

生体内における免疫記憶の成立維持メカニズムの解明

千葉大学大学院 医学研究院 免疫発生学
常世田 好司

1. 背景と目的

免疫システムは、細菌やウイルスなどの感染源を記憶し、再度侵入した同種の感染源を素早くかつ強く排除することができる。この免疫記憶という現象において、記憶ヘルパーT細胞は中枢として働くと考えられている。それらの細胞の非存在下では、長寿命プラズマ細胞や記憶キラーT細胞の発生や維持、二次応答に欠損が見られる¹⁾。そのような免疫記憶の調節において著しく重要であるにもかかわらず、生体内における記憶ヘルパーT細胞の分化や多様性、維持、再活性化についてほとんど知られていない。

長寿命プラズマ細胞は骨髄に好んで定着する²⁾。プラズマ細胞は発生後に骨髄へ移動するが、骨髄中ではCXCL12産生細胞上で記憶細胞として維持されている³⁾。つまり長寿命プラズマ細胞にとってCXCL12産生ストローマ細胞は生存のために必要な“場”を供給する微小環境（ニッチェ）であると考えられている。しかしながら、記憶ヘルパーT細胞に関しては、そのニッチェだけでなく、維持されている臓器さえも解明されていなかった。そこで、最近われわれは記憶ヘルパーT細胞が二次リンパ器官において発生後3-8週間で骨髄へ移動し、その後何ヶ月も骨髄に定着し続けることを発見した⁴⁾。さらに記憶ヘルパーT細胞は、骨髄中に存在するIL-7産生ストローマ細胞上で休止した状態で維持されていることが分かり、このストローマ細胞が記憶ヘルパーT細胞のニッチェであることも明らかにした^{5,6)}。しかしながら、記憶ヘルパーT細胞がどのように形成しているのかについては不明な点が多い。そこでわれわれは、免疫後に起こる二次リンパ器官から骨髄へ移動するという生体内ダイナミクスに着目し研究を行った。その中でも、記憶ヘルパーT細胞の形成に必須なエフェクターヘルパーT細胞の骨髄への移動において、CD69分子が不可欠な役割をしていることを明らかにしたので報告する。

2. 方法

記憶ヘルパーT細胞が骨髄中で休止状態にもかかわらず、活性化マーカーCD69分子を発現していることに注目し、当研究室で作製されたCD69遺伝子欠損マウス⁷⁾を解析することで、記憶ヘルパーT細胞の形成におけるCD69分子の役割を明らかにする。さらに、CD69分子が記憶ヘルパーT細胞形成のどの段階で、またどのように関与するかを解析するため、フローサイトメトリーや共焦点顕微鏡を用いてCD69遺伝子欠損ヘルパーT細胞の局在も更に解析した。また、CD69特異的抗体のFab断片によって脾臓で活性化したヘルパーT細胞を処理しマウスに移植することで、骨髄への移行におけるCD69の役割を解析した。

骨髄ヘルパーT細胞の免疫システム全体における役割を解析するために、そのT細胞のみが欠損したCD69遺伝子欠損マウスの液性免疫反応、特に抗体価やプラズマ細胞数に差がないか解析する。さ

らに、CD69 遺伝子欠損マウスでは、成熟した液性免疫反応のための濾胞ヘルパーT 細胞や胚中心 B 細胞、胚中心の形成は正常かどうかとも同時に解析した。

3. 結果

記憶ヘルパーT細胞の形成における CD69 分子の役割を明らかにするために CD69 遺伝子欠損マウスを解析した結果、欠損マウスでは免疫後の脾臓でのエフェクターヘルパーT細胞の分化が正常であるにもかかわらず、骨髄の記憶ヘルパーT細胞のみを欠損することが明らかになった(図1)。そこで、CD69分子がどの段階で記憶ヘルパーT細胞の形成に関与するかを解析した結果、脾臓やリンパ節、末梢血中の CD69 欠損抗原特異的ヘルパーT細胞

には異常が見られなかったにもかかわらず、骨髄中の抗原特異的ヘルパーT細胞のみ大きな欠損が見られた。さらに CD69 特異的抗体による骨髄への移行能への効果を解析した結果、脾臓への移行には異常がなかったにもかかわらず、骨髄への移行には有意に異常が見られた(図2)。これらのことから、CD69は二次リンパ器官で活性化したヘルパーT細胞が骨髄に移動するためのホーミングレセプターとして働いていることが示唆された。

CD69 遺伝子欠損マウスの液性免疫反応を評価したところ、免疫早期の抗体価や脾臓におけるプラズマ細胞数には差がないにもかかわらず、高親和性抗体価や骨髄におけるプラズマ細胞数には著しい欠損が見られた。CD69 遺伝子欠損マウスでは、濾胞ヘルパーT細胞や胚中心 B細胞、胚中心の形成は正常に見られることより、今まで知られていない液性免疫における胚中心反応以降でのヘルパーT細胞の役割が明らかになったと考えている。

4. 考察

今回の研究により、骨髄記憶ヘルパーT細胞の形成における CD69 分子の役割を明らかにしただけでなく、液性免疫において必要な骨髄記憶ヘルパーT細胞の役割をも明らかにしたことになる。今まで活性化マーカーの1つとしてのみ考えられてきた CD69は骨髄へ移行するための接着分子として働き、記憶細胞の発生に不可欠であることがわかった。また、ヘルパーT細胞は今まで胚中心反応以降は B細胞を制御していないと考えられていたが、それ以降にも関与することを初めて報告することになった。現在、骨髄記憶ヘルパーT細胞が高親和性抗体の産生や骨髄プラズマ細胞への分化において、どのように制御しているのか明らかにしようとしている。特に、プ

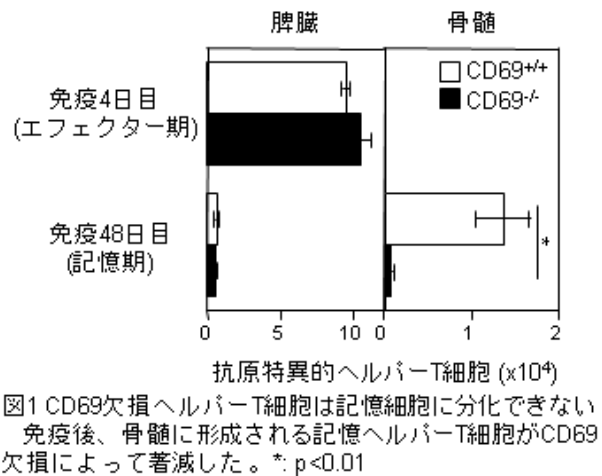


図1 CD69欠損ヘルパーT細胞は記憶細胞に分化できない
免疫後、骨髄に形成される記憶ヘルパーT細胞がCD69欠損によって著減した。*: p<0.01

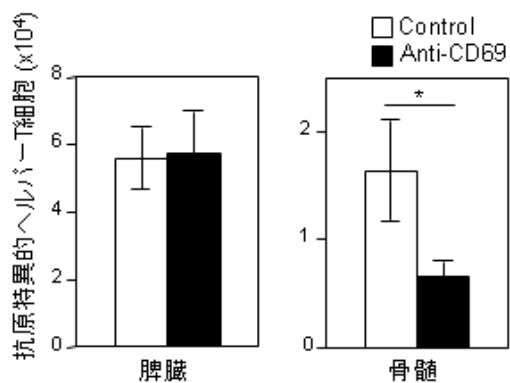


図2 抗CD69抗体による障害で活性化ヘルパーT細胞は骨髄に移行できない
免疫4日後の活性化ヘルパーT細胞は抗CD69抗体による処理によって、移植後骨髄への移行が阻害された (*: p<0.05)

ラズマ細胞の骨髄への移行または骨髄での維持に関与していると考え、さらなる研究を行っている。これらの解析によって、従来予想されていた役割以外の新しい記憶ヘルパーT細胞の役割を明らかにすることができた。

5. 発表論文と参考文献

1. McKinstry, K. K., Strutt, T. M., Swain, S.L. The potential of CD4 T-cell memory. *Immunology*, **130**, 1-9, 2010.
2. Moser, K., Tokoyoda, K., Radbruch, A., MacLennan, I., Manz, R. A. Stromal niches, plasma cell differentiation and survival. *Curr. Opin. Immunol.*, **18**, 265-270, 2006.
3. Tokoyoda, K., Egawa, T., Sugiyama, T., Choi, B. I., Nagasawa, T. Cellular niches controlling B lymphocyte behavior within bone marrow during development. *Immunity*, **20**, 707-718, 2004.
4. Tokoyoda, K., Zehentmeier, S., Hegazy, A. N., Albrecht, I., Grün, J. R., Löhning, M., Radbruch, A. Professional memory CD4⁺ T lymphocytes preferentially reside and rest in the bone marrow. *Immunity*, **30**, 721-730, 2009.
5. Tokoyoda, K., Zehentmeier, S., Radbruch, A. Organization and maintenance of immunological memory by stroma niches. *Eur. J. Immunol.*, **39**, 2095-2099, 2009.
6. Tokoyoda, K., Hauser, E. A., Nakayama, T., Radbruch, A. Organization of immunological memory by stroma. *Nat. Rev. Immunol.*, **10**, 193-200, 2010.
7. Murata, K., Inami, M., Hasegawa, A., Kubo, S., Kimura, M., Yamashita, M., Hosokawa, H., Nagao, T., Suzuki, K., Hashimoto, K., Shinkai, H., Koseki, H., Taniguchi, M., Ziegler, S. F., Nakayama, T. CD69-null mice protected from arthritis induced with anti-type II collagen antibodies. *Int. Immunol.*, **15**, 987-992, 2003.