

公益財団法人 三重医学研究振興会
令和元年度医学研究助成金研究成果報告書

令和2年 2月 3日

三重医学若手研究者賞（医学研究部門）

報告者 氏名（年齢） 景山 裕紀（35歳）

所属・職名 三重大学医学部附属病院 血液内科・医員

受賞の感想と今後の抱負

この度、令和元年度三重医学若手研究者賞という荣誉ある賞を頂戴し、大変光栄に思います。ご指導いただいた片山直之教授、遺伝子・免疫細胞治療学の三輪啓志先生、および血液内科の諸先生方に深謝申し上げます。本研究では成人造血幹細胞に、自然免疫に重要な役割を果たしているB1細胞を産生する能力があることを世界で初めて明かにしました。本受賞を励みとし、より一層研究に精進していきたいと考えております。

受賞テーマ

ヒトB1細胞の起源に関する検討

研究の概要と将来展望

B1細胞は免疫グロブリンM (IgM)を自然産生する稀なB細胞分画として1983年に初めて報告され、通常のB細胞であるB2細胞とは区別される。B1細胞の機能、表面形質、起源はB2細胞とは異なることが知られている。造血幹細胞から発生するB2細胞とは異なり、B1細胞は造血幹細胞発生前の胎生期に胚前駆細胞から発生し、その後胎生期の肝臓および骨髄の造血幹細胞が主な産生源となり、出生後は骨髄造血幹細胞からも産生されることがマウスでの研究により明らかとなっている。

一方で、ヒトB1細胞については2011年にその細胞表面形質が提案されたばかりであり、その起源について検討された報告は本研究以前には1報のみであった。その報告では、ヒト骨髄および臍帯血中の造血幹細胞を採取し免疫不全マウスに移植したところ、ヒト細胞の着生と同時にB1細胞が出現したことが示され、*in vivo*で造血幹細胞がB1細胞を産生しうることが初めて証明された。しかしながら、この報告では、B1前駆細胞が移植片に混入している可能性が否定できず、また、あくまでもマウスの骨髄環境下でヒト造血幹細胞のB1細胞産生能が示されたに過ぎず、B1細胞の供給および維持に成人造血幹細胞が実際に寄与しているかどうかは不明であった。また、マウスにおいては、B1細胞の起源を詳細に検討する方法として、成体造血幹細胞に特異的な遺伝子マーカーを標識し、それを追跡することで成体造血幹細胞がB1細胞の産生に寄与しているかどうか解析されているが、この手法は実験動物でのみ実現可能であり、ヒトで行うことは不可能である。

そこで、我々は発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) 患者の造血幹細胞における*PIGA* 遺伝子変異およびこの変異によって生じる異常血球 (GPIアンカー蛋白欠損血球) をマーカーとして用いることで、成人造血幹細胞がB1細胞産生に寄与しているかどうかを解明することを試みた。PNHは造血幹細胞に生じる遺伝子変異によって発症するクローナルな疾患であり、特記すべきことに、遺伝子変異の生じた造血幹細胞は各血球系統への分化能を失わずに分化成熟する。さらに、クローン性増殖を来たすものの良性疾患であることから、長期間にわたる追跡が可能である。

まず、診断後年数中央値10年の6例のPNH患者から末梢血を採取し、B1細胞分画での表面形質を解析したところ、解析した全ての症例でGPIアンカー蛋白欠損血球、すなわち*PIGA* 遺伝子変異血球を認めた (B1細胞のうちの3.79-8.39%)。これにより、一部のB1細胞は*PIGA* 変異を有する造血幹細胞から発生していることが証明された。次に、6例中3例の症例において、初回の末梢血採取から24、29、35ヶ月の期間を開けて再度末梢血を採取し同様の解析を行ったところ、3例とも初回と同様に2回目でもGPIアンカー蛋白欠損血球を一定の割合でB1細胞分画に認めた。これらの結果は、造血幹細胞由来のB1細胞が一時的に存在していたものを偶然に検出したのではなく、成人末梢血に恒常的に存在している可能性を示唆している。さらに、6例中2例の症例で、*PIGA* 遺伝子のDNAシーケンスを行ったところ1例では2ヶ所、もう1例では1ヶ所の*PIGA* 遺伝子の1塩基変異を検出した。これらの変異に特異的なTaqManプローブを作成し、各症例でB1細胞およびB2細胞 (ナイーブB細胞、メモリーB細胞)、好中球、単球、T細胞、NK細胞をセルソーターにより細胞分画ごとに採取し、各細胞分画中の*PIGA*変異アリル頻度をデジタルPCR法により測定した。その結果、両症例とも、B1細胞分画にみられた*PIGA*変異はその他の各種細胞分画にも同様に検出された。この結果から、B1細胞に生じた*PIGA*変異は、B1細胞特異的な前駆細胞に生じた変異ではなく、多系統への分化能を保持している造血幹細胞に生じた変異であることが証明された。

上記の結果から、PNH患者におけるB1細胞の一部はGPIアンカー蛋白欠損があり*PIGA*変異を有することが示され、少数ではある

が成人末梢血中の一部のB1細胞は、成人造血幹細胞から発生することが示された。本研究は成人造血幹細胞にB1細胞を産生する能力があることを示し、実際に*in situ*で末梢血B1細胞の維持に寄与していることを示した初めての報告であり、それらのことが評価されBlood誌に掲載された。

関連分野における本研究の特筆すべき点

造血幹細胞にB1細胞産生能があるかどうかを検討するには、免疫不全マウスを用いた異種移植実験を行うか、もしくはマウスの造血幹細胞に遺伝子操作を行いそれを追跡する方法が考えられる。しかしながら、上述のごとく、前者の方法ではヒト末梢血中の*in situ*での評価はできず、B1前駆細胞の混入の可能性があり、また、後者の方法はそもそもヒトでは実現不可能な実験手法である。そこで、我々はPNH患者の血液を用いることで、ヒトの*in situ*での造血幹細胞のB1細胞産生能を解析することを計画し、成人末梢血中の一部のB1細胞は、成人造血幹細胞から発生することを示した。

本研究は成人造血幹細胞にB1細胞を産生する能力があることを示した初めての報告となる。B細胞の機能を研究する免疫学分野だけでなく、造血幹細胞の分化成熟を研究する幹細胞学分野においても、ヒト造血幹細胞の新たな機能として注目されるものと期待される。

本研究の将来期待される点

本研究では、成人造血幹細胞にB1細胞を産生する能力があることが示されたが、造血幹細胞からどのような分化段階を経てB1細胞が産生されるのか、すなわち、B1細胞特異的な前駆細胞が造血幹細胞から早期に分化してくるのか、あるいは、他のリンパ球のように共通リンパ系前駆細胞から分化してくるのかは不明であり、さらなる研究が必要である。現在*in vitro*のB細胞培養系を用いて解析を行っている。

一方、B1細胞の起源についてのより詳細な解析が進むことで、造血器腫瘍や膠原病の病態の解明に繋がることが期待される。最近、急性リンパ性白血病やB細胞リンパ腫などのB細胞系腫瘍の一部においてB1細胞やB1細胞前駆細胞がそれらの腫瘍の起源となっている可能性を示した報告がなされている。また、B1細胞がCD4 T細胞を活性化させることで全身性エリテマトーデスの病態に関与している可能性も報告されている。ヒトB1細胞に関するさらなる理解が進むことで、これらの疾患のさらなる病態の理解や、引いては新たな治療戦略の開発につながることを期待される。

本研究に関連する代表的な原書学術論文（1篇）

Kageyama Y, Miwa H, Tawara I, Ohishi K, Masuya M, Katayama N. A Population of CD20+CD27+CD43+CD38lo/int B1 Cells in PNH Are Missing GPI-anchored Proteins and Harbor PIGA Mutations. Blood. 2019;134(1):89-92.
(IF: 16.562 Citation 2回)

略歴

2009年3月 三重大学医学部医学科卒業
2009年4月 済生会松阪総合病院初期研修医
2011年4月 三重大学医学部附属病院血液内科
2012年4月 松阪中央総合病院血液内科
2014年4月 鈴鹿中央総合病院血液内科
2014年4月 三重大学大学院医学系研究科博士課程
2018年4月 三重大学医学部附属病院血液内科

専門分野

血液内科学

医学博士・専門医資格など

日本内科学会 認定内科医・総合内科専門医・指導医
日本血液学会 血液専門医
日本エイズ学会 エイズ治療認定医