

免疫細胞の増殖限界制御の分子基盤

保田朋波流

九州大学 生体防御医学研究所

【研究の背景】

B 細胞は病原体など異物を認識し増殖することで特異的クローンを増大させ、抗体産生細胞や記憶細胞に分化し、即時あるいは生涯に渡る感染防御に寄与する。従って免疫細胞の増殖制御異常は免疫不全、自己免疫、リンパ腫といった様々な疾患と密接に関連し、そのメカニズムを明らかにすることが重要である。正常状態で免疫細胞の増殖は適切なタイミングで停止するようプログラムされるがその制御メカニズムについては全く不明である。研究代表者はこれまで血球系細胞の増殖や癌化を制御する細胞内分子の機能解析に従事し重要な発見を得た (Sci. Signal 2011; Immunity 2008; J. Exp. Med. 2004)。またヒト癌ウイルスである Epstein-Barr ウイルス (EBV) がコードする遺伝子のうち、LMP1 を B リンパ腫のドライバーとして見出し (Cell 2012)、またマウス B 細胞に LMP1 と LMP2A を共発現させることで、EBV 初期感染を再現する新たなヒト疾患モデルを樹立した (CSH 2013; PNAS 2016)。これら新規マウスモデルを用い EBV 癌遺伝子発現 B 細胞を不死化前後において比較解析した結果、B リンパ腫でよく知られる染色体転座や体細胞変異を認めない代わりに細胞複製老化に重要な遺伝子の発現が大きく変動することを発見した。このことから B 細胞不死化やリンパ球増殖制御において細胞老化関連分子が重要な役割を果たしている可能性が強く示唆された。

【目 的】

本研究課題では活性化 B 細胞の不死化前後で発現が顕著に制御される因子として見出した細胞老化関連遺伝子に着目し、リンパ球の増殖限界を制御する分子基盤解明を目指す。抗原に応答した B 細胞の細胞分裂回数や B 細胞の不死化と細胞老化関連タンパク質の発現レベルとの関係性について調べることで、それらに重要な役割を果たしているか明らかにする。またそれらの発現制御機構を分子レベルで解明する事で B 細胞の増殖限界制御機構の一端を理解し、任意にそれらをコントロールすることを目指す。

【方 法】

1) マウスを用いて細胞分裂回数や分裂限界と細胞老化関連タンパク質の発現との間に関連があるか調べる。また B リンパ腫ドライバーマウスで遺伝子破壊し、リンパ腫発症が促進されるか検証する。2) 細胞老化関連遺伝子の発現変化を 1 細胞レベルで検出するレポーターマウスを作成し、抗原に増殖応答する B 細胞での発現変化を調べる。また細胞老化関連遺伝子発現 B 細胞に増殖阻害が引き起こされるのか、免疫した抗原に対する二次応答や B 細胞分化、加齢に伴う免疫応答性の変化との関係についても調査する。3) リンパ腫での細胞老化関連遺伝子発現抑制は転写レベルで生じていることが示唆されている。しかしそれがどのような制御要因によるのか不明である。そこでリンパ腫細胞の細胞老化関連遺伝子座ゲノム配列、エピジェネティクス、および制御転写因子について解析することで細胞老化関連タンパク質発現抑制の原因を解明する。4) 癌遺伝子活性化によって細胞老化関連遺伝子が発現誘導されるメカニズムを明らかにする。癌遺伝子活性化 B 細胞で発現変動する転写制御因子について Crispr によるノックアウトを行い、細胞老化関連遺伝子発現誘導の鍵となる転写制御因子を同定する。さらにヒトのリンパ腫において、上記で同定された転写制御因子の機能と細胞老化関連遺伝子発現の状態を調べる。

【結 果】

(1 および 2) B 細胞リンパ腫の主たる発生場所と考えられている胚中心において抗原特異的な B 細胞が抗原認識による増殖開始直後からの分裂速度と回数について検討した。細胞分裂回数をトラッキングできる色素を充填した抗原特異的 B 細胞を移植後に抗原投与し細胞分裂を誘導した。抗原投与 5 日目にはほぼすべての抗原特異的 B 細胞が 7 回以上分裂を終えていることがわかった。類似環境下で細胞老化関連蛋白質の発現誘導時期を調べたところ、B 細胞分裂回数の増加に伴って顕著に発現が誘導されることが明らかになった。また細胞老化関連蛋白質の生理的役割を明らかにするための遺伝子改変マウスの作成を行なった。具体的には新規にノックアウトマウスおよび細胞老化関連遺伝子発現レポーターマウスを作成した。その他に予定していた実験および解析については現在継続中である。(3 および 4) 細胞老化関連遺伝子をコードする遺伝子の loss of function 変異がヒトリンパ腫細胞においても高頻度に生じていることが明らかとなった。その他に予定していた実験および解析については現在継続中である。

【考 察】

本研究から正常な免疫応答における B 細胞の分裂回数に伴い、細胞老化関連遺伝子およびタンパク質の発現が顕著に誘導されることが明らかになった。ヒトリンパ腫において細胞老化関連遺伝子をコードする遺伝子の loss of function 変異が高頻度に生じており、B 細胞不死化に重要な働きをしている可能性が示唆された。今回新たに作成したノックアウトマウスおよびレポーターマウスを用いて正常な免疫機能における役割やリンパ腫発症における役割が詳細に明らかにできるものと考えられた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

リンパ腫や白血病といった血球癌は致死率が高く、有効な治療方法がない。従ってそれらに対する有効な治療薬を開発することが早急に必要とされている。本研究は癌細胞が生命を脅かす根源とも言える無限増殖能について、細胞増殖の制御異常の分子メカニズムを分裂回数の制限という観点から理解しようとするものであり、不死化 B 細胞を特異的な標的とすることで副作用が少なく癌細胞に有効な治療薬開発につながる可能性がある。

【参考・引用文献】

保田朋波流、Epstein-Barr ウイルスによる B 細胞リンパ腫発症とその免疫監視機構、長寿医療研究開発 26-22 研究班会議 (招待講演)、2017 年 3 月 10 日、国立長寿医療研究センター (愛知県大府市)

保田朋波流、Epstein-Barr ウイルスによる B 細胞リンパ腫発症とその免疫監視機構、第 21 回生物機能研究会、2017 年 6 月 17 日、広島大学先端物質科学研究科