4⁺CD69^{hi} 細胞の誘導には安定かつ強い conjugate 形成が必要であること、また接着分子 ICAM-1 が高発現することが重要であることが示唆された。

【考 察】

本研究により GC-B 細胞中のプラズマ細胞前駆細胞を同定することができた。また T 細胞からの強いヘルプとそれを生み出すために強い相互作用が必要であることが示唆された。これまで GC-B 細胞からのプラズマ細胞への分化に関してはいくつかのモデルが提唱されてきたが、本研究はそれを初めて実証したものになる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

自己抗体やアレルギーに関与する IgE 抗体も GC を経由して産生されることが知られているが、その制御機構は不明である。本研究で得られた知見を元に、自己免疫疾患モデルやアレルギーモデルにおいてプラズマ細胞分化がどのように制御されているのか、あるいはどのように破綻しているのかが理解されていくと考えられる。

【参考・引用文献】

1. Inoue T*, Shinnakasu R*, Ise W*, Kawai C, Egawa T, Kurosaki T. The transcription factor Foxo1 controls germinal center B cell proliferation in response to T cell help. J Exp Med. 2017 Apr 3;214(4):1181-1198. (*equally contributed)
2. Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. Nat Rev Immunol. 2015 Mar;15(3):149-59.
3. Ise W, Inoue T, McLachlan JB, Kometani K, Kubo M, Okada T, Kurosaki T. Memory B cells contribute to rapid Bcl6 expression by memory follicular helper T cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Aug 12;111(32):11792-7.
4. Ise W, Kohyama M, Schraml BU, Zhang T, Schwer B, Basu U, Alt FW, Tang J, Oltz EM, Murphy TL, Murphy KM. The transcription factor BATF controls the global regulators of class-switch recombination in both B cells and T cells. Nat Immunol. 2011 Jun;12(6):536-43.