

長寿医療研究開発費 2019年度 総括研究報告（総合報告及び年度報告）

高齢者の感染症予防に向けたマウス B 細胞での Zizimin2 の解析（30-41）

主任研究者 坂本 明彦 国立長寿医療研究センター 研究開発研究員

研究要旨

2年間全体について

高齢者の感染症対策にワクチンは重要である。だが、高齢者ではワクチンの効果が弱いため、そのしくみを明らかにする必要がある。私たちは、胚中心の B 細胞から新規のグアニンヌクレオチド交換因子 Zizimin2 を単離するとともに、老齢マウスで Zizimin2 の発現量が低下することを見出した。そこで本研究では、B 細胞で Zizimin2 を欠失させ、免疫応答や免疫記憶への影響を解明することにした。B 細胞で Zizimin2 を欠失させると、外来抗原に対して高親和性の B 細胞が選別されにくくなることがわかった。また、2次免疫後の抗体産生細胞数が減ったことから、免疫記憶が抑制されることがわかった。このように、B 細胞での Zizimin2 の発現が免疫応答や免疫記憶に重要なことが明らかになった。

2019年度について

B 細胞で Zizimin2 を欠失させ、胚中心での B 細胞の選別への影響を検討した。B 細胞で Zizimin2 を欠失させると、外来抗原に対して高親和性の B 細胞が選別されにくくなることがわかった。そのしくみとして、B 細胞内のシグナル伝達が抑制されるだけでなく、濾胞性ヘルパーT 細胞の分化抑制が寄与することが新たにわかった。次に、Zizimin2 欠失による免疫記憶への影響を検討した。B 細胞で Zizimin2 を欠失させると、2次免疫後の抗体産生細胞数が減ることがわかった。このように、B 細胞での Zizimin2 の発現が免疫応答や免疫記憶に重要なことが明らかになった。

主任研究者

坂本 明彦 国立長寿医療研究センター 研究開発研究員

研究期間 2018年4月1日～2020年3月31日

A. 研究目的

高齢者の感染症対策にワクチンは重要である。ワクチンの接種により抗体の産生や免疫記憶の形成が促され、感染症の予防につながることを期待される。だが、高齢者ではワクチンの効果が弱いため、そのしくみを明らかにし、感染症対策に応用する必要がある。

B細胞はワクチンの接種により活性化し、胚中心を形成する。胚中心では、抗原への親和性が高いB細胞が選別され、抗体産生細胞やメモリーB細胞へ分化する。私たちは、胚中心のB細胞から新規の *Zizimin2* 遺伝子を単離し、グアニンヌクレオチド交換因子として細胞骨格を制御することを明らかにした。また、老齢マウスの胚中心B細胞で *Zizimin2* の発現量が低下することを見出した。そこで本研究では、B細胞で *Zizimin2* を欠失させ、免疫応答や免疫記憶への影響を解明することにした。

B. 研究方法

2年間全体について

B細胞または胚中心B細胞特異的に *Zizimin2* が欠失したマウスを作り、モデル抗原NPに対する免疫応答や免疫記憶を解析した。さらに、B細胞やメモリーB細胞を移植したマウスで免疫応答を解析し、細胞レベルでメカニズムを検討した。

2019年度について

B細胞で *Zizimin2* を欠失させ、胚中心でのB細胞の選別への影響を検討した。そのために、NP抗原で免疫したマウスから胚中心B細胞を分離し、抗体遺伝子の配列を1細胞レベルで解析した。次に、*Zizimin2* 欠失による免疫記憶への影響を検討した。そのために、B細胞または胚中心B細胞特異的に *Zizimin2* が欠失したマウスで、NP抗原に対する2次免疫応答を解析した。また、メモリーB細胞を移植したマウスの免疫応答を解析し、細胞レベルでメカニズムを検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え実験は、国立長寿医療研究センターの遺伝子組換え実験安全委員会から承認を得た上で、その規程に従って実施した。動物実験は、国立長寿医療研究センターの動物実験倫理委員会から承認を得た上で、その規程に従って実施した。

C. 研究結果

2年間全体について

胚中心の形成前後に関係なく胚中心B細胞で *Zizimin2* を欠失させると、外来抗原に対

し抗原特異的な B 細胞が少なくなることがわかった。また、抗体遺伝子への変異の挿入が減り、抗原への親和性が高い B 細胞も少なくなった。そのしくみとして、B 細胞内のシグナル伝達が抑制されることと、B 細胞の選別に重要な濾胞性ヘルパーT 細胞の分化抑制が寄与することがわかった。

B 細胞で *Zizimin2* を欠失させてもメモリーB 細胞の形成に影響はなかったが、2 次免疫後の抗体産生細胞は少なくなった。一方、胚中心 B 細胞やメモリーB 細胞で *Zizimin2* を欠失させても、2 次免疫後の抗体産生細胞数に影響はなかった。

2019年度について

B 細胞で *Zizimin2* を欠失させると、外来抗原に対し抗原特異的な B 細胞が少なくなることがわかった (図1)。また、抗体遺伝子への変異の挿入が減り、高親和性の変異をもつ B 細胞も少なくなった。そのしくみとして、B 細胞内のシグナル伝達が抑制されるだけでなく、濾胞性ヘルパーT 細胞の分化抑制が寄与することが新たにわかった。

B 細胞で *Zizimin2* を欠失させてもメモリーB 細胞の形成に影響はなかったが、2 次免疫後の抗体産生細胞は少なくなった (図2)。一方、胚中心 B 細胞やメモリーB 細胞で *Zizimin2* を欠失させても、2 次免疫後の抗体産生細胞数に影響はなかった。

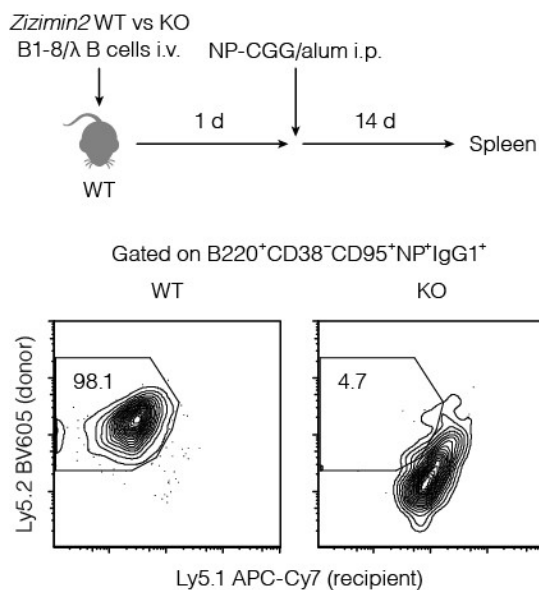


図1 *Zizimin2* 欠失による抗原特異的な胚中心 B 細胞への影響
野生型 (WT) と *Zizimin2* 欠失型 (KO) の B1-8/λ B 細胞 (Ly5.2) を移植後 NP-CGG で免疫し、抗原特異的な胚中心 B 細胞のうちドナー由来の細胞の割合をフローサイトメトリーで解析した。

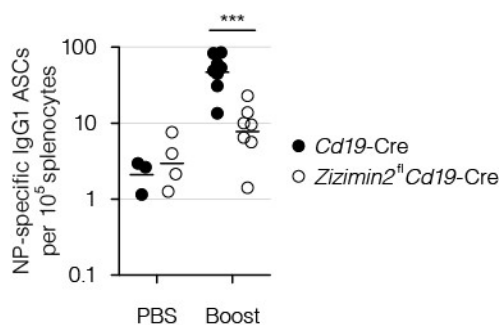
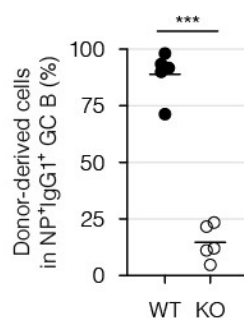


図2 *Zizimin2* 欠失による免疫記憶への影響
Cd19-Cre と *Zizimin2^{fl}Cd19-Cre* マウスを NP-CGG で免疫し、28 日後に PBS または NP-CGG (boost) を投与して、さらに 7 日後に脾臓の抗体産生細胞 (ASC) 数を ELISpot 法で解析した。

D. 考察と結論

本研究では、B細胞で Zizimin2 を欠失させ、免疫応答や免疫記憶への影響を検討した。B細胞で Zizimin2 を欠失させると、外来抗原に対して高親和性の B細胞が選別されにくくなることがわかった。また、2次免疫後の抗体産生細胞数が減ったことから、免疫記憶が抑制されることがわかった。このように、B細胞での Zizimin2 の発現が免疫応答や免疫記憶に重要なことが明らかになった。老齢マウスの胚中心 B細胞では Zizimin2 の発現量が低下したことから、免疫老化への Zizimin2 の関与が興味深い。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

2018年度

なし。

2019年度

- 1) 丸山光生、坂本明彦、森田悠治、高岡晃教 免疫の老化：感染防御と栄養介入の最前線 薬学雑誌 140(3) 391-393 2020年3月

2. 学会発表

2018年度

- 1) 坂本明彦、丸山光生 Involvement of DOCK11 in B-cell responses against T cell-independent type 2 antigens 第45回日本免疫学会学術集会 2018年12月10日 福岡
- 2) 丸山光生、坂本明彦、森田悠治、高岡晃教 免疫の老化：感染防御と栄養介入の最前線 日本薬学会第139年会 2019年3月21日 千葉

2019年度

- 1) 坂本明彦、丸山光生 B細胞の免疫応答における DOCK11 の関与 第42回日本基礎老化学会大会 2019年6月8日 仙台
- 2) 坂本明彦、錦見昭彦、高岡晃教、丸山光生 抗原特異的 B細胞の増殖における DOCK11 の寄与 第42回日本分子生物学会年会 2019年12月6日 福岡
- 3) Contribution of DOCK11 to the expansion of antigen-specific B-cell populations

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。