

## B 細胞受容体による記憶 B 細胞分化制御

井上 毅

大阪大学免疫学フロンティア研究センター 分化制御

### 【研究の背景】

新型コロナウイルスやインフルエンザウイルス感染に対する生体防御メカニズムの解明は、学術的・社会的に重要かつ喫緊の課題である。これら感染症に対するワクチン療法は免疫記憶誘導を根幹としており、申請者はその反応の中心となる記憶 B 細胞が生体内で産生されるメカニズム解明に注力してきた。申請者は胚中心において記憶 B 細胞分化への運命決定を司る細胞内因子・現象に着目し、プラズマ細胞に分化する、あるいは胚中心に留まる B 細胞集団と比較して、相対的に低代謝状態にある B 細胞が記憶 B 細胞に分化しやすく、その分化過程で表面 B 細胞受容体(BCR)の発現が上昇してより多くの生存シグナルを獲得していく、というモデルを提唱した。

### 【目 的】

本研究では、未解決の問いとして残っている、ヘテロジニアスな胚中心 B 細胞集団の中で BCR 発現の勾配を生み出しているのは何か、そして BCR 発現制御が記憶 B 細胞分化にどのように寄与しているのかを分子レベルで明らかにすることを目的とする。

### 【方 法】

胚中心 B 細胞における BCR 発現量の違いが本当に記憶 B 細胞分化に寄与するのか、その因果関係を証明するため、人為的に表面 BCR 発現量の異なる、しかし親和性は同程度である胚中心 B 細胞を *in vivo* で共存させ、それらの記憶 B 細胞分化効率を検定するための予備実験を実施した。まずこのような BCR 配列を取得するため、胚中心 B 細胞および記憶 B 前駆細胞よりシングルセル単離による BCR 配列解析および抗体遺伝子クローニング、レパトア解析と親和性解析を行った。

### 【結 果】

インフルエンザウイルス感染マウス脾臓より、分化選択中の胚中心 B 細胞と、記憶 B 前駆細胞集団をシングルセル単離した。その際インデックスソーティングにより表面 BCR 発現量情報を取得した。単離したシングル B 細胞より BCR 遺伝子断片をクローニングしてリコンビナント抗体を作製し、抗原との親和性を BLI 法により生化学的に測定した。さらに、いくつかの BCR 配列を選択し、primary B 細胞に CRISPR/Cas9 システムによりこの配列をノックインする実験系を確立させることに成功した。

### 【考 察】

本助成期間で、研究目的のための基盤データを得ることに成功した。すなわち、表面発現量や、生化学性質が紐づいたウイルス抗原特異的 B 細胞の BCR 配列を取得し、*in vitro* で B 細胞にその配列をノックインすることができた。次の課題は、これら BCR ノックイン B 細胞をマウスに移入し、*in vivo* における B 細胞分化効率を検定することである。

**【臨床的意義・臨床への貢献度】**

免疫記憶は獲得免疫系における最も特徴的な現象の一つであり、記憶 B 細胞の産生・分化メカニズムを解明することは、獲得免疫系による生体防御機構の理解、そして効果的なワクチン開発のために極めて重要である。本研究は、モデル動物を用いての変異ウイルス防御に有効な記憶 B 細胞の産生・維持・活性化機構の分子メカニズムの解明に貢献するものであり、その成果は有効なワクチン開発への基盤的データを提供するものと期待される。