

所属	医学部免疫学教室	氏名	宮澤 正顯
----	----------	----	-------

課題名	免疫系のエイジングとその制御に関する研究		
研究分担者	氏名	所属	職位
	博多 義之	医学部免疫学教室	講師
	高村 史記	医学部免疫学教室	講師
	月本 翔太	医学部麻酔科学教室	助教

研究概要

ウイルス感染に対する宿主抵抗性機構には、細胞内抵抗性機構（細胞内免疫）、自然免疫、獲得免疫の各段階がある。このうち、獲得免疫機構は明確にエイジングの影響を受け、特に一次免疫器官におけるナイーブなリンパ球の形成は、加齢と共に低下していく。一方、一旦抗原刺激を受けて形成されたメモリー細胞は、ヒトの一生に亘る寿命を持つことが知られている。二次リンパ組織におけるメモリーT細胞の数は恒常的増殖により維持されているため、高齢者ではナイーブT細胞に較べてメモリーT細胞の比率が高くなる。メモリーT細胞には、血液と二次リンパ組織とを循環するセントラルメモリー細胞と、循環中から炎症刺激により末梢組織に流出するエフェクターメモリー細胞があるとされてきたが、最近の研究により、皮膚や粘膜組織にはそこに常在し、循環しないレジデントメモリー細胞が存在することが示されている。レジデントメモリー細胞は、第一線の感染防御に重要な役割を果たすと考えられているが、その維持機構は明らかでない。本研究の目的の一つは、インフルエンザウイルス感染をモデルとして、呼吸器系組織のレジデントメモリー細胞維持機構を明らかにすることである。

一方、細胞内免疫機構の一翼を担うのは、一本鎖DNAを標的とするシチジンデアミナーゼAPOBEC3である。APOBEC3はI型インターフェロンによってその発現が誘導され、レトロウイルスなどの細胞内複製過程で生じる一本鎖DNAを標的に、そのシトシン塩基をウラシルに置換して、複製中間体DNAの切断やウイルスゲノムの変異誘導による複製阻害を引き起こす。一方で、APOBEC3は宿主細胞ゲノムにも変異を誘発すると考えられ、最近ヒトの肺癌や子宮癌でAPOBEC3のデアミナーゼ機能によると考えられる塩基置換の集積が注目されている。しかしながら、APOBEC3が加齢の過程で果たす役割は明らかでない。

我々は、APOBEC3遺伝子ノックアウトマウスを長期間飼育観察する過程で、加齢により高い頻度でBリンパ腫が自然発生することを見出した。マウスに自然発症するリンパ腫はT細胞に由来するものが大半であり、Bリンパ腫の発生は珍しい。そこで、APOBEC3はその生理機能として、生涯を通じたBリンパ球ゲノムの監視を行っているとの仮説の下、FLAGノックインマウスを用いたAPOBEC3の生理的発現の解析と、ノックアウトマウスにおける加齢によるリンパ腫発生機構の解明を進めている。

研究成果

今年度は、先ずインフルエンザ感染の実験系で、肺気道組織におけるレジデントメモリー形成機構を解析した。既に、インフルエンザウイルス感染時に肺の末梢気道周辺に組織修復反応が生じ、その部にレジデントメモリー細胞が集積することを明らかにしている。しかしながら、気道粘膜周辺の間質に形成された組織修復巣に集積するレジデントメモリー細胞が、どのようにして気道粘膜に移動するのかは明らかでなかった。

今年度の研究により、気道粘膜に分布するレジデントメモリー細胞は、流血中のエフェクターメモリー細胞から分化するのではなく、間質の修復巣にあるCXCR6ケモカイン受容体陽性のレジデントメモリー前駆細胞が、気道上皮のCXCL16によって誘引されることで、継続的に上皮内に移動していることが明らかとなった。

現在、ヒトの肺で同様のレジデントメモリー形成維持機構が機能しているか否かを解析している。

一方、APOBEC3の宿主細胞ゲノム維持における生理機能については、CRISPR-Cas9法によってAPOBEC3タンパク質にin-frameでFLAGタグを挿入したノックインマウス系統を複数樹立した。これを用いて免疫組織化学およびフローサイトメトリー法で生理的なAPOBEC3タンパク質の発現を解析したところ、二次リンパ組織では特に胚中心でAPOBEC3の選択的な高発現が見られること、生体外でBリンパ球をLPSにより刺激すると、APOBEC3の発現が上昇し、その細胞内分布は主に細胞質であるが、一部は核膜直下の核内にも移動する可能性があることが示された。

加齢におけるAPOBEC3の生理機能変化について、現在ノックインマウスにおけるAPOBEC3発現分布と量の変化を、経時的に解析している。

研究発表

1. Hakata, Y., S. Ishikawa, T. Ohtsuki, M. Miyazawa and M. Kitamatsu. Intracellular delivery of a peptide nucleic acid-based hybrid of an autophagy-inducing peptide with a cell-penetrating peptide. **Organic & Biomolecular Chemistry** **18**:1978–1986, 2020.
2. Hakata, Y., J. Li, T. Fujino, Y. Tanaka, R. Shimizu, and M. Miyazawa. Mouse APOBEC3 interferes with autocatalytic cleavage of murine leukemia virus Pr180gag-pol precursor and inhibits Pr65gag processing. **PLOS Pathogens** **15**: e1008173, 2019.
3. Haratani, K., K. Yonesaka, S. Takamura, O. Maenishi, R. Kato, N. Takegawa, H. Kawakami, K. Tanaka, H. Hayashi, M. Takeda, N. Maeda, T. Kagari, K. Hirotsu, J. Tsurutani, K. Nishio, K. Doi, M. Miyazawa and K. Nakagawa. U3-1402 sensitizes HER3-expressing tumors to PD-1 blockade by immune activation. **J. Clin. Invest.** **130**:374–388, 2019.
4. Takamura, S., S. Kato, C. Motozono, T. Shimaoka, S. Ueha, K. Matsuo, K. Miyauchi, T. Masumoto, A. Katsushima, T. Nakayama, M. Tomura, K. Matsushima, M. Kubo, and M. Miyazawa. Interstitial-resident memory CD8⁺ T cells sustain frontline epithelial memory in the lung. **J. Exp. Med.** **216**: 2736–2747, 2019.
5. 塚本徹雄, 河原佐智代, 宮澤正顯. フレンドウイルス感染マウスにおける白血病発症機構. **Bio Clinica** **34**: 43–49, 2019.
6. Hakata, Y., H. Michiue, T. Ohtsuki, M. Miyazawa, and M. Kitamatsu. A leucine zipper-based peptide hybrid delivers functional Nanog protein inside the cell nucleus. **Bioorg. Med. Chem. Let.** **29**:878–881, 2019.