

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。本研究の第1の目的は、マウスのインフルエンザウイルス感染モデルやヒト腫瘍の系で、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と発がんとの関係が注目されている。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。本研究の第2の目的は、生理的に発現するAPOBEC3の組織分布と細胞内分布を明らかにし、それらの加齢による変化と発がんや炎症性疾患との関係を解明することである。

研究成果

マウスのインフルエンザウイルス感染モデルによる2019年度までの研究で、気道粘膜に分布するレジデントメモリーT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、末梢気道周囲の組織修復巣にある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、気道上皮の発現する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。しかしながら、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は明らかでなかった。そこで2020年度は、手術摘出例のヒト肺における非腫瘍部の標本を解析し、マウスで観察されたと同様のリンパ球集簇が見出されるか否かを検討した。その結果、少数ではあるが、肺胞内に線維化と上皮再生が起こる部位の周囲で、中小の血管周囲に明瞭なリンパ球集簇が観察される例が見出され、集簇するリンパ球はT細胞が主体であった。一方、ウイルス感染後に重篤なリンパ球性心筋炎を発症した小児例で、肺の所属リンパ節に特異な形質芽細胞増殖病変を観察した。各種細胞マーカーの解析から、何らかの感染性因子に対するメモリーBリンパ球の反応により、急激な形質芽細胞の形成と集積が起こっている例と考えられた。

一方、APOBEC3分子の生理的な組織および細胞内分布を解明するため、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により生理的なAPOBEC3タンパク質の発現分布を解析したところ、二次リンパ組織の胚中心細胞にAPOBEC3の選択的な高発現が認められた。驚くべきことに、小腸粘膜組織では、パイエル板の胚中心細胞よりも高いレベルで粘膜上皮細胞にAPOBEC3タンパク質の恒常的な発現が認められた。現在、消化管粘膜上皮におけるAPOBEC3発現の生理的意味と、炎症刺激や常在菌刺激によるその変化について解析を展開している。さらに、ヒトの子宮癌や卵巣癌におけるAPOBEC3発現について解析を行っており、2020年度は複数の細胞株を用いて、エス

トロゲン刺激や IL-6 刺激による APOBEC3 発現変化を解析した。

なお、2020 年度で特筆すべきこととして、新型コロナウイルス感染拡大下における加齢医学研究について啓蒙的な活動を広汎に実施し、抗加齢医学会のメディアセミナーや同学会専門医・指導士認定委員会主催の基礎・受験編講習会において、加齢と抗ウイルス免疫応答の関係について講演を行った。

研究発表

Hakata, Y. and M. Miyazawa. Deaminase-independent mode of antiretroviral action in human and mouse APOBEC3 proteins. *Microorganisms* 8:1976, 2020.

Miyazawa, M. Immunopathogenesis of SARS-CoV-2-induced pneumonia: Lessons from influenza virus infection. *Inflammation and Regeneration* 40:39, 2020.

Ohtani, H., Y. Nozaki, T. Murakami, L. Lin, J. Shiono, and M. Miyazawa. An autopsy case of acute myocarditis with intriguing findings in lymph node characterized by proliferation of reactive plasmablasts. *J. Clin. Exp. Hematopathol.* 60:108-112, 2020.

Meira e Cruz, M., M. Miyazawa, D. Gozal. Putative contributions of circadian clock and sleep in the context of SARS-CoV-2 infection. *Eur. Resp. J.* 55: 2001023, 2020.

宮澤正顯. 感染症の時代を生きる. *合理化* 546:11-14, 2021.

宮澤正顯. 免疫. *解明病理学第4版* (青笹克之, 加藤光保, 菅野祐幸編), 医歯薬出版 印刷中, 2021.

宮澤正顯. 新型コロナウイルス感染症の病態と宿主免疫応答. 抗加齢医学会専門医・指導士認定委員会主催大阪／基礎・受験編講習会, 2021年1月24日.

宮澤正顯. ポストコロナ社会の都市住宅. 公益社団法人都市住宅学会大会 第28回学術講演会, 2020年11月28日.

宮澤正顯. 感染症 (COVID-19) に対して今後どのように立ち向かっていくか. 2020年度(公社)全日本鍼灸学会第40回近畿支部学術集会, 2020年11月23日.

宮澤正顯. ウイルス感染による肺炎の発症機構と免疫学的記憶. 第27回 日本脊椎・脊髄神経手術手技学会, 2020年10月2-3日.