

# B細胞の生成と成熟、維持の研究を創薬にも活かす

京都大学 医学研究科 次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点(AKプロジェクト) グループリーダー

ひきだまさき  
足田正喜 特定教授

B細胞は骨髄で造血幹細胞から前駆細胞が作られた後、脾臓などに移動し、T細胞の助けを受けて形成される胚中心でさらに分化・成熟する。そこで抗原がB細胞表面の抗原受容体(BCR)に結合することによって活性化されると、多くの段階を経て記憶B細胞と、免疫グロブリンを産生する形質細胞に分化する。抗原に一度感作されて応答した(一次応答)後に、一定期間が過ぎてから再び感作したときに抗体を産生する「記憶応答」(二次応答)は主に記憶B細胞の機能によるものと考えられている。ヒトではこの記憶B細胞は記憶を持ったまま、数十年も生きる。

京都大学 医学研究科 次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点(AKプロジェクト) グループリーダーの足田正喜 特定教授は、このB細胞の生成や維持、運命決定について精力的に研究している。

## 記憶B細胞の分化や維持に不可欠な分子を発見

足田特定教授らの研究グループは、2009年、記憶B細胞が生まれて生き続けるためには、抗原受容体からのシグナル伝達の上流に位置する分子PLC $\gamma$ 2が鍵を握ることを明らかにしている。

PLC $\gamma$ 2をはじめとする抗原受容体の近くに存在するシグナル分子は1990年代から2000年代に概ね発見されており、PLC $\gamma$ 2を経たシグナルはその下流でrasとCa $^{2+}$ の2つのパスウェイに分岐している。このことはPLC $\gamma$ 2ノックアウトマウスによっても明らかになった。

ただ、免疫応答を調べる際、PLC $\gamma$ 2のように重要な遺伝子を欠失すると全身のB細胞が前駆細胞の段階から分化できなくなり、成熟B細胞による免疫応答が正常に観察できない。そこで足田特定教授は、マウスが大人になってから遺伝子が欠失するコンディショナル・ノックアウトマウスの作製を目指した。成熟B細胞が胚中心でIgGにクラススイッチする際にPLC $\gamma$ 2遺伝子が発現停止するコンディショナル・ノックアウトマウスでは胚中心のB細胞の数が減少しており、また、記

憶B細胞の生成後にPLC $\gamma$ 2遺伝子を欠失させたものでは記憶B細胞が減



「「薬になるのか」という視点で考えるようになった」  
足田 正喜 特定教授

少していること、さらにPLC $\gamma$ 2遺伝子を欠失した成熟B細胞を培養して、抗原受容体で刺激しても生存率が

上がらないことを見出した。このことから「PLC $\gamma$ 2が記憶B細胞の生成や維持に必須で、その数をコントロールしていることがわかった」と話す。

最近では、胚中心に入らず、体細胞突然変異を経ずにできる記憶B細胞と、胚中心で作られる記憶B細胞がともに二次応答に関連していることを発見した研究にも参加、さらに解析を進めている。

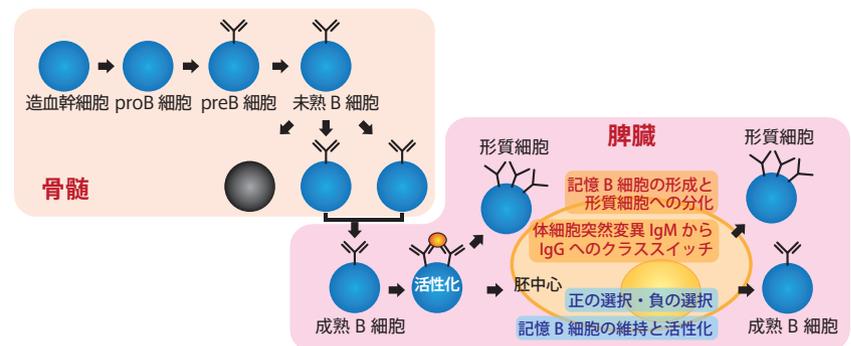


図1 B細胞の生成・成熟・分化と抗原受容体(BCR)シグナル

成熟B細胞は抗原が抗原受容体(BCR)に結合することで活性化されると、一部は抗体を産生する形質細胞に直接変わる。一方、一部の活性化された成熟B細胞は胚中心で抗体可変部(抗原によって形を変えられる部分)の遺伝子に体細胞突然変異を起こし、刺激となっている抗原に対して新しく結合できるようになったB細胞へと変化する。そして、より結合しやすいB細胞が選択されたり、自己応答性を持ってしまったB細胞が殺されたりする(正の選択・負の選択)。また、生成する抗体(免疫グロブリン)をIgMからIgGなど別の種類に変えることも起こる(クラススイッチ)。結果として、抗原からの刺激とT細胞からの指令に応じて、抗体を産生する形質細胞と抗原の記憶を保持する記憶B細胞への分化が行われる。

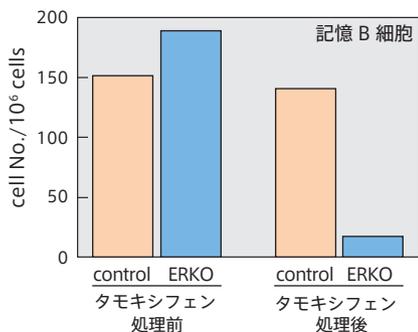
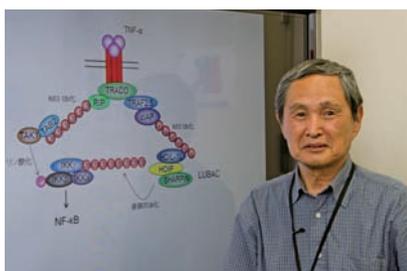


図2 PLC  $\gamma$  2 は記憶 B 細胞の維持に重要

PLC ERKO マウスは 2 種類の遺伝子改変マウスを掛け合わせて生まれたコンディショナル・ノックアウトマウスで、通常は記憶 B 細胞を正常に生成・維持することができる。また、タモキシフェンを投与すると PLC  $\gamma$  2 が欠失する。この PLC ERKO マウス群とコントロール群でタモキシフェン投与後 10 日目に記憶 B 細胞の平均値と比較すると、PLC ERKO マウス群では記憶 B 細胞が有意に減っていた。これは PLC  $\gamma$  2 が記憶 B 細胞の維持に必要であることを示唆する。

## コンディショナル・ノックアウトマウスの作製が転機に

疋田特定教授は、大学で抗体をセンサーに使う抗体工学を研究し、その過程で B 細胞の改変によって、よりよい抗体を作る目的から免疫学の基礎研究に入った。そして、生物学の流れに呼応して、分子、細胞から個体へと研究ターゲットを広げてきた。研究上の大きなターニングポイントになったのは、黒崎知博教授の指導の下「2003 年にハーバード大学の B 細胞研究の第一人者 Klaus Rajewsky 教授の研究室でコンディショナル・ノックアウトマウスの作



融合ラボ研究統括者 渡邊 武 特任教授



ベックマン・コールター社『MoFlo™ Astrios™』と疋田特定教授

免疫システムには多くの種類の細胞が関わっている。中でも重要な働きをしているリンパ球の B 細胞や T 細胞はサブタイプが多く、それらの機能も相互に関連したり、変化したりするため、その研究においては細胞ソーティングが大きな鍵となる。疋田特定教授は世界最速の高速度自動細胞解析分取装置“MoFlo™”シリーズのヘビーユーザー。工学部出身で器械に強い疋田特定教授は立ち上げや調整にも関わっている。最高速の“MoFlo™ Astrios™”は「ソーティングのスピードが速く、細胞に合わせて差圧を微調整して最適化できるので、細胞の生存率がいいのも大きい。自己免疫疾患の患者さんの末梢血 1 滴を大事な検体として、多種多様な細胞の中から目的の細胞を探すのに助かっている」と話す。また、回収する液量の体積が少ないため、培地に回収しても培地が薄まらず、そのまま使えることも評価している。最大 7 本のレーザーを搭載できるが、現在は 4 本のレーザーを用い、6 色や 7 色の蛍光色素で細胞の表面抗原を検知している。

製方法を学んだこと」という。それによって研究テーマが抗原感作させた野生型マウスで起こる現象の解析から、B 細胞の生成や維持に関連する分子の発見と個体での機能解析に大きく変わった。

そして、2008 年に AK プロジェクトに加わってからは、「マウスで見られる症状と同様の病気がヒトにもあるのか、効果がありそうな物質を分子標的薬にする場合、ターゲットに対する選択性を出せるのか、などと見ている現象や物質を“薬になるのか”という視点で考えるようになった」。基礎研究を続けながら、疾患や薬との関連を調べるのは勉強が必要で手間もかかるが、「世のため人のため、ひいては世界平和のため(笑)。医師や製薬の専門家から具体的なアドバイスをもらえる、よい環境で仕事をさせてもらっている」と話す。

今後は、新規に発見したシグナル分子の調節機構の解析を含め、胚中心での B 細胞の選択機構の研究をさらに進める。また、ヒト iPS 細胞を

用いてコンディショナル・ヒト化ノックアウトマウスを作製し、ヒトの免疫応答に近い現象を見るプラットフォームを作成するのも目標だ。

AK プロジェクトで行っている、自己免疫疾患をターゲットとする創薬では、自己応答性を持つ記憶 B 細胞が起こす異常な免疫応答のリセットを目指す。「自己応答性の強い記憶 B 細胞の生成を元から断つのと、いったんできた記憶 B 細胞を減らすのと、両方を狙っていきたい」。

B 細胞を軸に基礎研究から創薬まで、“木も見て森も見る”疋田特定教授の研究成果が期待される。

お問い合わせ：  
ベックマン・コールター株式会社  
TEL: 0120-826-777  
www.beckmancoulter.co.jp

