

新学術領域

ネオ・セルフ：ネオ・セルフの生成・機能・構造

領域ニュースレター Vol.2

発行日：2018年6月

Creation, function and structure of

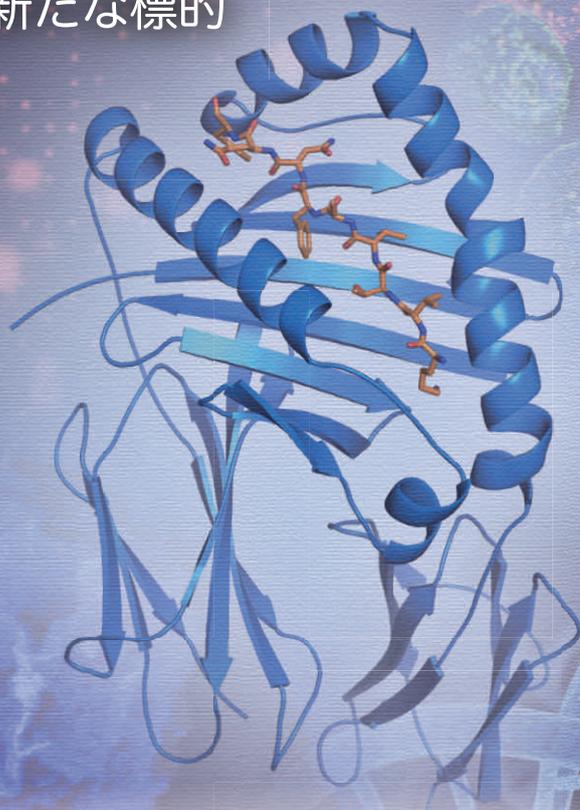
NEO-SELF

Non-self activates T cells and B cells

Volume 2

June 2018

疾患発症を駆動する
T細胞 / B細胞の新たな標的



NEWS LETTER

CONTENTS

領域代表あいさつ	01
トピックス ～注目の研究～	02
研究の進展	08
国際交流活動	30
班員の活躍	34
「ネオ・セルフ」若手の会だより	36
研究業績	39
2017年度 主なアウトリーチ活動	42

研究組織

		研究代表者・研究分担者		外部機関連携研究者	
総括班		松本 満	徳島大先端酵素学研		
		横須賀 忠	東京医科大・免疫		
計 画 班	A01 機能	松本 満	徳島大先端酵素学研	村田 茂穂	東京大院薬・蛋白質代謝
		吉開 泰信	九州大生体防御医学研		
		小笠原康悦	東北大加齢医学研		
		宇高 恵子	高知大医・免疫	西川 博嘉	国立がん研究センター
		西村 泰治	熊本大院・生命科学		
	A02 構造	岸 裕幸	富山大院医薬・免疫		
		横山 茂之	理研横山構造生物学	山本 健	久留米大医・医化学
		笹月 健彦	九州大高等研究院		
		横須賀 忠	東京医科大・免疫		
		末永 忠広	大阪大微生物病研		
公 募 班	A01 機能	椎名 隆	東海大医・分子生命	岡 晃	東海大総合医学研
		細道 一善	金沢大医・革新ゲノム情報		
		畠山 鎮次	北海道大院医・生化		
		野口恵美子	筑波大医・遺伝医学	広川 貴次	産業技術総合研究所
				松永佳世子	藤田保健衛生大医
				中村 政志	藤田保健衛生大医
		木村 元子	千葉大院医・免疫発生		
		新田 剛	東京大院医・免疫		
		堀 昌平	東京大院薬・免疫・微生物	城口 克之	理研生命システム研
		鏑田 武志	東京医科歯科大難治疾患研		
	A02 構造	杉田 昌彦	京都大ウイルス・再生医科研		
		河本 宏	京都大ウイルス・再生医科研		
		荒瀬 尚	大阪大微生物病研		
		山下 政克	愛媛大院医・免疫		
		山崎小百合	名古屋市大院医・免疫		
		改正 恒康	和歌山県立医大先端医学研	金澤 伸雄	和歌山県立医大・皮膚
		藤本ゆかり	慶應義塾大理工・化学		
		竹馬 俊介	慶應義塾大医・微生物・免疫		
		穂積 勝人	東海大医・生体防御		
		北村 大介	東京理科大生命医科学研究	中面 哲也	国立がん研究センター
	田中 芳彦	福岡歯科大基礎歯学			
	谷内 一郎	理研統合生命医科学研究センター			
	斉藤 隆	理研統合生命医科学研究センター			
	弓本 佳苗	九州大生体防御医学研			
	森島 聡子	琉球大院医・内・血・膠内科	森島 泰雄	愛知大医大・造血細胞移植	

領域代表あいさつ

松本 満

「ネオ・セルフ」領域代表
徳島大学 先端酵素学研究所 免疫病態学分野



平成 28 年度に発足した新学術領域「ネオ・セルフの生成・機能・構造」のニュースレターも第 2 号刊行のはこびとなりました。編集担当の高知大学・宇高恵子先生のアイデアにより、第 2 号では班員の研究紹介に加えて、本領域からの重要な情報発信となる論文について 3 名の公募班員の先生方に解説記事の執筆をお願いしました。また、伝統ある J. Exp. Med. 誌の Editorial board に昨年就任された名古屋市立大学・山崎小百合先生には編集作業の現場をお伝えいただく記事をお願いしました。さらに本領域の活動の一端について、エッセー風の紹介記事を載せております。これらの記事にも目を通していただき、本領域の活動に対して皆様から、これまで以上に深いご理解とご協力がいただけるものと期待しております。

領域発足以来、その活動内容としては多くの重要な研究論文の発表に加え、昨年 6 月には第 1 期目の公募班が参加して全体班会議を開催しました。それによって、計画班員の間のみならず、計画班員と公募班員との共同研究が順調に進んでいます。今後はさらに公募班員間の共同研究も推進し、我が国における免疫学研究ならびに生命医学研究の活性化に貢献したいと思っております。また、本年 1 月には第 1 回・若手の会を開催し、若手研究者に研究交流の場を提供しました。若手の会については領域ホームページでの紹介に加えて参加者による感想文を本ニュースレターに掲載しております。さらに現在、来る 7 月の国際シンポジウムの開催に向けて、鋭意準備を取り進めています。アウトリーチ活動についても班員の皆様には積極的に取り組んでいただき、本領域の一般社会への情報発信や啓発活動を担っていただいております。

このように領域発足以来、その活動内容は着実に成熟していると言えます。しかしながら、「ネオ・セルフ」の概念の固定化や免疫認識機構の全貌解明といった課題については、いまだ道半ばです。本領域の一つの重要なキーワードは「Sustainable (継続可能な) science」であり、重要な課題に対しては、たとえ時間がかかっても諦めず継続して、その突破口を探索する姿勢が大切だと考えています。自己免疫疾患やアレルギーの原因、HLA の本質的な役割は一朝一夕に解決できる問題ではありませんが、班員の研究が順調に進み、領域発足時の目標である新たな概念としての「ネオ・セルフ」を世界に向けてアピールし続けたいと思っております。引き続き、本学術領域研究に対して、皆様からの幅広いご支援とご鞭撻をお願い申し上げます。

トピックス ～注目の研究～



Priming of lineage-specifying genes by Bcl11b is required for lineage choice in post-selection thymocytes.

Nat. Commun. 8:702, 2017.

Kojo S, Tanaka H, Endo TA, Muroi S, Liu Y, Seo W, Tenno M, Kakugawa K, Naoe Y, Nair K, Moro K, Katsuragi Y, Kanai A, Inaba T, Egawa T, Venkatesh B, Minoda A, Kominami R, Taniuchi I.

谷内 一郎

理化学研究所 統合生命医科学研究センター
免疫転写制御研究グループ グループディレクター

リンパ球は特異な抗原を認識することで活性化されるが、細胞性免疫を担う T リンパ球は T 細胞抗原受容体 (TCR) を介し、主要組織適合遺伝子複合体抗原 (MHC) 上に提示されるペプチドを認識する。抗原受容体の多様性は抗原受容体遺伝子座 (T リンパ球では *Tcr* 遺伝子) でのゲノム再構成 (VDJ 再構成) によるが、ゲノム再構成はランダムに起こることから自己 MHC 上の抗原を認識出来ない無駄なリンパ球や自分自身 (セルフ) に由来する抗原に反応する自己応答性リンパ球が産み出される可能性がある。この為、T リンパ球の胸腺内での初期分化過程では、自己の MHC 上の抗原を認識するリンパ球を選択し、自己応答性リンパ球を除去する選択機構 (正と負の選択) が共進化してきた。

セルフの誤認によりセルフがノン・セルフと認識されると自分自身に対する攻撃が開始され自己免疫疾患が発症すると考えられ、免疫疾患の病態の理解にはリンパ球の抗原認識機構の解明は重要な問題であり、本学術領域では新たな概念として質的・量的に「セルフ」と異なる分子複合体を「ネオ・セルフ」と定義し、ネオ・セルフ抗原がどのように提示、認識され免疫疾患の発症に関与するのか明らかにすることを目的としている。その為には、どのようにして抗原認識がリンパ球の機能分化に転換されるのか理解することは重要である。例えば胸腺内の正と負の選択選ではアナログな TCR 信号の差異を生と死というデジタルな細胞運命に転換する核内機構が存在すると仮定できるが、その分子実態は未だ明らかでない。一方、クラス I-MHC とクラス II-MHC により正に選択された胸腺細胞はそれぞれキラー、ヘルパー T 細胞に分化し、ヘルパー / キラー系列決定は異なる MHC を介した抗原認識がリンパ球分化制御プログラムに転換される機構を研究する良い研究題材と見え、私の研究室では長年ヘルパー / キラー系列の分子機構の解明に取り組んできた。

これまでにヘルパー T 細胞への分化には転写因子 ThPOK の発現誘導が必須であり、キラー T 細胞系列への分化課程では *Thpok* 遺伝子座内のサイレンサーと呼ばれるゲノム制御領域 (*Thpok* サイレンサー) に Runx 転写因子が結合することで、ThPOK の発現を抑制することが必須であることを解明した。つまり *Thpok* サイレンサーは TCR 信号下流で *Thpok* 遺伝子発現のオン / オフを司る核内装置と言える。そこで、本論文では *Thpok* サイレンサーに結合するタンパク質として *Bcl11b* を同定した。*Bcl11b* は中央と C 末端に Zn フィンガー領域を持つ転写因子であり、*Bcl11b* の欠損により胸腺細胞分化は $CD4^- CD8^-$ double negative (DN) 期で停止することから、T 細胞系列への分化決定因子として知られている。私たちは幸運にもフレームシフト変異により *Bcl11b* の C 末端の最後の Zn フィンガー構造を欠損する *Bcl11b* 変異マウス (*Bcl11b^{m/m}* と表記) を樹立出来た。*Bcl11b^{m/m}* マウスは *Bcl11b* 欠損マウスと同じく生後 1-2 日で死亡するが、 $CD4^+ CD8^+$ double positive (DP) 胸腺細胞や成熟腺細胞が分化する。ところが、成熟腺細胞分画では $CD8^+$ キラー系列細胞が消失しており、 $CD4$ ヘルパー系列への顕著な分化傾倒化が起こっていた。*Bcl11b^{m/m}* マウスでは DP 胸腺細胞の段階で既に ThPOK の発現が起こっており、DP 胸腺

細胞での *Thpok* 遺伝子発現抑制機構が作動していないことが CD4 ヘルパー系列への分化傾倒化の原因であった。興味深いことに、*Bcl11b* は *Thpok* サイレンサー非依存的な機構でも *Thpok* 遺伝子抑制を行っていることが判明した。ATAC-seq によるゲノム accessibility 解析結果から、*Bcl11b^{m/m}* DP 胸腺細胞は見かけ上 T 細胞であるが、*Thpok* 遺伝子座は T 細胞型ではなく B 細胞と類似のパターンが維持されていた。この結果は、*Bcl11b* の機能（特に C 末端の Zn finger 領域を介した制御）により、DN 期といった T 細胞初期分化過程で *Thpok* 遺伝子座が T 細胞型に変換され、*Thpok* サイレンサーや *Thpok* エンハンサーといった T 細胞特異的な制御領域が機能発現のために前もって準備 (priming) されることが、TCR 信号下流で正しく *Thpok* 遺伝子の発現を制御する為に必須な過程であることを示唆する。

更に *Bcl11b^{m/m}* T 細胞ではキラー系列分化で中心的な役割を果たす *Runx3* 遺伝子の発現もそのキラー系列特異性を消失しており、その原因として ThPOK による *Runx3* エンハンサーの抑制機構の障害が考えられた。また *Bcl11b* は制御性 T 細胞 (Treg) の分化に必須な *Foxp3* 遺伝子の発現誘導にも必須であり、*Bcl11b* の機能不全により *Foxp3* の発現誘導に重要な CNS3 エンハンサーへの SATB1 の結合の障害がその一因と考えられた。

これらの結果から、*Bcl11b* は T 細胞系列決定因子としてミエロイド系の分化プログラムを抑制するばかりでなく、来る「正と負の選択」やヘルパー、キラー、Treg という T 細胞サブセットの分化に備え、*Thpok*、*Runx3*、*Foxp3* 遺伝子座を適切な状態にセットすることで、TCR 信号を取り入れて適正な分化プログラムを発動するための準備を整える役割を担っていると考えられた。このような *Bcl11b* の機能は「ネオ・セルフ」抗原認識下でも重要と考えられ、本領域の研究課題により *Bcl11b* の C 末端 Zn フィンガー領域を介した制御機構を明らかにしたい。

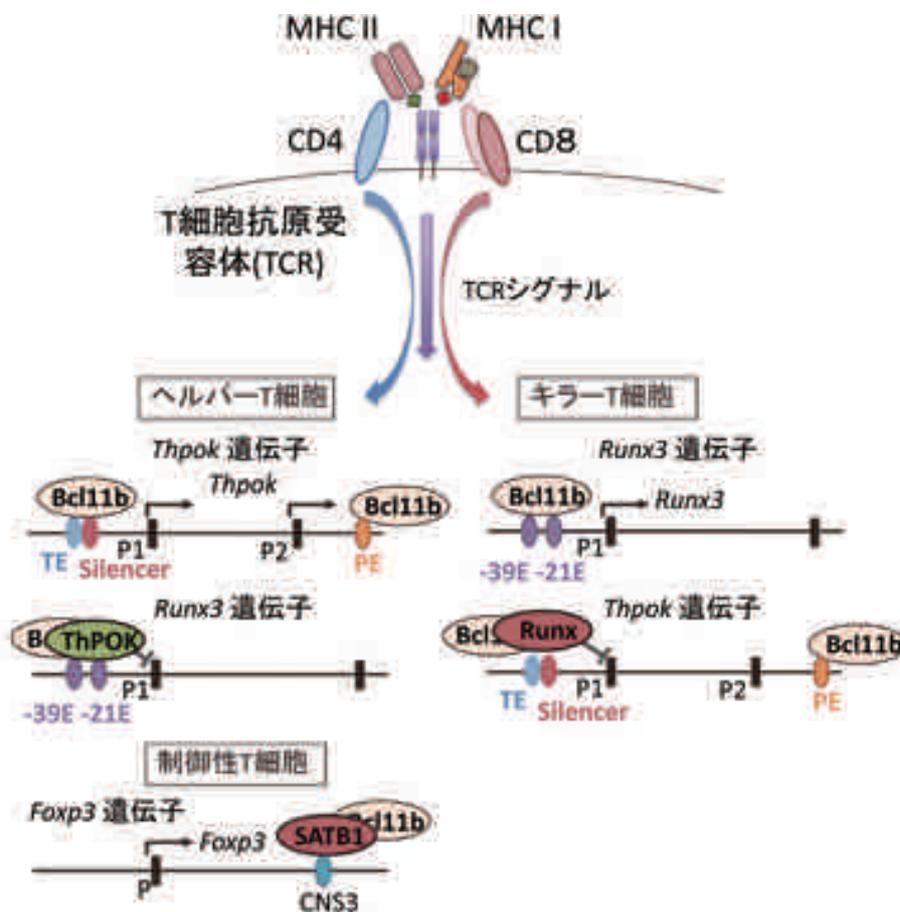


図1 Bcl11bによる転写因子発現制御機構

Bcl11b は、*Thpok* 遺伝子座内の制御領域 (TE, Silencer, PE など)、*Runx3* 遺伝子座内制御領域 (-39E、-21E)、*Foxp3* 遺伝子座内 CNS3 領域に結合し、TCR 信号を取り入れる準備を整え、TCR 信号を特異的な転写因子発現へと変換し、適切に各系列への分化誘導する役割を担うと考えられる。

トピックス ～注目の研究～



Human thymoproteasome variations influence CD8 T cell selection.

ヒト胸腺プロテアソームの遺伝子多様性は CD8 T 細胞レパトアを変化させる

Sci. Immunol. 2, eaan5165, 2017.

Nitta T, Kochi Y, Muro R, Tomofuji Y, Okamura T, Murata S, Suzuki H, Sumida T, Yamamoto K, Takayanagi H.

新田 剛

東京大学 大学院医学系研究科 免疫学 准教授

ヒトゲノムの多様性 (genetic variation) は、免疫系をはじめとする高次生命機能に影響を及ぼし、体質や疾患感受性の個人差を生み出している。近年、個人ゲノム情報等のビッグデータの蓄積と、ゲノム編集技術の発達によって、個々の遺伝子多様性の影響をモデル動物を用いて実験的に検証することが可能になってきた。本研究では、この所謂 'Reverse-translational' 解析手法を用いて、プロテアソーム遺伝子の多様性が T 細胞のレパトア選択に及ぼす影響を調べた。

プロテアソームは MHC クラス I に提示される抗原ペプチドの産生に必須の細胞内プロテアーゼ複合体である。多くの体細胞は触媒サブユニット $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 5$ をもつ「標準型プロテアソーム」を発現するが、免疫細胞やウイルス感染細胞では触媒サブユニットが $\beta 1i$ 、 $\beta 2i$ 、 $\beta 5i$ にそれぞれ置き換わった「免疫プロテアソーム」が形成される。また、胸腺の皮質上皮細胞はユニークな触媒サブユニット $\beta 5t$ を発現し、 $\beta 1i$ 、 $\beta 2i$ 、 $\beta 5t$ を含む「胸腺プロテアソーム」を形成する。これら触媒サブユニットのうち、 $\beta 5$ 、 $\beta 1i$ 、 $\beta 5i$ 、 $\beta 5t$ は、MHC クラス I に提示される抗原ペプチドを切り出すためのキモトリプシン様活性をもつ。特に、 $\beta 5t$ は胸腺の皮質上皮細胞に特異的な MHC クラス I 抗原ペプチドを産生することで、CD8 T 細胞の正の選択に重要な役割を果たすと考えられている。

私達は、ヒトゲノムデータベースと構造予測アルゴリズムを用い、全プロテアソームサブユニット遺伝子を対象として、機能に影響を与える遺伝的多様性 (damaging variation) の数と頻度を調べた。その結果、キモトリプシン様活性をもつサブユニット $\beta 1i$ 、 $\beta 5i$ 、 $\beta 5t$ には、damaging variation が高頻度に存在することが明らかになった。これらは正常とは異なる MHC クラス I 抗原ペプチド—すなわち「ネオ・セルフ」—を生成する可能性がある。とりわけ、 $\beta 5t$ (PSMB11 遺伝子) の damaging variation の数は全プロテアソームサブユニット遺伝子の中で最も多い。これらが CD8 T 細胞の正の選択および抗原認識能を変化させる可能性を検証することを試みた。

$\beta 5t$ /PSMB11 遺伝子において特に頻度が高い 3 種類の damaging variation (G49S, S80Hfs, A208T) に着目しその生理的意義を調べるため、CRISPR/Cas9 法を用いてそれぞれの変異をマウス $\beta 5t$ /Psmb11 遺伝子に導入した (図 1A)。G49S は $\beta 5t$ タンパク質の N 末端プロペプチドの切断に異常を生じ、A208T は $\beta 5t$ タンパク質の発現量が低下していた。S80Hfs はフレームシフト変異のため $\beta 5t$ タンパク質の発現が失われた。3 種類いずれのマウスも正常な胸腺発生と胸腺上皮細胞の分化を示したが、皮質上皮細胞における MHC クラス I 結合ペプチドが変化していた。さらに、3 種類の変異マウスは全て、胸腺における CD8 T 細胞の分化が低下していた (図 1B)。これらの表現型は、過去に報告された $\beta 5t$ 欠損マウスのそれと同じであり、今回調べた 3 種類の damaging variation はいずれも機能喪失型変異であると考えられた。

$\beta 5t$ /PSMB11 の damaging variation の中でも G49S (SNP rs34457782-A) は、複数の人種間に共通しており、特に日本人において高頻度 (アレル頻度 3%) であるため、私達は特に G49S に

着目し、免疫系と疾患感受性に与える影響について調べた。TCR Tg マウスを用いた解析から、G49S は特定の CD8 T 細胞レパトアの正の選択を低下させることがわかった。さらに次世代シーケンズ技術を用いて TCR レパトアへの影響を定量的に解析した。G49S マウスでは野生型マウスに比べて、CD8 T 細胞における特定の TCR の出現頻度が有意に低下しており、出現頻度が上昇した TCR は検出されなかった (図 1C)。従って、G49S 変異は CD8 T 細胞レパトアの多様性を低下させることが明らかになった。

最後に、G49S (rs34457782-A) とヒト疾患との関連を調べた。日本人集団において、G49S ホモ接合は自己免疫疾患のひとつであるシェーグレン症候群のリスクと有意に関連することが明らかになった ($P=0.00089$, odds ratio=7.15)。

以上の結果から、ヒトゲノムに高頻度に存在する $\beta 5t$ の多様性は、胸腺プロテアソームの機能を変化させ、本来とは異なる胸腺内自己ペプチド (ネオ・セルフ) を生成することで、CD8 T 細胞レパトア形成と疾患感受性を変化させることが明らかになった (図 2)。CD8 T 細胞レパトアの変化がシェーグレン症候群のリスクを高めるメカニズムは不明であり、今後さらなる研究が必要である。また、同様の高頻度 damaging variation は、MHC クラス II 抗原ペプチドを生成するリソソームプロテアーゼにも存在する (未発表)。これらの抗原ペプチド産生に関わる遺伝子多様性は、T 細胞レパトアと疾患感受性に影響を及ぼす新たな遺伝要因として、今後も継続して研究を進める必要があると考えられる。

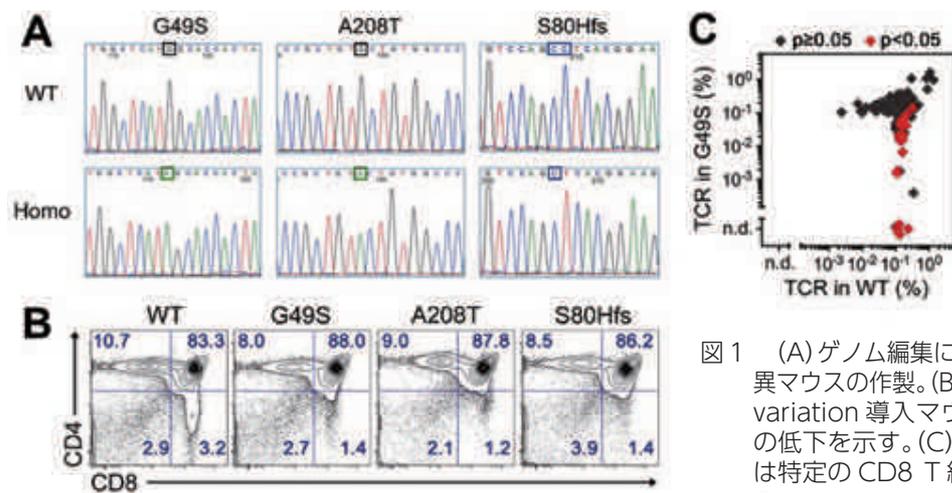


図 1 (A)ゲノム編集による $\beta 5t$ /Psmb11 変異マウスの作製。(B) $\beta 5t$ damaging variation 導入マウスは胸腺 T 細胞分化の低下を示す。(C) $\beta 5t$ G49S マウスでは特定の CD8 T 細胞レパトアが失われる。

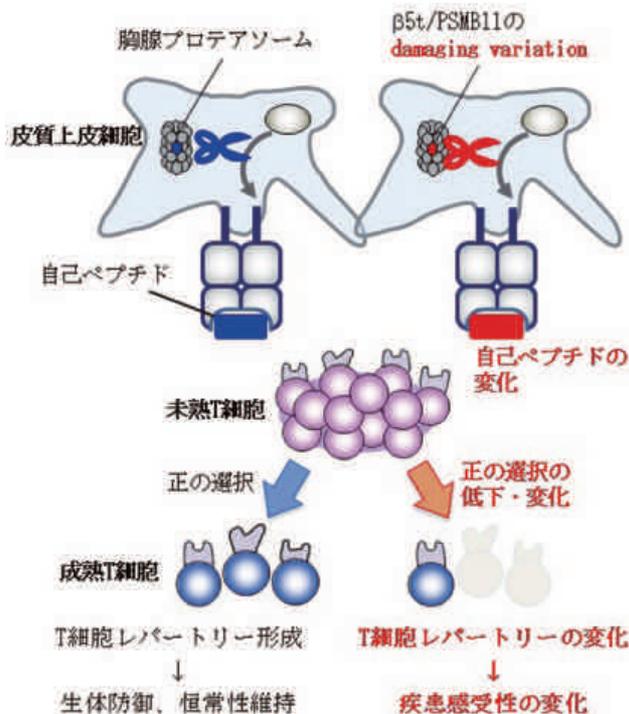


図 2 胸腺プロテアソームの遺伝子多様性による CD8 T 細胞レパトアの変化

トピックス ～注目の研究～



Analyses of a mutant *Foxp3* allele reveal BATF as a critical transcription factor in the differentiation and accumulation of tissue regulatory T cells.

Immunity 47:268-283. e9, 2017.

Hayatsu N, Miyao T, Tachibana M, Murakami R, Kimura A, Kato T, Kawakami E, Endo TA, Setoguchi R, Watarai H, Nishikawa T, Yasuda T, Yoshida H, Hori S.

堀 昌 平

東京大学 大学院薬学系研究科
免疫・微生物学教室 教授

1. 背景

免疫抑制機能に特化した制御性T細胞 (Treg) は、自己免疫、炎症、アレルギーなどの病的な免疫応答の制御に重要である一方、がん細胞などの病原体に対する免疫応答をも抑制してがんの成長に寄与すると考えられている。ヒト自己免疫疾患 IPEX 症候群の原因遺伝子として同定された転写因子 *Foxp3* は、Treg に選択的に発現し、その発生・分化と抑制機能を司る“マスター転写因子”として働く。これまでに、*Foxp3* は Treg 分化と機能を制御する分子ネットワークにおけるハブであり、他の多数の転写因子と複合体を形成してゲノム上数千に及ぶ領域に結合し、Treg の遺伝子発現を制御していることが明らかにされてきた。しかしながら、この *Foxp3* のハブとしての性質故に、数多ある標的遺伝子のなかでどの遺伝子が Treg のどのような性質を制御しているのかについては十分理解されてこなかった。

そこで我々は、IPEX 症候群において見つかっている *Foxp3* 変異のなかに、特定の標的遺伝子の発現に影響を与えて Treg の何らかの重要な性質を障害するものがあるのではないかと考え、DNA 結合に影響を与えると考えられるフォークヘッドドメイン中の3つのミスセンス変異 (I363V [Ile363 の Val への置換]、A384T [Ala384 の Thr への置換]、R397W [Arg397 の Trp への置換]) に着目し、これらの変異が Treg と自己免疫寛容に与える影響を調べることにした。

2. 研究手法と結果

まず、3つの変異を導入した遺伝子改変マウスを作製し、変異が Treg の機能と遺伝子発現、そして自己免疫寛容に与える影響を調べた。その結果、I363V 変異と R397W 変異は、Treg に特有の遺伝子発現パターンを大きく変化させて試験管内で T 細胞増殖を抑制する機能を障害する機能欠失型変異であることがわかった。一方、A384T 変異はこれらとは異なり、一部の Treg 特有の遺伝子の発現のみを選択的に変化させるものの、試験管内での抑制機能を障害しなかった。興味深いことに、I363V、R397W 変異マウスが皮膚、肺、肝臓などの様々な臓器に Th1 型及び Th2 型の炎症を発症したのに対し、A384T 変異マウスは皮膚、肺、大腸などのバリア組織に Th2 型及び Th17 型の炎症を発症した。

次に、A384T 変異が Treg のどのような性質を障害して特徴的な病態を惹起するのか検討した。通常の T 細胞と同様、Treg も 2 次リンパ組織を巡回するナイーブ型と、主に非リンパ組織に局在するエフェクター・メモリー型 (effector Treg; eTreg) の 2 種類に大別され、前者が抗原による刺激を受けて活性化されて後者に機能分化する。様々な組織における Treg サブセットの割合を調べた結果、ナイーブ型 Treg は組織によらず変異による影響を受けず、皮膚や肺といった炎症を起こす組織において eTreg の割合が減少し逆に炎症を起こすヘルパー T 細胞 (Th) の割合が増加していた。特に、eTreg のなかでも GATA3、ST2、CCR4 を発現するサブセットが選択的に減少し、逆にこれら分子を発現する Th2、Th17 が増加していた。一方、炎症を起こさない肝臓では eTreg

と Th のバランスに変化は見られなかった。以上の結果から、A384T 変異は、eTreg が分化して組織に集積する過程を組織選択的に障害し、このためにバリア組織において Th2 型と Th17 型の炎症が抑制できなくなると考えられた (図 1)。

では A384T 変異はどのような標的遺伝子の発現に影響を与えることにより eTreg を障害するのでしょうか? マイクロアレイ解析により遺伝子発現を、ChIP-seq 解析により Foxp3 のゲノム上の結合領域を網羅的に調べた結果、A384T 変異型 Treg で Foxp3 の標的遺伝子である転写因子 BATF の発現が選択的に低下していることを見いだした。そして、BATF 欠損 Treg は A384T 変異型 Treg と類似した遺伝子発現を示し、eTreg 分化・集積と生体内で免疫応答を抑制する機能が障害されていることがわかった。さらに、A384T 変異型 Treg に BATF を強制発現させたところ、eTreg の分化と組織への集積能力、そして生体内における免疫抑制機能が回復した。以上の結果から、A384T 変異型 Treg の障害の一因は BATF の発現低下によることが明らかになった (図 1)。

最後に、A384T 変異により BATF などの特定の標的遺伝子の発現が障害されるメカニズムを調べた結果、A384T 変異は Foxp3 による DNA 認識特異性を拡大させる機能獲得型変異であり、このために *Batf* 遺伝子のプロモーターにより強く結合して転写を抑制することが明らかになった (図 1)。

3. 今後の展望

本研究により、転写因子 BATF が組織局在型 Treg の分化と集積に重要な役割を担っていることが明らかになった。このことは、Treg において BATF の発現または機能を強化することで組織における過剰な免疫応答を抑制でき、逆にその発現・機能を阻害することで組織における免疫応答を強化できる可能性を示唆しており、様々な自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー疾患、さらにはがんの治療法の開発につながることを期待される。

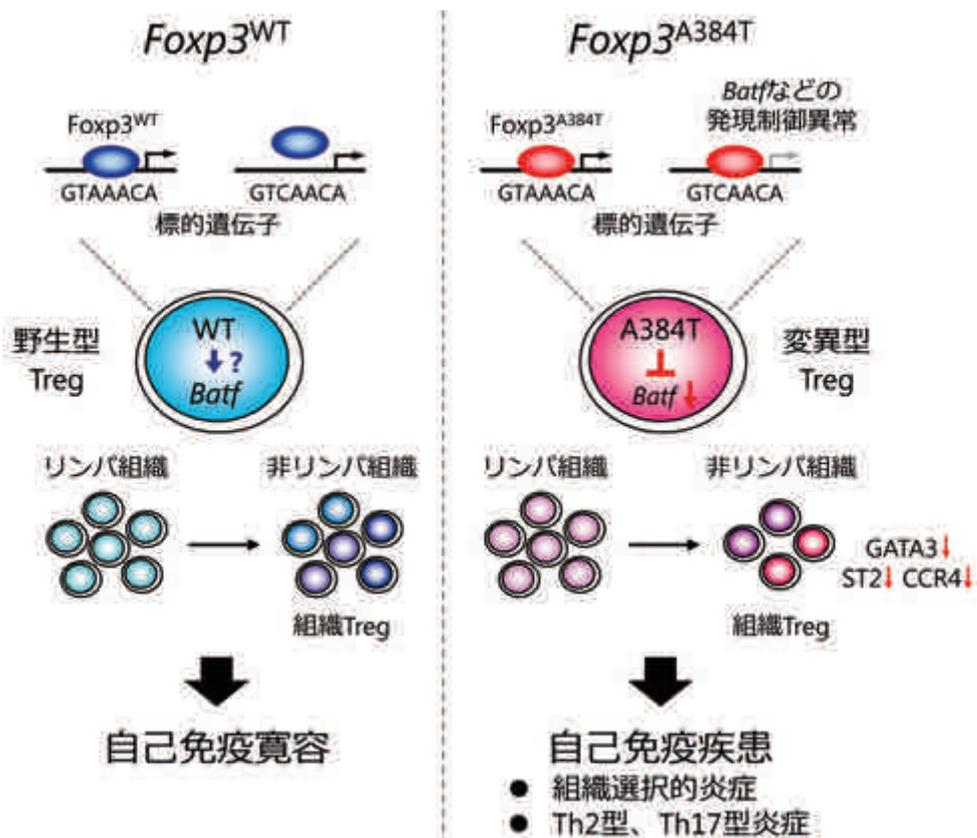


図 1. Foxp3^{A384T} 変異による自己免疫疾患発症機構

野生型 Foxp3 (Foxp3^{WT}) は GTAAACA などの DNA 配列に結合するが、Foxp3^{A384T} 変異体はそれらに加えて野生型が認識しない GTCAACA などの DNA 配列にも結合できるようになった機能獲得型変異である。このために A384T 変異体は *Batf* プロモーターに野生型よりも強く結合し、その転写を抑制する。A384T 変異は Treg において転写因子 BATF の発現を低下させることで eTreg の分化と非リンパ組織への集積を組織選択的に障害する。その結果、それらの組織において炎症を抑制できず自己免疫疾患が発症する。

研究の進展

胸腺における ネオ・セルフ生成機構

Mechanisms for the creation of neo-self in the thymus

松本 満

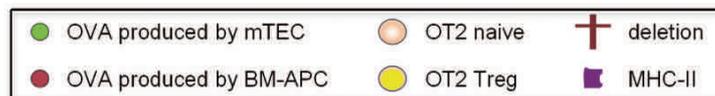
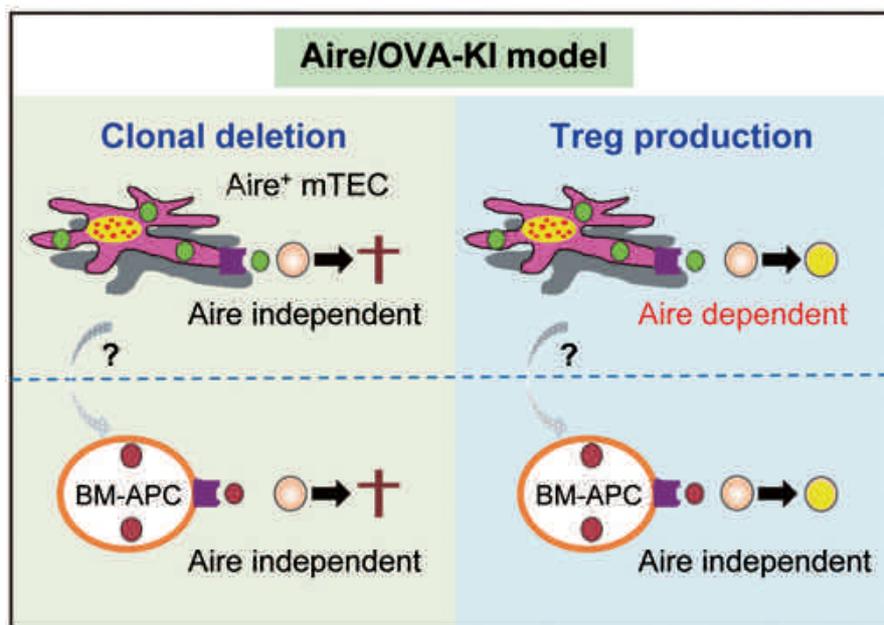
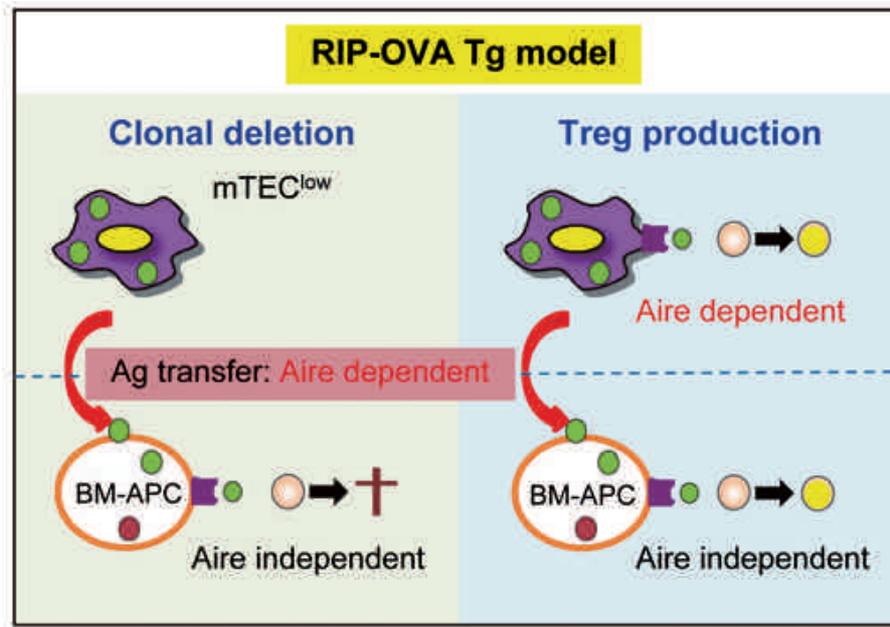
徳島大学 先端酵素学研究所 免疫病態学分野 教授



本計画研究では、Aire の機能障害によって胸腺髄質上皮細胞 (mTEC) が発現する免疫学的な自己の総体にどのような変化がみられ、その結果、どうして自己免疫疾患の発症に至るのかを Aire 遺伝子改変マウスを用いて研究しています。そのための一つのアプローチとして、Aire が自己寛容の成立に必須の役割を担うことをふまえ、Aire の過剰発現によって自己免疫病態を是正できるか否かを MHC-2 プロモーター下にヒト Aire を発現する Tg (huAire-Tg) を NOD 背景 (I 型糖尿病モデルマウス) で樹立しました。その結果、予想外にも huAire-Tg はヒトの多発性筋炎に類似する筋組織特異的な自己免疫病態を示しました。そのメカニズムを解析したところ、mTEC の分化障害に伴う自己抗原の発現低下を認め、さらに RIP-OVA Tg モデルを用いた解析からは Aire-KO の場合と同様に、clonal deletion と Treg 産生に障害を認めました (J. Autoimmun. 2018)。

Aire の過剰発現がどのようなメカニズムによって mTEC の分化障害をもたらすかについては、mTEC の分化誘導にはたらく Aire 標的遺伝子の同定が必須のプロセスと考えられます。しかしながら、Aire タンパクは核内に nuclear dot protein として存在するため、不溶性で生化学的な解析は容易ではありません。この点については、領域内のタンパクの専門家とも協議しながら解決する必要があります。一方、当初の目的である Aire の過剰発現による自己免疫病態の是正については、膵臓ラ氏島病変 (糖尿病) を全く示さない huAire-Tg が得られました。同マウスでは抗原 (インスリン) の受け渡し (Antigen transfer) にはたらく CD103⁺ DC が膵リンパ節で減少していたため、そのメカニズムの解明が必要と考えています。このように、Aire は mTEC のみならず骨髄由来の抗原提示細胞の両方において、「ネオ・セルフ」の産生に寄与している可能性があります。

Aire は clonal deletion と Treg 産生の 2 つのトレランス獲得機構に作用すると考えられますが、そのメカニズムを明らかにする目的でインスリン・プロモーター下にモデル自己抗原 OVA を発現するトランスジェニックマウス (RIP-OVA Tg) と Aire プロモーター下で OVA を発現するノックインマウス (Aire/OVA-KI) を用いました。これら 2 種類の遺伝子改変マウスを OVA 特異的 TCR-Tg (OT2) と交配して clonal deletion と Treg 産生を誘導し、それらのプロセスにおける Aire の役割を検討しました。その結果、RIP-OVA Tg モデルでは mTEC の発現する OVA が直接 clonal deletion を誘導するのではなく、mTEC から骨髄由来の抗原提示細胞 (BM-APC) に OVA 抗原が受け渡されてから clonal deletion が誘導されることが判明しました。また、そのプロセスには Aire が必要であることが分かりました。一方、Aire/OVA-KI モデルでは mTEC と BM-APC の両者が独立して Aire 非依存的に clonal deletion が誘導されました。Treg 産生については、いずれのモデルでも mTEC による Treg 誘導に Aire が関与していました。すなわち、どの細胞 (mTEC あるいは BM-APC) が自己抗原を発現するかによって、clonal deletion と Treg 産生における Aire の要求性に違いが見られました。



1. Nishijima H, Kajimoto T, Matsuoka Y, et al. Paradoxical development of polymyositis-like autoimmunity through augmented expression of autoimmune regulator (AIRE). *J. Autoimmun.* 86:75-92, 2018. doi: 10.1016/j.jaut.2017.09.006.
2. Mouri Y, Ueda Y, Yamano T, et al. Mode of tolerance induction and requirement for Aire are governed by the cell types that express self-antigen and those that present antigen. *J. Immunol.* 199(12):3959-3971, 2017. doi: 10.4049/jimmunol.1700892.
3. Matsumoto M. Switching on the Aire conditioner. *Eur. J. Immunol.* 45(12): 3237-3240, 2015. doi: 10.1002/eji.201546098.
4. Kawano H, Nishijima H, Morimoto J, et al. Aire Expression Is Inherent to most medullary thymic epithelial cells during their differentiation program. *J. Immunol.* 195(11): 5149-5158, 2015. doi: 10.4049/jimmunol.1501000.
5. Nishijima H, Kitano S, Miyachi H, et al. Ectopic Aire expression in the thymic cortex reveals inherent properties of Aire as a tolerogenic factor within the medulla. *J. Immunol.* 195(10): 4641-4649, 2015. doi: 10.4049/jimmunol.1501026.

研究の進展

金属・薬剤による ネオ・セルフの生成機構

Generation mechanisms of neo-self by metal or medicine

小笠原 康悦

東北大学 加齢医学研究所 生体防御学分野 教授



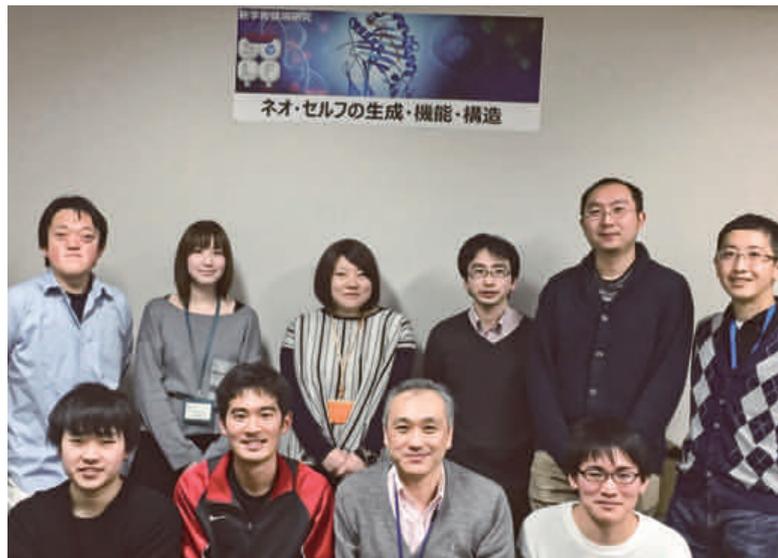
装飾品をつける人々の増加、および金属を用いた生体材料による医療技術の発達により、金属によるアレルギー患者が増加の傾向にある。金属イオンは、ハプテンとして働いて抗原性を持つと考えられているがその詳細はよくわかっていない。我々は、本領域において、金属などハプテンが、どのようにして抗原性をもつようになるのか、「ネオ・セルフ」の実態を解明すべく研究を進めている（写真：小笠原班、図1：金属アレルギーを対象とした「ネオ・セルフ」）。ペプチド+MHC複合体の変化に影響を受けるのはT細胞受容体のレパートリー変化であることから、T細胞受容体のレパートリー変化を指標にこの問題に取り組んでいる。

当研究室は、歯学研究科と兼務しているということもありパラジウムに着目して金属アレルギー研究を進めている。パラジウムといっても一般の

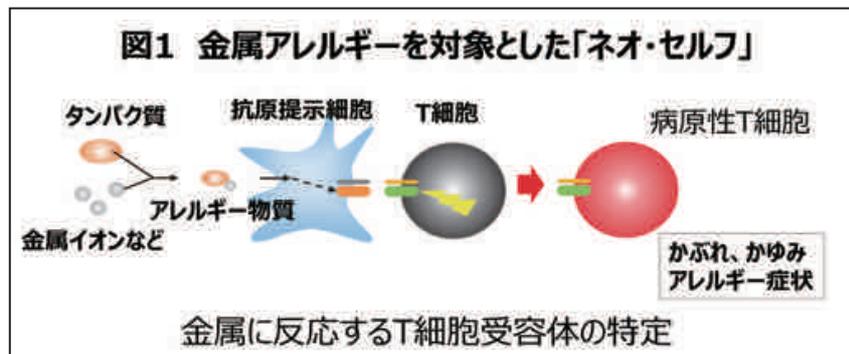
人々には聞きなれない金属と思われるので、以下、簡単に説明する。

パラジウムは、歯科保険診療で使用している生体金属材料の金属であるため歯科ではなじみのある金属である。歯科補綴治療や保存治療で用いられる金属、いわゆる詰め物や被せ物の治療で用いられている金属は、12%金銀パラジウム合金が一般的に用いられている。金は貴金属であり耐食性を持ち、硬さの面がかみ合わせにあっていいため歯科修復材料として非常に良い金属であるが高価であることが欠点である。そのため同じ貴金属であるパラジウムが金の代替として用いられ金の含有率を12%に下げた合金が一般的に使用されるようになった。組成としては、金12%、銀50%、パラジウム20%程度含まれている。しかし、歯科臨床において、パラジウムアレルギーが増加していることも報告され、パラジウムに対する免疫反応の解明が急務となっている。

このような背景から、我々は、マウス金属アレルギーモデルを用いてパラジウム (Pd) に対する免疫反応について研究を行った。これまでの研究で、I-Ab 欠損マウスでは、Pdアレルギーは発症するが、beta-2 microglobulin (B2m) 欠損マウスでPdアレルギーが発症しないことを見出している。このことは、MHC class IがPdアレルギー発症に重要な役割を果たしていることを意味し



小笠原班



ている。

金属アレルギーはT細胞依存性疾患とされているため、まずはPdに反応するTCRの特定を試みた。Pdアレルギーを誘導して24時間後に所属リンパ節細胞を収集し、TCRαおよびTCRβ鎖レパートリーを調べた。その結果、TCRα鎖は、TRAV7-2*02、TRAV8-1*03、TRAV9N-2*01、およびTRAV14N-1*01の頻度が増加しており、特に、TRAV7-2*02の頻度は大幅に増加した(図2:パラジウムに反応するT細胞受容体)。TCRβ鎖は、TRBV3*01、TRBV13-2*01およびTRBV26*01の頻度が増加したものの、詳細に検討した結果Pdに反応する特異的TCRβ鎖を特定することはできなかった。さらに、CD8⁺T細胞では、PdアレルギーマウスにおけるTRAV7-2*02の頻度は、非感作マウスにおける頻度より10倍高いことが判明した。

次に我々は、B2m欠損マウスおよびI-Ab欠損マウスを用いて検討した。以前の結果のように、PdアレルギーはI-Ab欠損マウスにおいて観察されたが、B2m欠損マウスでは、アレルギー症状は観察されなかった。さら

に、TRAV7-2*02は、Pd感作I-Ab欠損マウスおよび野生型マウス由来の所属リンパ節細胞で多く検出された。これらの結果から、TRAV7-2*02のT細胞受容体が、Pdを認識している受容体として考えられた。

さらに我々は、Pdアレルギー中のTRAV7-2*02におけるJ領域、CDR3領域を解析した。その結果、TRAV7-2*02の中で、TRAJ6*01、TRAJ15*01、TRAJ22*01、TRAJ26*01、TRAJ27*01、TRAJ31*01が存在し、特に、TRAJ22*01の頻度が著しく増加していた。TRAV7-2*02/TRAJ22*01のCDR3アミノ酸配列では、すべてのTRAV7-2*02/TRAJ22*01においてコンセンサスフレームをもつことが判明し、コンセンサスフレームCAAXSGSWQLIF(X=1~4アミノ酸)を特定することができた(図3:CDR3のコンセンサス配列)。

以上のことより、CD8⁺T細胞上のTRAV7-2*02/TRAJ22*01は、Pdアレルギーにおいて病原性T細胞として機能すると考えられる。今後TRAV7-2*02/TRAJ22*01遺伝子導入細胞などを作成することで、パラジウムの免疫反応を詳細に検討することができるようになり、「ネオ・セルフ」の解明に役立つものと考えられる。

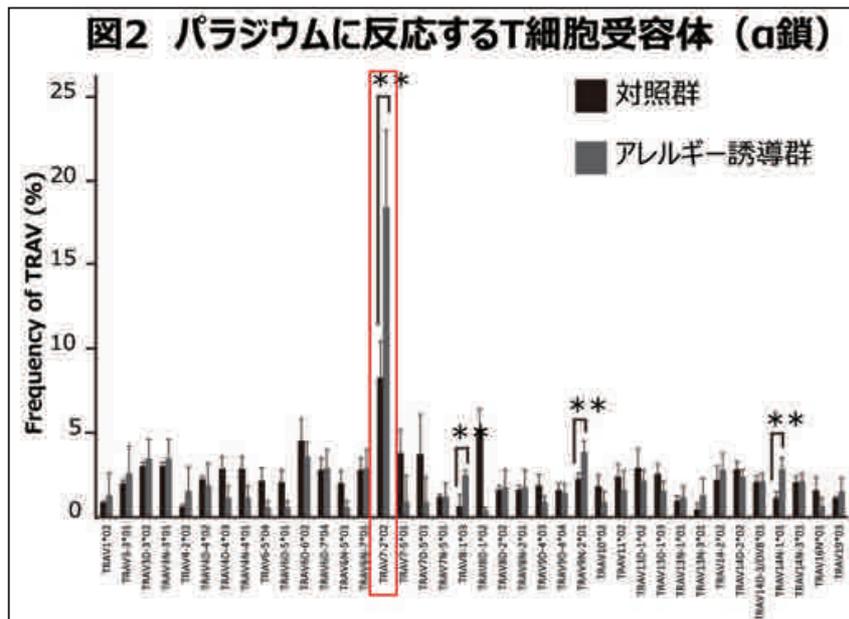


図3 CDR3のコンセンサス配列

	TRAV	CDR3			TRAJ
		3' V-region	N	5' J-region	
Mouse 1	TRAV7-2*02	CAAR	G	SGSWQLIF	TRAJ22*01
	TRAV7-2*02	CAA	T	SGSWQLIF	TRAJ22*01
	TRAV7-2*02	CA	AGA	SSGSWQLIF	TRAJ22*01
	TRAV7-2*02	CAAS	I	SGSWQLIF	TRAJ22*01
	TRAV7-2*02	CA	AA	SSGSWQLIF	TRAJ22*01
	TRAV7-2*02	CA	ARA	SSGSWQLIF	TRAJ22*01
Mouse 2	TRAV7-2*02	CAA	SHA	SSGSWQLIF	TRAJ22*01
	TRAV7-2*02	CA	AR	SSGSWQLIF	TRAJ22*01
	TRAV7-2*02	CAA	IA	SSGSWQLIF	TRAJ22*01
Mouse 3	TRAV7-2*02	CA	AR	SSGSWQLIF	TRAJ22*01
	TRAV7-2*02	CAA	KIP	GSWQLIF	TRAJ22*01
Mouse 4	TRAV7-2*02	CA	AA	SSGSWQLIF	TRAJ22*01

Takeda Y, Suto Y, Ito K, Hashimoto W, Nishiya T, Ueda K, Narushima T, Takahashi T, Ogasawara K. TRAV7-2*02 expressing CD8⁺ T cells are responsible for Palladium allergy *Int. J. Mol. Sci.* 18: 1162, 2017. doi:10.3390/ijms18061162

研究の進展

腫瘍における ネオ・セルフ生成機構

Generation of neo-self antigens in the tumor microenvironment

宇高 恵子

高知大学 教育研究部医療学系基礎医学部門 教授



腫瘍に対する細胞性免疫が、まず超えなければいけないハードルが2つある。1. 自己寛容をいかにして破るか、2. 細胞同士の接触を必要とするT細胞と標的細胞の出会いを、いかにして実現するか、である。我々はこれらの課題に、以下のアプローチを試みている。

1 に対しては、

- A. 抗原ペプチドを用いて APC 上の抗原密度を上げる。
- B. ペプチドとアジュバントを効率よく樹状細胞に届け、活性化させる担体を開発する。

2 に対しては、

血管内皮細胞 (EC) による抗原提示の研究を行い、腫瘍組織へ T 細胞が抗原特異的に侵入するメカニズムを解明し、治療効果を高める次世代がん免疫療法の、論理的根拠を示す。

研究成果の紹介

1. MHC class I, class II 分子結合性ペプチドの解析法および予想法の開発

MHC 分子のペプチド結合特性の解析と予想法については、日本電気(株)と共同で、これまでに開発していた隠れマルコフモデルを基盤アルゴリズムとする MHC class I 分子結合性ペプチドの予想 platform の解析用アルゴリズムを、より情報抽出能が高い String-Kernel Support Vector Machine (SK-SVM) に置き換え、主な HLA-A のアリル分子について順次、質問学習を追加して、より予想能の高い platform に刷新している。また、HLA class I 分子のペプチド結合特性に関しては、欧米で最も頻度が高いアリルのひとつである HLA-A*01 分子や、アジアに多く、おそらく地球上でそれをもつ人が最も多い HLA-A*11 分子のような要求性の高い分子であっても、抗体がないため、現在も解析が困難なまま残されているものがある。そこで我々は Crispr/Cas9 システムを使って、系統的に主だった HLA-A 分子を発現する TAP 欠損細胞株を作製する一方、flow cytometry を用いたペプチド結合実験に適したモノクローナル抗体を新たに取り、ほとんどの HLA-A 分子について定量性のよい、ペプチド結合解析ができるようにした (論文投稿中)。

MHC class II 分子結合性ペプチドの解析は世界的にも遅れている。我々は、生きた抗原提示細胞の MHC class II 分子へのペプチドの結合を定量解析する実験法を開発し、手始めに HLA-DRB1*04:05 分子について、自動予測 platform を作製したところ、かつてない高い精度で結合性ペプチドを同定することが可能になった。この課題は、研究の過程で気づいた、細胞表面に会合した種々の peptidases により、解析用に加えたペプチドが消化される問題を解決することで打開できた。種々の peptidases に対する消化耐性を付与する、ペプチド末端の修飾法について特許が査定された (第 6218175 号、EP No.2792745)。



宇高研のメンバー

2. 血管内皮細胞 (EC) の抗原提示による、T 細胞の、腫瘍組織への抗原依存性浸潤機構の解明

我々は、腫瘍組織に CD4 T 細胞 (Th) が浸潤した場合に、しばしば固形腫瘍が縮小することに気がついた。そこで、腫瘍特異的 Th が腫瘍組織に集中して浸潤するメカニズムを調べたところ、EC が腫瘍抗原を行い、Th の抗原依存性の腫瘍内浸潤を促すことが明らかとなった。また、腫瘍を縮小させるのは腫瘍特異的 CTL であり、CTL は腫瘍内に浸潤した Th がもう一度、腫瘍内で樹状細胞に抗原提示を受けて活性化して産生した IFN- γ によって EC から分泌されるケモカインを認識して腫瘍組織に浸潤することがわかった (論文投稿中)。

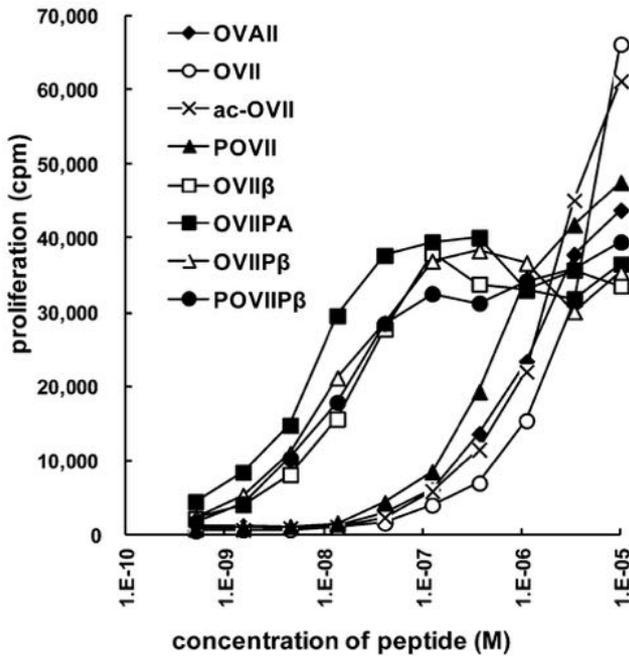


図 1. MHC class II 結合性ペプチドの両末端にペプチダーゼ耐性を付与する修飾を加えると、抗原提示細胞の細胞表面の MHC class II 分子への結合効率が数百倍高まり、その結果、Th 細胞の誘導効率も数百倍高まることがわかった。左図に示す *in vitro* 誘導系のみならず、*in vivo* における誘導効率も大幅に高めることができた。

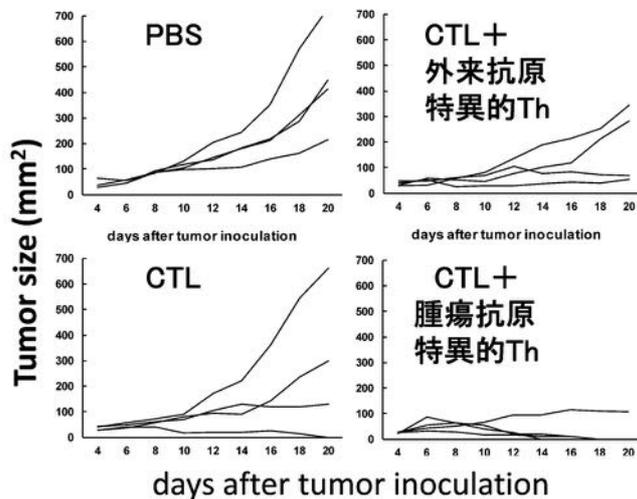


図 2. EC による腫瘍抗原の提示は外因系抗原提示経路を経て MHC class II にペプチドが提示されるため、Th の浸潤を誘導する。その Th が IFN- γ 依存性ケモカインの産生を誘導して、CTL の腫瘍内浸潤を促す。CTL、Th の両方を誘導する腫瘍ペプチドを免疫すると、腫瘍が拒絶される。

1. Komaniwa S, Hayashi H, Kawamoto H, et al. Lipid-mediated presentation of MHC class II molecules guides thymocytes to the CD4 lineage. *Eur J Immunol.*, 39(1):96-112, 2009. doi: 10.1002/eji.200838796.
2. Udaka K, Mamitsuka H, Nakaseko Y, et al. Empirical evaluation of a dynamic experiment design method for prediction of MHC class I-binding peptides. *J Immunol.*, 169(10): 5744-53, 2002.
3. Udaka K, Oka Y, Tsuboi A, et al. Cancer immunotherapy targeting Wilms' tumor gene WT1 product. *J Immunol.*, 164(4):1873-80, 2000.
4. Udaka K, Wiesmüller K-H, Kienle S, et al. Self MHC-restricted peptides recognized by an alloreactive T lymphocyte clone. *J Immunol.*, 157(2): 670-8, 1996.
5. Udaka K, Tsomides TJ, Eisen HN. A naturally occurring peptide recognized by alloreactive CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes in association with a class I MHC protein. *Cell.*, 69(6):989-98, 1992.



高知大学にも、モアイが?



ペプチドエンジニアリングと腫瘍微小環境改善による腫瘍免疫の誘導

Induction of a potent tumor immunity by active immunization of well designed oncoantigenic peptides and amelioration of tumor microenvironments

西村 泰治

熊本大学 大学院生命科学研究所 免疫識別学分野
学術研究員 名誉教授

我々は腫瘍免疫を強化して悪性腫瘍を排除すべく、腫瘍免疫を担う CD8⁺細胞傷害性 T 細胞 (CTL) あるいは CD4⁺ ヘルパー T (Th) 細胞を活性化し、HLA 分子により提示される腫瘍関連抗原 (TAA) 由来の抗原ペプチドを、永年にわたって多数同定し臨床応用に供して来た。さらに担がん個体で増加する IL-6 とその可溶性受容体 (sIL-6R) が、CD4⁺T 細胞に作用して Th1 細胞への分化を抑制することにより、CTL を介した腫瘍免疫を抑制する現象を発見し、その機序を解明した。本研究班では、能動免疫により腫瘍免疫を誘導する優れた TAAs 由来のペプチドの同定と、新たな免疫抑制機構の解除の併用による、より効力の強い腫瘍免疫の誘導を目指して基礎免疫学的な研究を実施している。以下に、現在までに得られた研究成果の概要について紹介する。

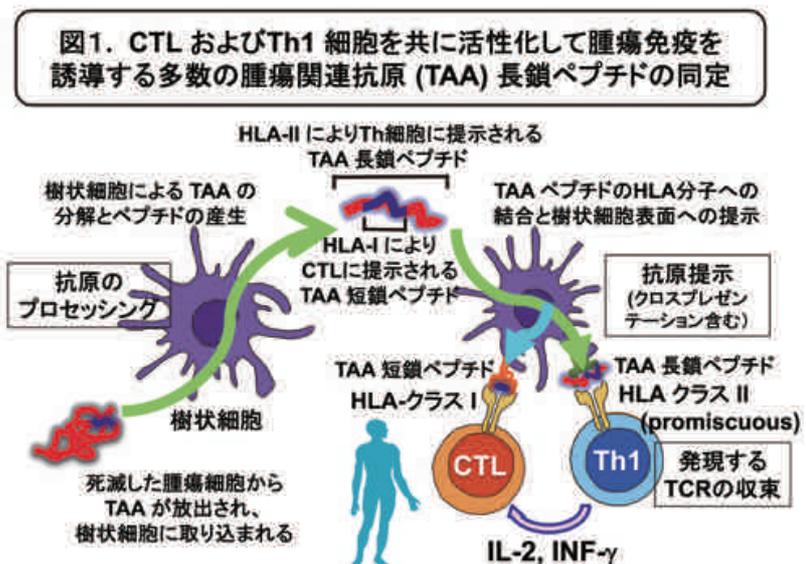
1. 新規 TAAs の同定と CTL 誘導性 TAAs 短鎖ペプチドによる免疫療法の奏功

我々は、がんと正常組織の Genome-wide cDNA microarray 解析により、新規がん胎児性抗原とがん精巢抗原を 12 種類同定した。さらに日本人で頻度が高い HLA-A24 あるいは A2 分子に結合して、がん細胞を傷害する CTL を誘導する短鎖ペプチドを多数同定した (*Clin. Cancer Res.* 2004 x3, 2008 ほか、特許出願・登録 12 件)。我々が開発した CTL を誘導する 3 種類の TAAs 由来の短鎖ペプチドは、医師主導臨床研究において進行性頭頸部癌患者 43 症例で有害事象もなく、QOL を損なうこともなく生存期間を有意に延長させた。さらに他の治療法に不応のがん患者 1 症例で、主病巣と転移巣が 6 年間に渡って消滅する Complete response が得られている (*Clin. Cancer Res.* 2015, *Oncolmmunol.* 2015)。この短鎖ペプチド能動免疫療法については、現在、製薬企業による臨床第Ⅲ相治験が進行中である。

2. Th1 細胞と共に CTL をも活性化できる TAAs 長鎖ペプチドの同定 (図 1)

その後、CTL を活性化する短鎖ペプチドの単独投与では、樹状細胞のようなプロフェッショナル

抗原提示細胞以外の、有核細胞のほとんどに発現する HLA クラス I 分子による抗原提示が生じ、これを認識した T 細胞は不活性化されるとの報告がなされた。そこで、我々は CTL 誘導短鎖ペプチドを内包し、かつ日本人で頻度が高い数種類の HLA クラス II 分子に結合して CD4⁺T 細胞に提示され、これを活性化して抗腫瘍免疫を増強する長鎖ペプチドを多種類の TAAs について多数同定した。さらに樹状



細胞による Cross-presentation により、Th1 細胞と CTL を共に活性化する長鎖ペプチドを多数同定した (*Clin. Cancer Res.* 2013, *Oncolimmunol.* 2013, 2014 x2, 2015, 2016 x2, 2018, 欧州臨床腫瘍学会 (ESMO) 招聘講演, 特許出願 6 件)。

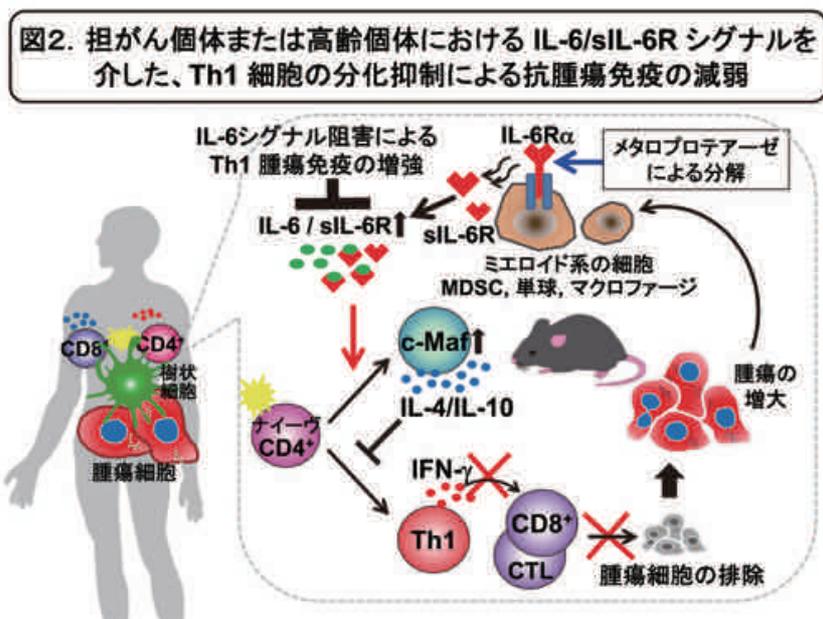
3. 担がんマウスおよび老齢マウスにおける IL-6 シグナルを介した腫瘍免疫抑制の発見 (図 2)

我々は担がんマウスにおいて増加するミエロイド系抑制性細胞 (MDSC) が産生する IL-6 が、がん抗原特異的 Th1 細胞の分化を抑制することにより、CTL を介した腫瘍免疫を抑制することを発見した (*Cancer Immunol. Res.* 2013)。さらにミエロイド系細胞が産生するメタロプロテアーゼの作用により、可溶化された IL-6 受容体 (sIL-6R) と IL-6 複合体を介したシグナルに起因する、CD4⁺ T 細胞における C-Maf の発現増加が Th1 細胞の分化を抑制して、腫瘍免疫を減弱させることを明らかにした。 (*Cancer Res* 2017)。

また老齢マウスにおいても血清 IL-6 が増加し、IL-6 シグナルによる C-Maf の発現増加を介した Th1 細胞の分化抑制により、CTL による腫瘍免疫が著明に減弱することを発見した。さらに、これらの Th1 細胞の分化抑制を、抗 IL-6 抗体の投与により回避して腫瘍免疫を増強できることを明らかにした (*Nat. Commun.* 2015)。

4. がん患者において増加する sIL-6 を介した Th1 細胞の分化抑制の発見

口腔癌患者では健常人と比較して血清 IL-6 および sIL-6R の濃度が増加し、血清 sIL-6R が高値を示す患者では、ミエロイド系細胞表面における IL-6R の発現が sIL-6R としての分泌により減少していることを観察した。さらに口腔癌患者の CD14⁺ ミエロイド細胞が分泌する IL-6/sIL-6R が、ヒト CD4⁺ T 細胞からの Th1 細胞の分化誘導を c-Maf の発現増強を介して、抑制していることを発見した。つまり、がん患者でも担がんマウスと同様の機序により、Th1 細胞の分化が IL-6/sIL-6R シグナルを介して、抑制されていることを明らかにした (*Cancer Res.* 2017)。



1. Tsuruta M, Ueda S, Yew PY, et al. Bladder cancer-associated cancer-testis antigen-derived long peptides encompassing both CTL and promiscuous HLA class II-restricted Th cell epitopes induced CD4⁺ T cells expressing converged T-cell receptor genes *in vitro*. *Oncolimmunol.* 7: e1415687, 2018. doi: 10.1080/2162402X.2017.1415687.
2. Tsukamoto H, Fujieda K, Hirayama M, et al. Soluble IL-6R expressed by myeloid cells reduces tumor-specific Th1 differentiation and drives tumor progression. *Cancer Res.* 77: 2279-2291, 2017. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2446.
3. Hirayama M, Tomita Y, Yuno A, et al. An oncofetal antigen, IMP-3-derived long peptides induce immune responses of both helper T cells and CTLs. *Oncolimmunol.* 5: e1123368, 2016. doi: 10.1080/2162402X.2015.1123368.
4. Sayem MA, Tomita Y, Yuno A, et al. Identification of Glypican-3-derived long peptides activating both CD8⁺ and CD4⁺ T-cells; Prolonged overall survival in cancer patients with Th cell response. *Oncolimmunol.* 5: e1062209, 2016. doi: 10.1080/2162402X.2015.1062209.
5. Tsukamoto H, Senju S, Matsumura K, et al. IL-6-mediated environmental conditioning of defective Th1 differentiation dampens anti-tumor immune responses in old age. *Nat. Commun.* 6: e6702, 2015. doi: 10.1038/ncomms7702.

研究の進展

ネオ・セルフ認識レセプターのレパートリー解析

Repertoire analysis of neo-self-recognizing receptors

岸 裕 幸

富山大学 大学院医学薬学研究部(医学)免疫学 准教授



富山大学は十数年前より、リンパ球を単一細胞レベルで解析する技術を開発してきました。初めは工学系研究機関との共同研究で、リンパ球がちょうど1個入る大きさ・形状の微小ウェルが約24万ウェル規則正しく配置されたリンパ球チップを開発しました。さらにこのチップを用いて、抗原で活性化されたBリンパ球を単一細胞レベルで検出する方法を開発しました。具体的には、Bリンパ球を、細胞内Ca²⁺に反応し蛍光を発するFluo-4で標識し、抗原刺激前後のFluo-4の蛍光を蛍光スキャナーで測定することにより、抗原で活性化されたBリンパ球を検出しました。検出したBリンパ球をチップから回収し、回収した1個のBリンパ球から抗体cDNAを増幅し、抗体を取得しました。その後、チップ上で抗原特異的抗体を分泌する細胞を検出するImmunospot array assay on a chip (ISAAC)法を開発し、抗原特異的Bリンパ球を高感度に検出し、抗体cDNAを迅速に取得することが可能になりました。現在は様々な研究室と共同で、目的抗原や自己抗原に特異的な抗体を取得し、その性状を解析しています。この一連の研究で、1個のリンパ球から抗原受容体遺伝子を取得するノウハウを蓄積しました。

次に、単一細胞解析による抗原特異的T細胞受容体(TCR)の取得法を開発しました。この場合、チップは使わず、抗原ペプチド/HLAテトラマーを結合させたTリンパ球をセルソーターで検出・単一細胞ソートし、1個のTリンパ球からTCR cDNAを増幅し、その抗原特異性の検証までを10日間という短期間で行うことができる方法(hTEC10法)を開発しました。腫瘍や自己免疫疾患においては、リンパ球の腫瘍への浸潤や、組織への浸潤が報告されています。そこで私たちは、hTEC10法を用いてマウスに移植した腫瘍に浸潤したTリンパ球のTCRレパトアを解析し、腫瘍特異的TCRを取得できるかを検討しました。腫瘍に反応するT細胞は腫瘍内で活性化されていると考えられることから、活性化マーカーであるCD137(4-1BB)やPD-1の発現を指標に腫瘍内の活性化T細胞のTCRレパトアを解析したところ、同一TCRをもつクローナルに増殖したポピュレーションが高頻度に存在することを見出し、これらのTCRが腫瘍細胞に反応することを証明しました⁽¹⁾。現在、これらの抗体やTCRを取得する技術を基盤に研究を進めています。

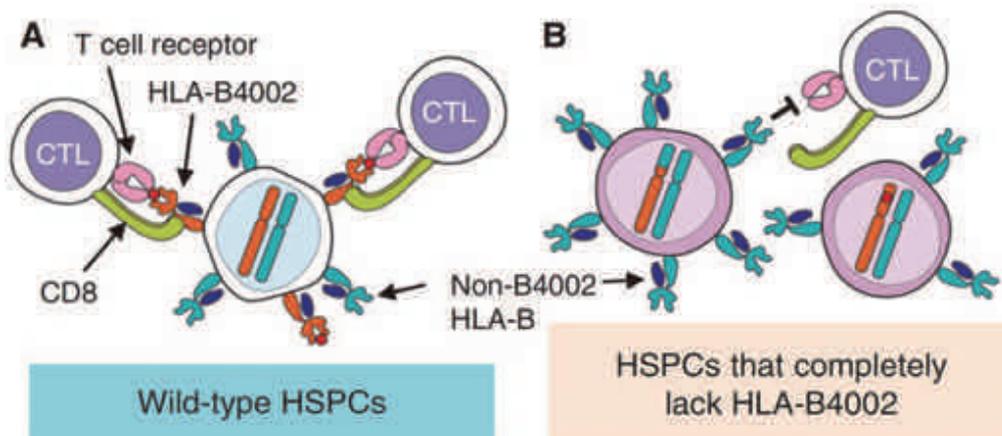


図1 HLA-B4002を特異的に認識する抗体を作製した。再生不良性貧血の患者におけるHLA領域の欠失等のチェックに応用可能

新学術領域「ネオ・セルフ」においては、ネオ・セルフ反応性抗原受容体を同定する技術的などころに参加させていただいています。これまでに、領域内の先生方と共同研究させていただき、複数の抗原受容体をクローニングしました。自己免疫疾患関係では、九州大学の笹月先生と共同で、グレーブス病患者のリンパ球を自己抗原で刺激し、リンパ球の増殖を指標に単一細胞ソートし、そのTCRレパトアの解析を行いました。その結果、増殖した細胞集団にクローナルに増殖しているポピュレーションが観察され、現在はそのTCRの抗原特異性の検証を行っています。また、徳島大学の松本先生と共同で、AIREトランスジェニックマウスにおける自己免疫疾患発症モデルで、組織に浸潤したT細胞のレパトアを解析させていただき、クローナルに増殖しているポピュレーションを見出しました。これも今後TCRの抗原特異性を解析していく予定です。また、領域内ではありませんが、金沢大学の中尾先生のグループと共同で、自己免疫性の再生不良性貧血の患者のリンパ球の解析をさせていただいています。この患者では、骨髄幹細胞の一部がHLA-B*40:02を欠失しており、また、自己の骨髄幹細胞を傷害する末梢血リンパ球由来T細胞株が作製できています。私たちはまずHLA-B*40:02を特異的に認識する抗体のcDNAを、ISAAC法を用いてヒト末梢血リンパ球よりクローニングしました(図1)⁽²⁾。後天性の再生不良性貧血では、HLA-B*40:02の突然変異が高頻度に見られることから、この抗体は新規診断法の開発等に有用であると期待されています。また、私たちはこの患者の骨髄細胞中のT細胞レパトアを解析し、自己の骨髄幹細胞を傷害するT細胞株のTCRレパトアと同じTCRをもつ細胞がドミナントに増殖していることを見出しました(図2)⁽³⁾。現在、このTCRが再生不良性貧血の誘導に関与しているかを解析しようとしています。

このように腫瘍や組織に浸潤しているT細胞のレパトアを解析することにより、腫瘍や組織に反応する特異的なTCRを取得することが可能ですが、その抗原を特定することも不可欠です。従来の抗原を同定する方法は多大な労力が必要でした。私たちは、この新学術領域研究の中で、TCRの抗原を簡便に同定するための方法を開発していきたいと考えています。また、領域内の共同研究を通じて、ネオ・セルフ反応性抗原受容体とネオ・セルフとの反応性の解析を進めていきたいと考えています。今後ともよろしく願いいたします。

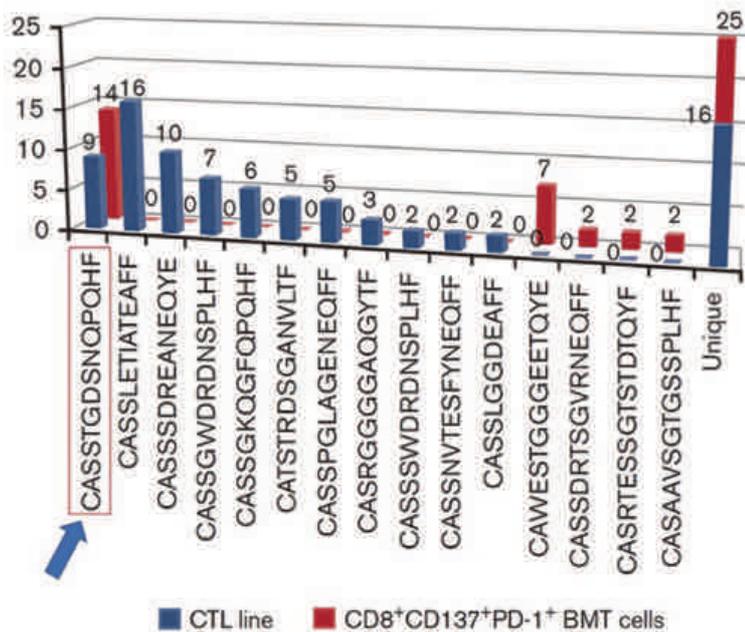


図2 骨髄幹細胞の一部がHLAを欠失している再生不良性貧血の患者の骨髄中で、自己HLAに反応すると考えられるT細胞のTCRをクローニングした。

- Shitaoka K, Hamana H, Kishi H, Hayakawa Y, Kobayashi E, Sukegawa K, Piao X, Lyu F, Nagata T, Sugiyama D, Nishikawa H, Tanemura A, Katayama I, Murahashi M, Takamatsu Y, Tani K, Ozawa T, Muraguchi A. Identification of tumoricidal TCRs from tumor-infiltrating lymphocytes by single-cell analysis. *Cancer Immunol Res.* 2018; 6(4):378-388. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0489.
- Zaimoku Y, Takamatsu H, Hosomichi K, Ozawa T, Nakagawa N, Imi T, Maruyama H, Katagiri T, Kishi H, Tajima A, Muraguchi A, Kashiwase K, Nakao S. Identification of an HLA class I allele closely involved in the autoantigen presentation in acquired aplastic anemia. *Blood.* 2017;129(21):2908-2916. doi: 10.1182/blood-2016-11-752378.
- Espinoza JL, Elbady MI, Chonabayashi K, Yoshida Y, Katagiri T, Harada K, Nakagawa N, Zaimoku Y, Imi T, Hassanein HA, Khalifa A, Noreldin A, Takenaka K, Akashi K, Hamana H, Kishi H, Akatsuka Y, Nakao S. Hematopoiesis by iPSC-derived hematopoietic stem cells of aplastic anemia that escape cytotoxic T-cell attack. *Blood Adv.* 2018; 2(4):390-400. doi: 10.1182/bloodadvances.2017013342.

研究の進展

胸腺における ネオセルフ生成機構

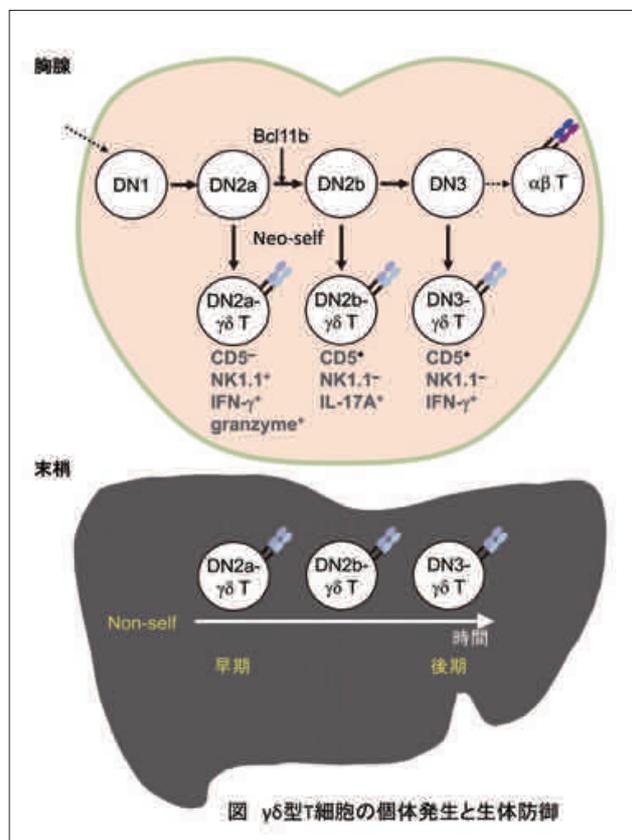
Mechanisms for the creation of neo-self in the thymus

吉開 泰信

九州大学 生体防御医学研究所
免疫ゲノム生物学分野 学術研究員 名誉教授



$\gamma\delta$ 型T細胞は外来抗原に暴露される前に胸腺において“ネオセルフ”で選択をうけてサイトカイン産生などの機能を獲得する自然免疫Tリンパ球の代表です。通常の $\alpha\beta$ 型T細胞は $CD4^-CD8^-$ ダブルネガティブ(DN)胸腺細胞から、 $CD4^+CD8^+$ ダブルポジティブ(DP)胸腺細胞を経て分化しますが、 $\gamma\delta$ 型T細胞はDN胸腺細胞より直接分化します。DN胸腺細胞の分化段階はDN1、DN2a、DN2b、DN3、DN4ステージに分類されます。我々のグループは通常の $\alpha\beta$ 型T細胞の分化に必要な転写因子B-cell leukemia/lymphoma 11B(Bcl11b)が発現する前のDN2a細胞のステージから直接分化する $CD5^-NK1.1^+$ $\gamma\delta$ 型T細胞とBcl11b依存的にDN2aおよびDN3細胞のステージから分化する $CD5^+NK1.1^-$ $\gamma\delta$ 型T細胞が存在することを見出しました。 $CD5^-NK1.1^+$ $\gamma\delta$ T細胞と $CD5^+NK1.1^-$ $\gamma\delta$ T細胞の末梢での役割を細菌感染症モデルで調べたところ、早い段階で分化する $CD5^-NK1.1^+$ $\gamma\delta$ T細胞が $CD5^+NK1.1^-$ $\gamma\delta$ T細胞より早いステージで感染防御に働くことを明らかにしました。以上、胸腺でより早いステージで分化する“primitive $\gamma\delta$ 型T細胞”は、末梢においても、より早いステージで感染防御に貢献することを示し、“生体防御は個体発生を繰り返す”という概念を科学的に立証できたと考えています(図)。この概念を基本として、 $\gamma\delta$ 型T細胞の胸腺と末梢でのネオセルフ認識機構を明らかにして行きたいと考えています。



1. Maimaitijiang G, Shinoda K, Nakamura Y, et al. Association of decreased percentage of $V\delta 2^+V\gamma 9^+$ $\gamma\delta$ T cells with disease severity in multiple sclerosis. *Front Immunol.* 10;9:748. 2018. doi: 10.3389/fimmu.2018.00748.
2. Shimba A, Cui G, Tani-ichi S, et al. Glucocorticoids drive diurnal oscillations in T cell distribution and responses by inducing interleukin-7 receptor and CXCR4. *Immunity* S1074-7613(18)30004-9. 2018. doi: 10.1016/j.immuni.2018.01.004.
3. Hatano S, Murakami T, Noguchi N, et al. $CD5^-NK1.1^+$ $\gamma\delta$ T cells that develop in a Bcl11b-independent manner participate in early protection against infection. *Cell Reports* 21:1191-1202. 2017. doi: 10.1016/j.celrep.2017.10.007.
4. Murakami T, Hatano S, Yamada H, et al. Two types of IL-17A-producing $\gamma\delta$ T cells in protection against pulmonary infection with *Klebsiella pneumoniae*. *J Infect Dis.* 214:1752-1761. 2016.
5. Akitsu, A, Ishigame, H, Kakuta, S, et al. IL-1 receptor antagonist-deficient mice develop autoimmune arthritis due to intrinsic activation of IL-17-producing $CCR2^+V\gamma 6^+$ $\gamma\delta$ T cells. *Nat Commun.* 6:7464, 2015. doi: 10.1038/ncomms8464.

研究の進展

ネオ・セルフの立体構造解析

Structural analysis of neo-self

横山 茂之

理化学研究所 横山構造生物学研究室 上席研究員



「ネオ・セルフ」は、HLA 分子と抗原ペプチドとの複合体が、免疫応答を引き起こす様式で T 細胞に提示されるものである。複数の HLA・ペプチド複合体や、その TCR の $\alpha\beta$ ヘテロ 2 量体との複合体の細胞外領域の立体構造が解析されているが、「ネオ・セルフ」とその他の提示様式の本質的な差異は解明されていない。我々は、外来抗原ペプチド（スギ花粉症抗原ペプチド）と HLA クラス II（HLA-DP5）との複合体構造を解析し、HLA-II 分子がホモ会合体を形成することを発見した（図 1、2）。

HLA-DP5 とスギ花粉抗原ペプチド pCry j-1（13 残基）との複合体の会合構造では、ペプチドの N 末端側「隣接領域」のうちの 2 残基は、隣の HLA-DP5 分子と特異的に相互作用し、会合体を安定化している。「隣接領域」と相互作用するアミノ酸残基、会合体中で HLA-DP5 同士が直接相互作用する界面の残基は、HLA-DP5 特異的であり、HLA-DP の進化過程で、ペプチドと会合の特異性はほぼ同時に確立したと結論された。これらの特異的相互作用を詳細に解析し、変異体設計の基礎とした。

HLA-DP5・pCry j-1 複合体（GFP 融合）を HEK293 細胞に発現し、細胞表面における会合状態のライブセルイメージングにより、蛍光パッチが観察された。蛍光パッチは、ホモ会合に関わるペプチド隣接領域や HLA-DP5 間界面の残基への変異の導入によって著しく縮小したことから、結晶中のホモ会合体に対応すると結論された。

HLA-DP5 の野生型と界面変異体をマウス抗原提示細胞に発現し、HLA-DP5 のホモ会合体がペプチドを提示する強度を解析した。野生型 HLA-DP5 発現細胞の表面に、野生型の pCry j-1（13 残基）は、隣接領域変異体ペプチドより著しく多く提示された。界面変異体 HLA-DP5 の発現細胞では、pCry j-1 提示量が少なかった。したがって、HLA-DP5 のホモ会合は、提示細胞における抗原提示を強化している。

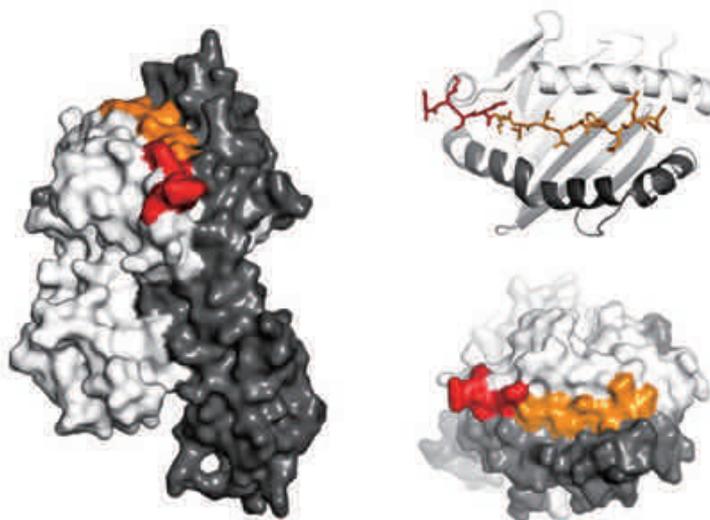


図1 HLA-DP5 [α (白)・β (灰)] とスギ花粉抗原ペプチド

〔収容溝内の 9 残基 (オレンジ) および収容溝外の隣接領域 4 残基 (赤)〕の複合体構造。
左、側面；右、上面。

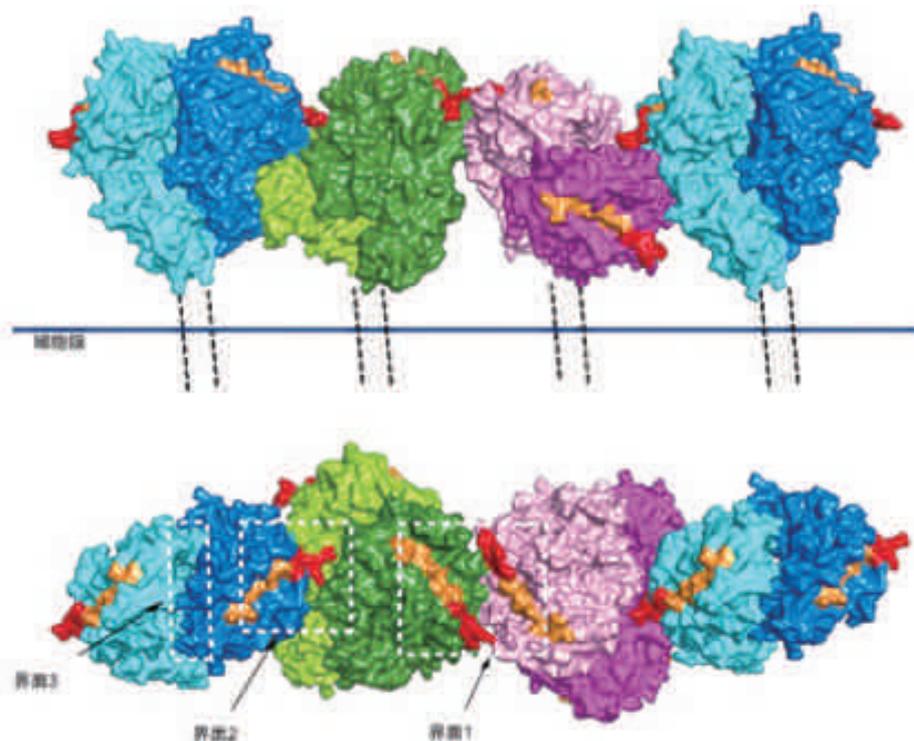


図2 HLA-DP5 とスギ花粉抗原ペプチド

〔収容溝内9残基（オレンジ）、収容溝外の隣接領域4残基（赤）〕複合体の集合構造。
上、側面；下、上面。

これと対応して、分担研究者の笹月ら（九州大学）は、2名の患者から得られた HLA-DP5 と pCry j-1（13 残基）を認識する T 細胞から、岸班においてクローニングされた複数の TCR 遺伝子を TG40 細胞に発現し、野生型または分子間界面変異体の HLA-DP5 を発現したマウス抗原提示細胞と、野生型または隣接領域変異体の pCry j-1（13 残基等）によって刺激して、T 細胞活性化（IL-2 産生量）を解析した。HLA-DP5 の分子間界面への変異およびペプチドの隣接領域への変異は、T 細胞の活性化を著しく低下させることが判明し、ホモ会合の重要性が明らかになった。

以上の HLA-II ホモ会合の意義の解明は、我々の構造解析と笹月らによる T 細胞活性化解析の一体となった研究により可能になった。笹月班では、スギ花粉症、グレーブス病、橋本病に関する免疫応答解析、TCR の取得、ペプチドの特定を進めており、今後は、それらについても結晶構造解析を進める。HLA-DP5 分子を中心に、自己免疫応答およびアレルギー応答を惹起する「ネオ・セルフ」と T 細胞によるその認識の構造を基盤として、胸腺での T 細胞による正と負の選択と、末梢における免疫応答の正負の制御の理解を統合して、自己免疫応答、アレルギー応答を解明したい。

本研究では、抗原提示細胞における HLA-II のホモ会合やペプチド提示量等の解析は、斉藤班との有機的結合によって実施した。岸班によって、自己免疫疾患の「ネオ・セルフ」を認識する TCR クローンが取得された。今後は、横須賀班の分子イメージングと共同研究を展開し、TCR ナノクラスターと HLA-II ホモ会合との相関を検証していく予定である。このような領域の多くの研究班との共同で総合的な研究を行い、「ネオ・セルフ」の普遍的理解を目指す。

1. Terada T, Kusano S, Matsuda T, et al. Cell-Free Protein Production for Structural Biology. *Advanced Methods in Structural Biology*. (eds.) Toshiya Senda, Katsumi Maenaka. 83-102, 2016. doi: 10.1007/978-4-431-56030-2_5.
2. Miyadera H, Bungener L. B, Kusano S, et al. Questionable expression of unstable DQ heterodimer containing HLA-DQA1*01:07. *Tissue Antigens*. 86 (6): 413-8, 2015. doi: 10.1111/tan.12686.
3. Kusano S, Kukimoto-Niino M, Satta Y, et al. Structural basis for the specific recognition of the major antigenic peptide from the Japanese cedar pollen allergen Cry j 1 by HLA-DP5. *J. Mol. Biol.* 426 (17): 3016-27, 2014. doi: 10.1016/j.jmb.2014.06.020.
4. 草野清輔、横山茂之. HLA 分子の立体構造から見えるもの. *血液フロンティア* .23 (8): 1051-8, 2013.

研究の進展

ネオ・セルフの立体構造解析

Structural analysis of neo-self

笹月 健彦

九州大学 高等研究院 特別主幹教授



外来および自己由来抗原に対する免疫応答を HLA の構造と機能を中心に解析し、アレルギー疾患および自己免疫疾患の本態解明を目指しています。グレーブス病 (GD) と橋本病 (HT) は同じ甲状腺を舞台とした自己免疫応答に由来していますが、臨床的には甲状腺機能亢進症 vs 機能低下というように全く異なっている一方、同一家系に GD と HT が混在する例や、同じ HLA 遺伝子が共通に GD と HT の発症に寄与することをすでに報告してきました。

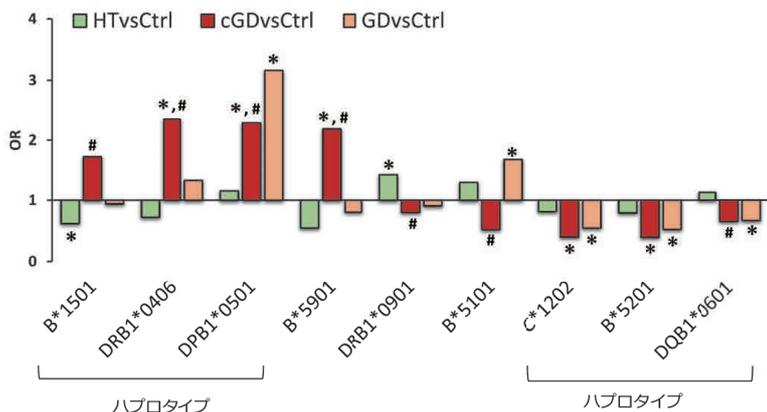
ここでは、HT から GD へ臨床的に転換した converted GD (cGD) 患者 87 例を対象に HLA 解析し、すでに明らかにしている GD、HT およびコントロール群との HLA プロフィールを比較することにより HT から GD への転換機構の解明およびそれをもとに、GD、HT 発症機構のさらなる理解を目指し以下のような結果を得ました。

HT から GD へ転換した患者 (cGD) は 4 種類の HLA と強い正の相関を示します。その第一は HLA-DPB1*05:01 で、これは TSHR に対する活性化自己抗体産生に寄与し、GD の病因となるものでこれを持つことが HT から GD へ転換する一因となります。残り 3 種類のうち HLADRB1*04:06、と B*15:01 は HLA-DPB1*05:01 と強い連鎖不平衡にあり、これらは HLA-DPB1*05:01 にハイジャックされただけなのか、あるいはそれぞれ機能するのか今のところ不詳です。一方、cGD 患者と負の相関を示す 5 種類の HLA を同定しました。このうちの 3 種類 (HLA-B*52:01、C*12:02、DQB1*06:01) は強い連鎖不平衡によって日本人集団に最も頻度の高い HLA ハプロタイプ (HP1) を構成する HLA アリルです。この HP1 は GD に対する強い抵抗性を示すことから、これと負の相関を示す cGD は GD 発症へ向かうこととなります。残りのうち HLA-DRB1*09:01 は HT 患者では正の相関を示すことから、これと負の相関を示す cGD は HT 発症に抵抗することで、GD へ向かうことを可能にしています。

最後に cGD と正の相関を示す HLA-B*59:01 と負の相関を示す HLA-B*51:01 は GD、HT のデータでは説明出来ないユニークな相関を示し、今後の興味ある課題です。

本研究で確定した cGD 感受性の HLA-DPB1*05:01 ハプロタイプと cGD 抵抗性 HLA ハプロタイプ (HP1) の干渉作用を構造学的、および分子免疫学的に解明を進めることにしています。

橋本病 (HT) からグレーブス病 (GD) に転換した cGD 患者と HT 患者、GD 患者のオッズ比 (OR) の比較



*P<0.05 vs control group
#P<0.05 vs HT group

- Morishima S, Shiina T, Suzuki S, Sasazuki T, Morishima Y, et al. Evolutionary basis of HLA-DPB1 alleles affects acute GVHD in unrelated donor stem cell transplantation. *Blood*. 15;131(7):808-817, 2018. doi: 10.1182/blood-2017-08-801449.
- Sasazuki T, Inoko H, Morishima S, Morishima Y. Gene Map of the HLA Region, Graves' Disease and Hashimoto Thyroiditis, and Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Adv Immunol*. 129:175-249, 2016. doi: 10.1016/bs.ai.2015.08.003.
- Kusano S, Kukimoto-Niino M, Satta Y, Sasazuki T, Yokoyama S, et al. Structural basis for the specific recognition of the major antigenic peptide from the Japanese cedar pollen allergen Cry j 1 by HLA-DP5. *J Mol Biol*. 426(17):3016-27, 2014. doi: 10.1016/j.jmb.2014.06.020.
- Jin H, Arase N, Hirayasu K, Sasazuki T, Arase H, et al. Autoantibodies to IgG/HLA class II complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111(10):3787-92, 2014. doi: 10.1073/pnas.1401105111.
- Ueda S, Oryoji D, Yamamoto K, Noh JY, Ito K, Sasazuki T, et al. Identification of independent susceptible and protective HLA alleles in Japanese autoimmune thyroid disease and their epistasis. *J Clin Endocrinol Metab*. 99(2):E379-83, 2014. doi: 10.1210/jc.2013-2841.

研究の進展

ネオ・セルフとしての ミスフォールド蛋白質解析

Analysis for neo-self in MHC-misfolded protein complex

横須賀 忠 東京医科大学 免疫学分野 主任教授



当教室は、従来の生化学と先端的分子イメージングを融合させ、「T細胞シグナルを可視化する」という独自の視点から一貫した研究を進めている。T細胞機能に関わるさまざまなシグナル伝達分子の集合体シグナルソーム（マイクロクラスター）がどのように時空間的なT細胞活性化制御を行っているかを知ることが、複雑なT細胞応答を解き明かす鍵になると考えている。ネオ・セルフ研究もその研究の内であり、①超解像ユニット N-SIM 搭載全反射蛍光顕微鏡（TIRFM）と抗原提示人工平面脂質二重膜（プレイナーメンブレン）を使ったT細胞シグナルの技術基盤の創出とネオ・セルフの構造観察、②選択前胸腺細胞が構築するシグナルソームとセルフ、ノン・セルフ、ネオ・セルフの認識との関連、③T細胞共刺激分子によるT細胞受容体（TCR）シグナルの調節とネオ・セルフ抗原の認識の質的量的なシフト、④キメラT細胞受容体（CAR）によるがん抗原の認識と細胞傷害性T細胞（CTL、CAR-T細胞）活性化の分子メカニズムの解明、の4つのプロジェクトを遂行している。

セルフとノン・セルフの境界線に位置するネオ・セルフは、恐らく当教室が可視化して来た数十個の受容体分子が集まったマイクロクラスターより微細なシグナルソームであることが予想される。超解像顕微鏡で観察した無刺激のT細胞では、TCRやその下流のシグナル伝達分子が既にナノクラスターと呼ばれる数個の分子が凝集したクラスターを形成していると報告されている。従って数個から数十個の分子数測定によって、ネオ・セルフ抗原を認識するTCRクラスターの可視化が可能になる。プレイナーメンブレンを最大限に活用するため、細胞膜近傍のイベントに最適な全反射蛍光顕微鏡に、経時的にナノクラスターの観察が可能な超解像ユニット N-SIM を搭載することにより（図1）、TCRの1分子リアルタイムイメージングが可能になった。これによる観察では、マイクロクラスターに局在するTCR/CD3複合体もリジッドにクラスター内に固定されることなく、動的平衡を保ちながら微細運動を行っていることや、TCR/CD3複合体がマイクロクラスターにトラップされる現象、またマイクロクラスター間を移動する運動などを見ることが出来る。また、細胞膜上の分子も細胞質分子も、TCRマイクロクラスターに局在しているものは運動速度もベクトルの総和も小

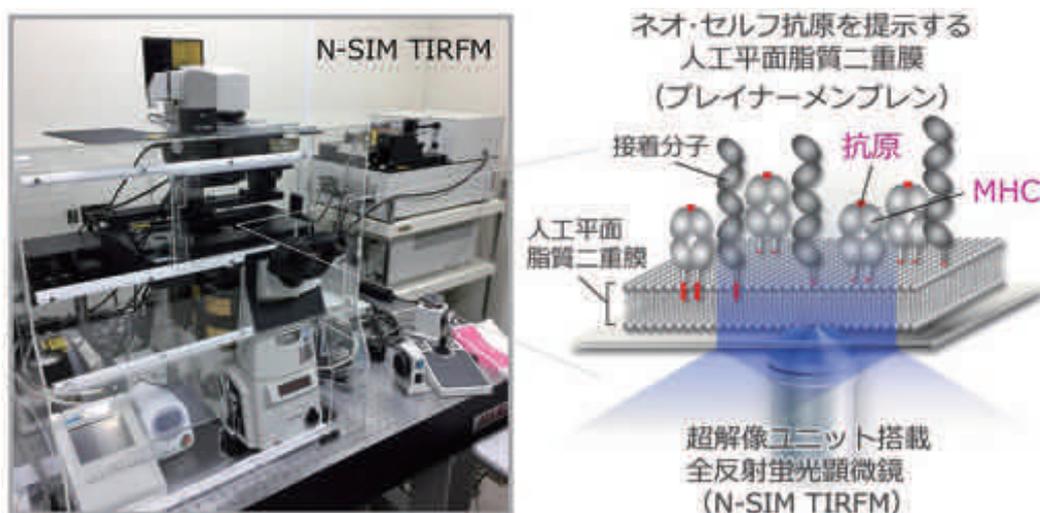


図1 ネオ・セルフの認識を可視化する分子イメージングシステム

さいのに反し、局在せずにフリーの分子として存在するものはその数十倍のスピードで運動している、つまりシグナル伝達分子の会合や酵素活性作用がそれに準じた高速でなされていることが予想させる。図2では、T細胞が抗原刺激を受けた30秒後、つまり活性化極初期にTCRマイクロクラスターができる過程の、1秒30フレームのCD3ζ鎖(図2a)とそれをチロシンリン酸化するSrcファミリーキナーゼLckの挙動(図2b)を図示した。CD3ζ鎖はEGFPタグで全てを可視化、つまりTCRマイクロクラスター全体を示し(図2a、緑)、図2cではそれぞれのTCRマイクロクラスターの輪郭を白線でトレースした。LckはHaloTag[®]タンパク質タグによって、100個につき1個のLckを可視化し、1分子解析を行っている(図2b、マゼンダ、輝点1個がLck1分子)。それぞれのLck1分子の挙動をマルチカラーにてトレースし(図2d)、図2cでTCRマイクロクラスターと重ね合わせることで、Lck1分子がTCRマイクロクラスター間を高速で移動し、あるLck分子はマイクロクラスターにトラップされている所が見て取れる。この様な手法を用いることで、現在ネオ・セルフを認識するTCRマイクロクラスターの解析を行っている。

②選択前胸腺細胞のネオ・セルフの認識では、TCR刺激後のTCRのインターナリゼーションを促進するE3ユビキチンリガーゼCblファミリーの解析から、末梢T細胞のTCRのインターナリゼーションがCbl-bの機能に寄る一方、選択前胸腺細胞ではc-CblがTCRの細胞表面発現を制御し、TCRシグナルの強さと胸腺選択性とを決めることを、転写因子NF-ATの核内移行を指標に成功している。

③T細胞共刺激分子は、活性型受容体、抑制性受容体ともに下流のシグナル伝達分子を伴ったシグナルソームの形成と、それがT細胞シグナルを調節していることを明らかにしており、共刺激分子マイクロクラスターとしてT細胞シグナルを増幅減衰させることでネオ・セルフに必要なシグナル強度のシフトを起こす可能性を解析している。

④CARマイクロクラスターの可視化にも成功しており、CARが共刺激分子の細胞内シグナル伝達を流用している点を考慮すると、CARシグナル強度の調節もシグナルソームという概念や、さまざまなシグナル伝達分子のクラスタリングによって制御されていることが予測される。

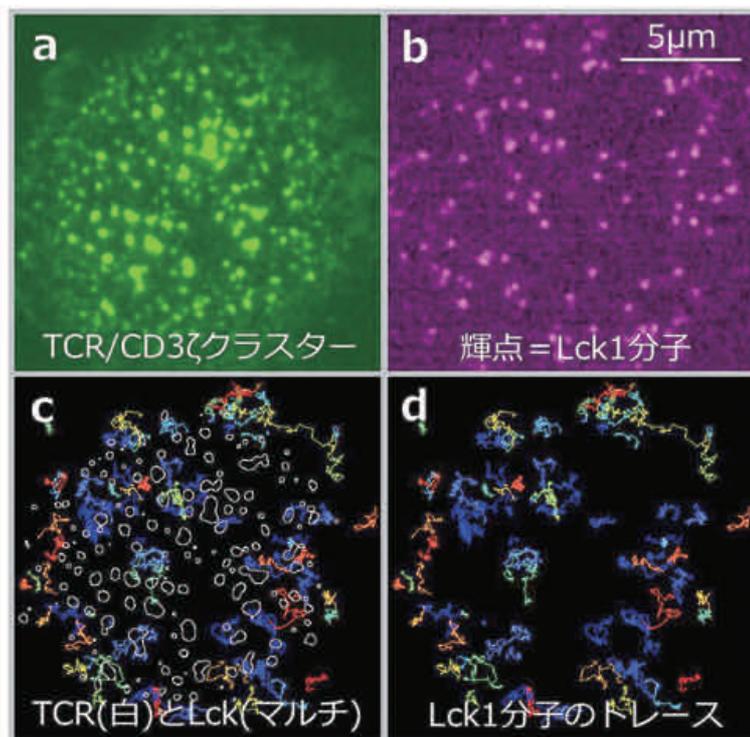


図2 TCRマイクロクラスターとLck1分子

1. Machiyama H, Morikawa TJ, Okamoto K, et al. The use of a genetically encoded molecular crowding sensor in various biological phenomena. *Biophys Physicobiol.* 14:119-125, 2017. doi: 10.2142/biophysico.14.0_119. eCollection 2017.
2. Okada M, Chikuma S, Yokosuka T, Yoshimura A, et al. Blockage of Core Fucosylation Reduces Cell-Surface Expression of PD-1 and Promotes Anti-tumor Immune Responses of T Cells. *Cell Rep.* 20(5):1017-1028, 2017. doi: 10.1016/j.celrep. 2017.07.027.
3. Hara H, Yokosuka T, Saito T, et al. Clustering of CARMA1 through SH3-GUK domain interactions is required for its activation of NF- κ B signalling. *Nat Commun.* 6:5555, 2016. doi: 10.1038/ncomms6555.
4. Liang Y, Yokosuka T, Malissen M, et al. The lymphoid lineage-specific actin-uncapping protein Rltpr is essential for costimulation via CD28 and the development of regulatory T cells. *Nat Immunol.* 14(8):858-66, 2013. doi: 10.1038/ni.2634.
5. Yokosuka T, Takamatsu M, Saito T, et al. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med.* 209(6):1201-17, 2012. doi: 10.1084/jem.20112741.

研究の進展

ミスフォールド蛋白質・MHCクラスII分子複合体の免疫認識機構の解明

Immune recognition mechanism of the misfolded protein / MHC class II complex

末 永 忠 広

大阪大学 微生物病研究所 免疫学分野 准教授



MHC (HLA) クラスIIアレルの遺伝子多型は、多くの自己免疫疾患の感受性に最も強く影響する疾患原因遺伝子ですが、依然としてHLAによる自己免疫疾患発症機構は不明です。本研究班は、本来分解されるはずでありかつ正常抗原とは異なる抗原性をもつミスフォールド蛋白質が、疾患感受性HLAによって細胞表面へ運ばれ、「ネオ・セルフ」として異常な免疫応答を引き起こし、自己抗体の標的となり、免疫疾患に関与しているという仮説に基づき解析しております。これまで関節リウマチ (RA)、抗リン脂質抗体症候群 (APS) における自己抗体が、それぞれミスフォールドIgGもしくは β 2GPI蛋白質/HLAクラスII複合体からなるネオ・セルフの標的であることを示してきました。

APSは全身血管に血栓を生じ、全身組織の循環障害に伴う症状として皮膚潰瘍、不育症、脳梗塞などを呈しやすいことが知られております。従来APSに対する検査法を含めても原因不明であった皮膚潰瘍患者血清中に、 β 2GPI蛋白質/MHCクラスII複合体に対する抗体が存在していることを見出しました。このように、ネオ・セルフを利用した検査法は、従来法より鋭敏にAPSの患者を診断できることがわかりました (Arase et al. *Br J Dermatol.* 2018)。本法は、 β 2GPI蛋白質/MHCクラスII複合体発現細胞と患者血清中自己抗体の結合性を、フローサイトメリーを用いて検出しておりますが、より簡便な方法の確立を試みております。

また、顕微鏡的多発血管炎 (MPA) は、全身の小型血管を冒し、末梢神経炎、関節炎のほか主に糸球体腎炎、間質性肺炎などにより致死的となる抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連血管炎症候群のうちのひとつです。本症の患者血清中には、ミエロペルオキシダーゼに対する自己抗体 (MPO-ANCA) が検出されることが知られています。本研究班では、MPO-ANCAをMPO蛋白質で吸収した後のMPA患者血清中に、MPO蛋白質/HLAクラスII複合体に対する抗体が存在していることを見出しました。このネオ・セルフに対する抗体は、MPAに対する副腎皮質ステロイド治療によって、症状改善とともに減少しました。さらに、ネオ・セルフに対する抗体の結合性はMPAのアレル毎のオッズ比と相関することも判明しました (図1)。一方、好中球はIFN γ の刺激を受けると細胞表面にHLAクラスII分子を発現します。MPA疾患感受性HLAアレルあるいは非感受性アレルをもつ好中球をIFN γ で刺激しますと、疾患感受性アレルでのみHLA-DR分子とMPO蛋白質の複合体が確認されました (図2)。このことから、生理条件下でもMPO/MHCクラスII複合体が存在していることも明らかとなり、他の自己免疫疾患患者の自己抗体もミスフォールド蛋白質/MHCクラスIIネオ・セルフ複合体が標的であることが示唆されました (Hiwa et al. *Arthritis Rheumatol.* 2017)。

このように、MPO/MHCクラスII複合体は好中球という、B細胞や樹状細胞ではないいわゆる異所性の抗原提示が行われている可能性も示唆されました。ミスフォールド蛋白質/MHCクラスII複合体はIFN γ などの刺激によって異所性に発現し、ネオ・セルフとして自己免疫疾患に関与するという仮説の下に、ネオ・セルフの異所性発現のメカニズムを解析しております。また、ミスフォールド蛋白質/MHCクラスII複合体が、生理的条件下で生成されうることがわかりましたが、このネオ・セルフがin vivoでどのように自己免疫疾患の発症に関与するかを明らかにするために、ミスフォールド蛋白質/MHCクラスII複合体を発現し、自己抗体を産生する疾患モデルマウスを作成、解析しております。

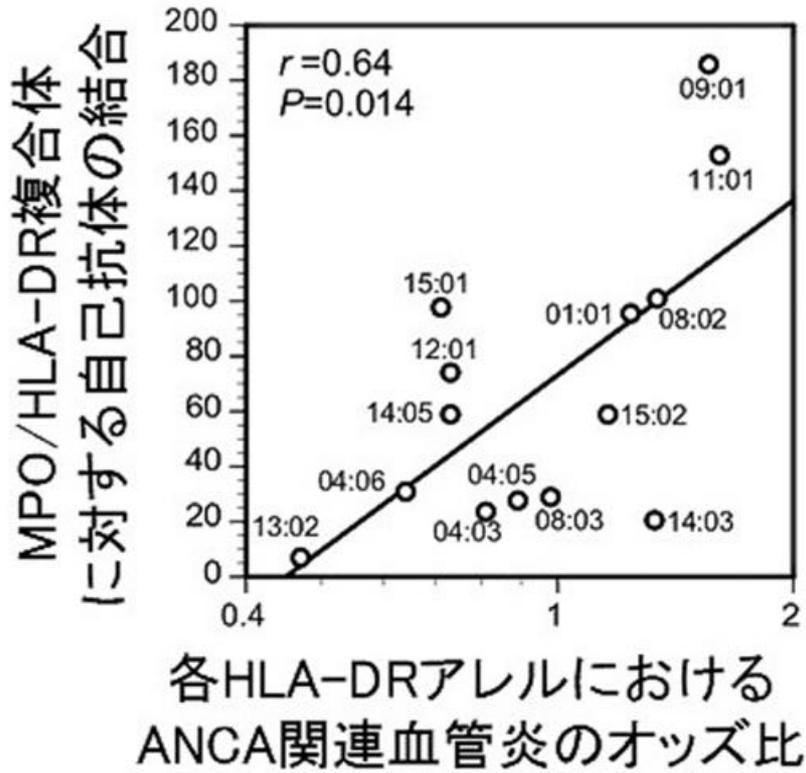


図 1) 抗 MPO / HLA- II 複合体抗体の結合性と MPA 感受性の相関

アレル	IP: 抗HLA-DR				IP: isotype			
	感受性		非感受性		感受性		非感受性	
IFN- γ	-	+	-	+	-	+	-	+
IB: 抗MPO	[Western blot image showing bands in the sensitivity lanes]							
IB: 抗HLA-DR	[Western blot image showing bands in all lanes]							

図 2) IFN- γ 刺激に伴う MPO / HLA- II 複合体の出現

感受性アレル (HLA-DR*09 : 01/09 : 01) もしくは非感受性アレル (HLA-DR*12:01/15:02) をもつ好中球を IFN- γ で刺激し、ライセートを抗HLA-DR抗体で免疫沈降後、抗MPO抗体と抗HLA-DR抗体でプロットした。

1. Arase N, Tanimura K, Jin H, et al. Novel autoantibody against the β 2-glycoprotein I/human leucocyte antigen-DR complex in patients with refractory cutaneous ulcers. *Br J Dermatol.* 178(1):272-275.doi: 10.1111/bjd.15571
2. Hiwa R, Ohmura K, Arase N, et al. Myeloperoxidase/HLA Class II Complexes Recognized by Autoantibodies in Microscopic Polyangiitis. *Arthritis Rheumatol.* 69(10):2069-2080.doi: 10.1002/art.40170.
3. Arase H. Rheumatoid Rescue of Misfolded Cellular Proteins by MHC Class II Molecules: A New Hypothesis for Autoimmune Diseases. *Adv Immunol* 2016;129:1-23. doi: 10.1016/bs.ai.2015.09.005.
4. Tanimura K, Jin H, Suenaga T, et al. β 2-Glycoprotein I/HLA class II complexes are novel autoantigens in antiphospholipid syndrome. *Blood* 2015 Apr 30;125(18):2835-44. doi: 10.1182/blood-2014-08-593624.
5. Jin H, Arase N, Hirayasu K, et al. Autoantibodies to IgG/HLA class II complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014 Mar 11;111(10):3787-92. doi: 10.1073/pnas.1401105111.

日本人における HLA 遺伝子全領域のアレル塩基配列の収集とその応用

Collection of full-length HLA allele sequences in Japanese population and application for the neo-self study

椎 名 隆

東海大学 医学部基礎医学系分子生命科学 教授



HLA アレルを判定する HLA DNA タイピング法は、移植の際の患者/ドナー間の組織適合性の一致や疾患関連解析に不可欠な検査技術です。現在は、PCR 法に基づく PCR-SSOP (PCR-sequence specific oligonucleotide probe)-Luminex 法や PCR-SBT (PCR-sequence based typing) 法などの高精度 HLA タイピング法が使用されています。ところが、これら方法の問題点の一つとして、2つの多型部位が同一の染色体上 (*cis*) か、異なる染色体上 (*trans*) に位置するのかの位置情報が得られない、いわゆる phase ambiguity が生じることが挙げられます。よって、これら方法による DNA タイピング結果の多くは、通常 100 ~ 1000 のアレル候補が出現し、単一のアレルに絞り込むことができないため、日本人における HLA 遺伝子頻度を参照して頻度の高いアレルを最も可能性の高いアレルと判定する推定 (みなし) タイピングが行われているのが現状です。さらに、これら方法の多くは、多型に富む特定のエキソン (クラス I 遺伝子ではエキソン 2 と 3、クラス II 遺伝子ではエキソン 2) のみの第 1 ~ 2 区域レベルのアレル判定が行われていることから、HLA 分子の発現が抑制される null アレルの原因となるエンハンサー・プロモーター領域や他エキソンやイントロン領域における多型や変異の検出が不可能です。したがって、プロモーター領域から 3' 側の非翻訳領域までの HLA 遺伝子全領域における DNA タイピングこそがネオ・セルフ解析や医療現場が将来目指すべき理想的な DNA タイピング法であると考えられます。

それらの問題の多くを解消する新しい HLA 検査技術として次世代シーケンサー等を活用した HLA 遺伝子の DNA タイピング法 (Next Generation Sequencing; NGS- Sequence Based Typing; NGS-SBT 法) が開発されてきました。ところが、NGS-SBT を円滑に実施するためには、HLA 遺伝子全領域を網羅するリファレンスを整備することが必要になりますが、IMGT/HLA データベースにて公開されている 18,000 を超える HLA アレルの内、遺伝子全領域の塩基配列が決定されている HLA アレルはわずか 10% に過ぎません。この問題解決のために我々独自に開発した NGS-SBT 法 (Shiina et al. 2012) を駆使し、日本人に高頻度に観察される HLA アレルの遺伝子全領域の塩基配列 (HLA アレル全長配列) の決定を進めています。具体的には、まず日本人に観察される 99.5% 以上の HLA アレルを有する 46 検体のゲノム DNA を抽出し、HLA 8 座 (*HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1*, *-DQA1*, *-DQB1*, *-DPA1*, *-DPB1*) 由来の PCR 産物の塩基配列を PacBio RS II および IonPGM を併用することにより HLA アレル全長配列を決定しました。

その結果、合計 253 種類の HLA アレル全長配列が決定され、それらの内の 131 種類は新規に決定された HLA アレル (101 種類: SNV ならびに indels を有するアレル、30 種類: 部分的な塩基配列から遺伝子全長を決定したアレル) でした (表)。その後、HLA 座ごとに多様性解析や分子系統樹解析を行った結果、*HLA-DPB1* 座にかぎった着目した場合、そのイントロン 2 から 3' UTR では、*HLA-DPB1* アレルが DP2 および DP5 の 2 グループに大別され、エキソン 2 の HLA 多型とは独立した系統関係を示すことが明らかになりました。この DP2/DP5 グループは、T 細胞エピトープ不適合アルゴリズムで示されているエキソン 2 がコードするペプチド結合部位の多型とは異なる機序

で GVHD の発症に関連し、二つのメカニズムは相補的に移植片対宿主病 (graft versus host disease; GVHD) 発症のリスクとなっている可能性を示しました (Morishima et al. 2018)。このような HLA アレル全長配列の決定に基づく疾患との関連解析は、世界で初めての報告であると考えられ、その重要性が実証されたことから、HLA アレル全長配列レベルのネオ・セルフ解析にてさらなる成果が期待されます。現在、1,000 検体規模に拡大して HLA 遺伝子全領域のアレル塩基配列の決定や HLA 多型情報の整備を進めています。

表. 日本人に頻度の高い 253 種類の HLA アレル全長配列の内訳

	HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQA1	HLA-DQB1	HLA-DPA1	HLA-DPB1	計
収集した HLA アレル数	20	46	26	41	36	28	16	40	253
SNV ならびに indels を有するアレル数	1	10	5	24	15	14	9	23	101
部分的な配列から遺伝子全長配列を決定したアレル数	2	5	0	13	3	1	4	2	30
日本人における累積頻度 (%)	99.9	99.8	99.9	99.9	99.2	100	99.8	99.9	99.8



1. Morishima S, Shiina T Suzuki S, et al. Evolutionary basis of HLA-DPB1 alleles affects acute GVHD in unrelated donor stem cell transplantation. *Blood* 131: 808-817, 2018. doi: 10.1182/blood-2017-08-801449.
2. Noguchi E, Uruha A, Suzuki S, et al. Skeletal muscle involvement in antisynthetase syndrome. *JAMA Neurol.* 74(8):992-999, 2017. doi: 10.1001/jamaneurol.2017.0934.
3. Watanabe N, Suzuki Y, Yonezu T, et al. A cell-based high-throughput screening assay system for inhibitor compounds of antigen presentation by HLA class II molecule. *Sci Rep.* 7: 6798. 2017. doi: 10.1038/s41598-017-07080-4.
4. Ishigaki H, Maeda T, Inoue H, et al. Antibody against GRP94 induced in MHC-matched macaques by transplantation of tumor cells derived from iPS cells with a homozygous MHC haplotype. *Cancer Res.* 77: 6001-6010, 2017. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0775.
5. Ohnuki Y, Suzuki S, Shiina T, Uruha A, Watanabe Y, Suzuki S, Izumi S, Nakahara J, Hamanaka K, Takayama K, Suzuki N, Nishino I. HLA-DRB1 Alleles in Immune-mediated Necrotizing Myopathy. *Neurology* 87: 1954-1955, 2016. doi: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003160>.

研究の進展

ネオ・セルフの遺伝子解析

Genetic analysis of neo-self

細道 一善

金沢大学 医薬保健研究域
医学系革新ゲノム情報学分野 准教授



私たちは次世代シーケンサー（NGS）を用いたネオ・セルフ現象のメカニズムの解明を目的とし、遺伝統計学的な解析手法およびオミックス解析手法の開発とそれをツールとした HLA 遺伝子が関連する疾患の病態解明を進めてきました。その一つに金沢大学、血液内科学との共同研究である再生不良性貧血の病態解明があります。再生不良性貧血患者の約 15% では、LOH により HLA の片側が欠失した白血球が存在することが明らかになっており、この現象は、HLA 領域を含む 6p 染色体ヘテロ接合欠失（6pLOH）を起こした造血幹細胞が、T 細胞の攻撃を免れて造血を支持するようになったためと考えられています。6pLOH 白血球を有する 43 人の AA 患者を含む 312 人を対象に、HLA 対立遺伝子喪失頻度および体細胞変異を解析しました（Zaimoku et al. Blood. 2017.）。HLA

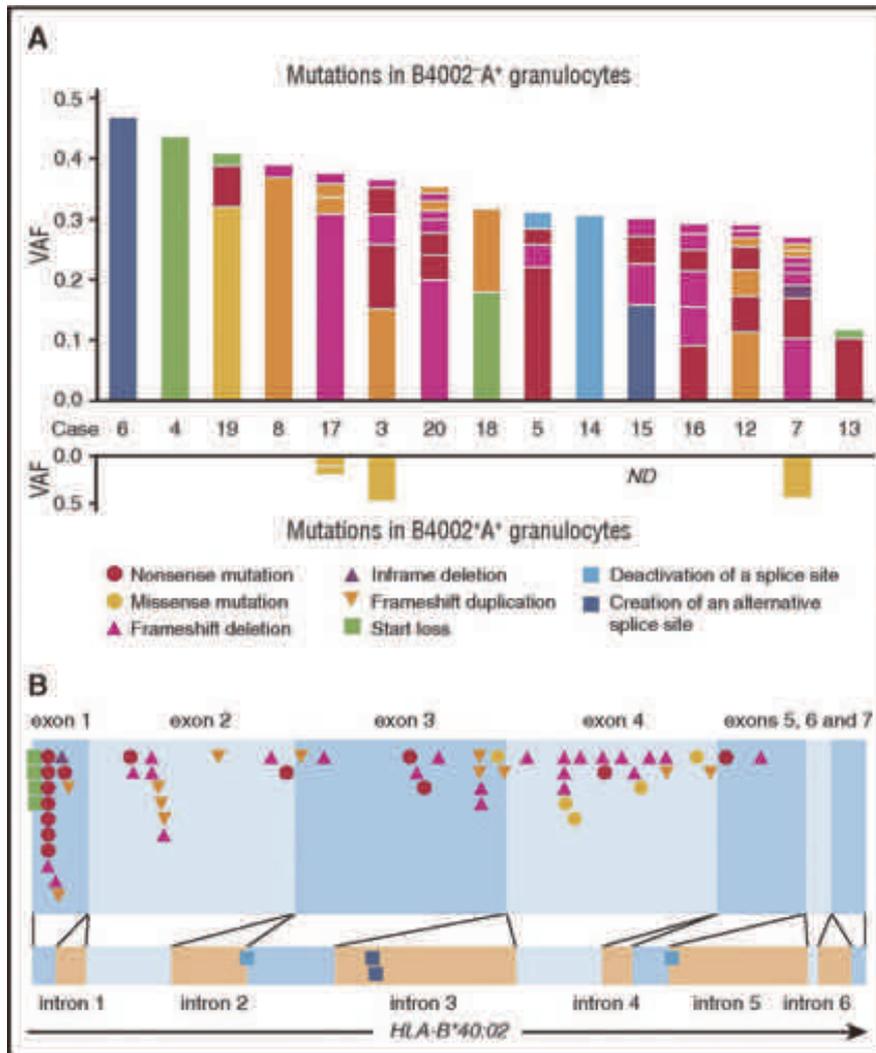


図 1 再生不良性貧血患者に認められた HLA-B*40:02 の体細胞変異

対立遺伝子喪失頻度については HLA-B*40:02 が最も高頻に欠失しており、顆粒球で HLA-B*40:02 欠損 (B4002(-)) を認めた 15 人の患者すべてにおいて、フレームシフト、ナンセンスおよびスプライス部位突然変異などの様々な体細胞変異が認められました。さらに、HLA-B*40:02 の $\alpha 3$ 領域におけるミスセンス変異は、B4002(-) 顆粒球を有する 3 人の患者の B4002(+) 顆粒球においてのみ検出されました。これらの HLA-B*40:02 分子欠損白血球の解析から、HLA-B アレルを介した造血幹/前駆細胞による細胞傷害性 T 細胞への抗原提示が再生不良性貧血の発症機序となっているのではないかと私たちは考えています。一方でゲノムに 6pLOH を有さないにも関わらず HLA 分子の片側が欠失した白血球が存在することから、HLA 片アレル分子欠損を対象に RNA-seq によるトランスクリプトーム解析、ATAC-seq によるオープンクロマチン領域の網羅的解析、ゲノム DNA およびメチル化 DNA 解析を実施して、そのメカニズムの解明を進めています。

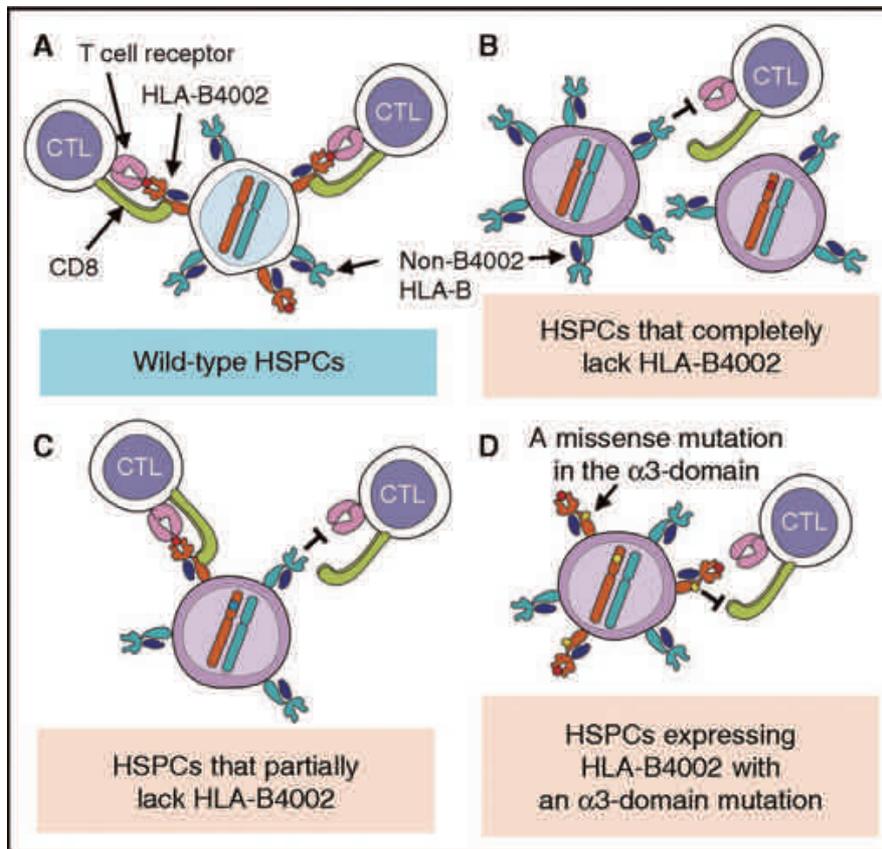


図 2 HLA-B*40:02 に提示される自己抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞からの造血幹細胞の逃避

1. Imi T, Hosomichi K, Nakao S et al. Sustained clonal hematopoiesis by HLA-lacking hematopoietic stem cells without driver mutations in aplastic anemia. *Blood Adv.* 2(9):1000-1012. 2018. doi: 10.1182/bloodadvances.2017013953.
2. Nishijima H, Hosomichi K, Matsumoto M et al. Paradoxical development of polymyositis-like autoimmunity through augmented expression of autoimmune regulator (AIRE). *J Autoimmun.* 86:75-92. 2018. doi: 10.1016/j.jaut.2017.09.006.
3. Maruyama K, Hosomichi K, Nakao S et al. Immune-Mediated Hematopoietic Failure after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Common Cause of Late Graft Failure in Patients with Complete Donor Chimerism. *Biol Blood Marrow Transplant.* 24:43-49. 2018. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.08.018.
4. Shinmyo Y, Hosomichi K, Kawasaki H et al. Folding of the cerebral cortex requires Cdk5 in upper-layer neurons in gyrencephalic mammals. *Cell Rep.* 20:2131-2143, 2017. doi: 10.1016/j.celrep.2017.08.024.
5. Zaimoku Y, Hosomichi K, Nakao S et al. Identification of an HLA class I allele closely involved in the autoantigen presentation in acquired aplastic anemia. *Blood.* 129:2908-2916, 2017. doi: 10.1182/blood-2016-11-752378.

国際交流活動

エストニアの大学院 学位審査会に参加して

松本 満 徳島大学 先端酵素学研究所



北欧は Aire と関連の深い地域です。特にフィンランドは Aire 遺伝子のクローニングにつながった Aire 欠損症の家系が多数存在します。昨年のクリスマス直前に以前から親交のあるエストニア・タルトゥー大学 (University of Tartu) の Pärt Peterson 教授から依頼を受け、タルトゥー大学大学院修了のための公開学位審査会に参加して来ました。日本での学位審査会と少し違う点に興味深く、皆さんにご紹介させていただきます。ちなみに、Peterson 教授は母国のエストニアに戻る以前はフィンランドで研究を行っており、Aire 遺伝子のクローニングに直接携わった方です (Nature Genetics 17: 393, 1997)。

昨夏、私に Peterson 教授から学位審査会の Opponent (辞書には計画や考えなどに対する反対者、敵対者とあります) になるよう依頼が届きました。学生の研究テーマはやはり Aire に関するもので、審査会の前に分厚い学位論文 (Thesis) が私の手元に送られて来ました。Thesis にはこれまで自分が発表してきた 3 編の論文とともに研究の背景や意義が総説の形で詳細に記述されています。

学位審査会当日は審査にあたる委員会 (Council) メンバーが 10 名程度出席し、委員長が審査会の開催と学生の簡単な紹介をエストニア語で行います。次に審査を受ける学生が 20 分程の比較的短い研究内容説明をスライドを用いて行います。続いて Opponent である私が獲得免疫、自己寛容、



左から Peterson 教授、学生、私、研究指導者

胸腺、Aire などについてごく初歩的な説明を 10 分程度、やはりスライドを使って行います。委員会メンバーは必ずしも免疫の専門家ではありませんし、公開ですので審査会に出席している一般聴衆（学生の家族を含む）にも分かる内容で説明するよう求められていました。それが終わると、学生と私は階段教室最前列の講義台の所に腰を掛け、私は彼に対して自由に研究内容についての質疑を始めます。このやりとりを約 1 時間半続け、最後に私が研究および質疑の内容を口頭で簡単にまとめます。次に委員会メンバーや聴衆からの質疑が半時間程度行われ、そこで審査会を一時中断します。委員会メンバーと私は別室に移動し、彼の可否について協議します。もちろん、既に学位授与に値する十分な質と量の論文が発表されてから審査会に臨んでいますので、不合格になることはないと思いますが。

協議の後、元の講堂に戻り、聴衆を前に委員長から本人に合格が伝えられます。最後に指導に当たられた Peterson 教授から学生に対する激励の言葉が送られて審査会を閉会します。その後は合格を讃える家族や友人との抱擁が順次行われ、全てのプログラムが終了しました。つまり、学生には審査終了直後に可否が言い渡される仕組みで、後日、教授会の投票によって決まるという日本の形式とは違います。

審査会の終了当日の夜、私や審査員、研究室メンバー、友人、家族を学生が招待してお祝いのパーティーが開催されました。学友会館のような場所で、学生と大学の両方が費用を負担して行われるようです。私はパーティーの席で学生からエストニア出身の人気作家の本（英語版）をいただきました。

エストニアの首都はタリンですが、タルトゥーは文化の中心でタルトゥー大学はエストニア国内で唯一医学部を持つ伝統ある大学だそうです。私は 10 年前にも Peterson 教授との面談にタルトゥーを訪れていましたが、その時に比べて街全体が華やかで、市民も生き生きとしているように感じました。10 年前に訪れた時には何となくソ連時代の雰囲気漂い、少し重苦しさを感じた覚えがありますが、今は華やかなネオンに彩られ、人々は心からクリスマスを楽しんでいる様子でした。

帰途にはバルト海を船で渡り、本領域の国際交流活動としてヘルシンキ大学 Annamari Ranki 教授と面談し、ヒトの Aire 欠損症とマウスモデルの異同を協議して（HP に掲載しております）全ての旅程を終えました。日本とは少し違う学位審査会を経験しましたが、やはり大学院が学問に専念するための大切な期間であり、それを修了することは誇るべき行為であることを改めて認識することの出来た貴重な経験でした。当該学生は今後、ポスドクとして研究を続けるそうです。彼の将来の活躍を遠くから見守ってゆきたいと思っています。



お祝いのパーティーで彼の胸に付けられていたバッジ

国際交流活動

ワシントン大学での短期留学を終えて

松本 穰

徳島大学 疾患酵素学研究センター 免疫病態研究部門



2017年9月～11月の3ヶ月間、新学術領域の国際活動支援の一環として、アメリカ・ミズーリ州・セントルイスに位置するワシントン大学の Emil. R. Unanue 教授の教室に短期留学する機会を頂きました。

そもそもセントルイスという地名について、あまり聞きなれない方が多いのではないかと思います。アメリカのどの辺りにあるのかということをよく質問されるのですが、ミズーリ州はアメリカ大陸のほぼ中央部で、アメリカ最長の川であるミシシッピ川の流域に位置しています。「全米でも屈指の犯罪率が高い都市」という記載がよく見られますが、本当に危険なのは東部のダウンタウンのスラム街で、大学の位置するセントラルウェストエンドという街は安全で綺麗な場所です。大学周辺には飲食店やグローサリーストアなどの店が充実しており、大学のすぐ近くにはフォレストパークという大きな自然公園もあります。

Unanue 教授は抗原提示細胞が抗原ペプチドを MHC との複合体として T 細胞に提示していることを発見したグループの 1 人であり、2000 年にはガードナー国際賞を受賞されています。同研究室は現在、1 型糖尿病のモデルマウスである NOD マウスを研究の対象としており、NOD マウスが糖尿病を発症するメカニズムにおいて、ランゲルハンス島内に存在する抗原提示細胞に注目して研究を進めています。私の所属する研究室で保有している 1 型糖尿病抵抗性のトランスジェニック NOD マウスの解析の結果、末梢における抗原提示細胞の機能不全が糖尿病抵抗性獲得に関与していることがわかりました。そのマウスの詳細な解析のため、Unanue 教授に数ヶ月間の短期留学をお願いできないか連絡してみたところ、快く留学を受け入れてくださりました。

アメリカに到着してすぐに Unanue 教授から食事に誘っていただき、教授自ら運転する車で私が宿泊していた宿まで迎えにきてくださりました。Unanue 教授は 84 歳とご高齢ながらも年齢を感





じさせず、非常に明快な頭脳を持たれており、毎朝誰よりも早く研究室に来て仕事をこなしていました。研究に対する姿勢もさることながら、ユーモアに富んだ人柄も含めて本当に素晴らしい方で、研究室の人たちに対しては必ず自分のことを「Professor」ではなく、「Emil」と呼ぶようにと言っていました。私にも会ってすぐに自分のことを「Emil」と呼ぶようにと笑顔でおっしゃいました。

同研究室は技術員も含めて10人足らずで、若手のポスドクや大学院生が中心となって実験を進めています。彼らの間ではいつも活発に議論が交わされており、教授がふらっと現れてそこに参加する姿もよく見られました。また、研究棟はオープンラボとなっており、他の研究室間とも会話がよく交わされていました。幸いポスドクや大学院生の人たちとは年齢も比較的近く、かつ皆フレンドリーで、そもそも知識や経験が不足しており、慣れない環境でデータもなかなか出ない自分に様々なアドバイスをしてくれました。

留学して少し驚いたのが、こちらでは週末に研究室に出てきている人がほとんどいないことでした。平日も決して深夜まで残っているというわけでもなく、それでも各週のミーティングではしっかりとデータを提示していました。定められた時間内に仕事をきっちりと終わらせて、自分の時間を大切にするというスタンスなのだと思います。そういったアメリカの仕事面での文化を見ることができたのも貴重な経験になりました。

留学前はまともに英会話をした経験もなく、以前から留学に対して興味はあったものの、躊躇していた面も多々ありました。留学が決まってから焦ってオンラインの英会話を始めてみたりもしましたが、やはり現地では初めはなかなか会話もおぼつかず、「危険な都市だ」という刷り込みがあったため、外に出かけるのも躊躇していました。しかし色々な人と出会って話す機会が増え、危険な場所に近寄らなければ問題ないということがわかってからは外出もするようになり、休日には電車に乗って少し遠出したり、アイスホッケーの試合を見に行ったりもしました。ありがたいことに、留学中は大学院生を対象とした免疫学の講義にも参加させていただき、それに出席することが免疫学やリスニングの勉強にもなりました。また、ワシントン大学で独立して研究をされている栄川健先生には、留学期間中に度々食事やテニスなどのレジャーに誘って頂き、大変お世話になりました。早朝にバードウォッチングに連れて行ってくださった時の素晴らしい景色は忘れられません。

3ヶ月という短期間での留学であり、実験の面では上手い出来ないことも多々ありましたが、水準の高い教室で様々なことを学び、また多くの人々と出会うことができ、非常に有意義な時間を過ごすことができました。短期間でも1度留学したという事実やそこで得た経験は、自分の人生において貴重な財産になりました。探せば留学の機会はあるけれども躊躇しているという方には、是非とも留学を経験してみしてほしいと思います。私は現在大学院2年目であり、この留学で得たことを今後の研究にも生かしていきたいと考えています。

班員の活躍

Ralph Steinman から引き
継がれた J Exp Med の diversity

山崎 小百合

名古屋市立大学 大学院医学研究科 免疫学



昨年より J Exp Med (JEM) は diversity を増やすため、Advisory Editorial Board Member を増員し、2年間の任期で参加させていただいています⁽¹⁾。人種、性別、国・地域、年齢、さらには、私が免疫学の基礎研究者であるだけでなく皮膚科医でもある、というバックグラウンドも diversity として考慮していただいたと思っております。世界の JEM に名古屋市立大学と私の名前をのせていただき、本当に有り難いことです。

JEM に広い視野の diversity をもたらしたのは恩師の Ralph Steinman 先生です⁽²⁾ (写真1)。Steinman 先生は JEM の Editor 着任早々にロックフェラー大学以外の広い分野の研究者を Editorial Board にリクルートしたそうです。女性、日本人の Advisory Editor として京大の稲葉カヨ先生は長年ご活躍されていました。また、基礎医学研究を主に扱っていた JEM に、human studies を積極的に取り込むという研究領域の diversity をもたらしたのも Steinman 先生です⁽³⁾。今日、広い分野の横断的研究や基礎研究の臨床への応用が大変注目を浴びていますので、10 – 20 年先を見越されていた Steinman 先生のすばらしさに改めて感じ入ります。

多忙な今日では email でのみ communicate して原稿の採択を決めることが多いのでは、と思います。JEM の素晴らしい点は、毎週のように Editor たちが顔をあわせて集まり民主的に決定していることです。私は恩師の坂口志文先生、稲葉カヨ先生のお力添えで 2001 年からロックフェラー大学 Ralph Steinman 研で研究をする機会をいただきました (写真2)。今ではキャンパスの中でも古い建物となっている Bronk ビル 4 階の Steinman 研の図書室で毎週火曜の朝に JEM の会議が開催されていました (写真3)。Steinman 先生、Carl Nathan 先生、Michel Nussenzweig 先生、Jeff Ravetch 先生などの教授陣や他のスタッフたちが原稿のパイルをかかえて会議終了時に廊下で一斉にでてくるのをよくみかけました。このように一同に集まり話し合っ JEM の論文が決まるのだと、感銘を受けたことを覚えております。当時から遠方の Editor とのテレビカンファレンスも取り込んでいました。Steinman 研は、2010 年に CRC ビルに引っ越し、廊下でつながった反対側に Nussenzweig 研もその後移動しました。その元 Steinman 研と現 Nussenzweig 研の間にあるカンファレンスルームで今でも毎週 JEM の会議が開かれています。

JEM のもう一つの特記すべき点は、100 年以上の歴史のある雑誌であることです。JEM は米国で最初の基礎医学研究専門のジャーナルで、1896 年にジョンズ・ホプキンス大学医学部の William H. Welch が Editor として始めました⁽⁴⁾。Welch 先生の移動とともに 1904 年に JEM もロックフェ



写真1 Ralph Steinman. Photo by Robert Reichert, The Rockefeller University, 1992. 文献⁽²⁾

ラー大学に移り、野口英世と一緒に仕事をした Simon Flexner が Editor に加わります。Flexner は、1904 年から 1946 年の長期に渡り Editor を続けます。その後、Rous, Dubos, Kunkel, MacCarty, Cohn, Hirsh など科学的にも大変著名な先生方が Editor をされました。Zanvil Cohn 先生は Steinman 先生と一緒に 1973 年に樹状細胞を発見された先生です。1988 年に Cohn 研出身の Steinman 先生と Carl Nathan 先生、1995 年に Steinman 先生の最初の学生だった Michel Nussenzweig 先生が Editor に加わりました。現在は Carl Nathan 先生と Ralph Steinman Professor に就任した Michel Nussenzweig 先生が Co-chair をされています。私は東京医科歯科大学皮膚科の大学院でランゲルハンス細胞の研究をしていましたので、Ralph Steinman、Kayo Inaba の論文を図書館に出向いてよく読んでおりました。表紙にきれいな樹状細胞の写真が使われていたことをよく覚えております。今では図書館に出向かなくてもよい時代となりましたが、若い先生方には是非一度図書館に出向いて 100 年以上の歴史のある JEM の雑誌を是非ご覧になっていただきたいと思っております。

最後に JEM Advisory Editorial Board としての仕事は、良い論文を Author として JEM に投稿すること、JEM に投稿された論文の良いレビューを行うことです。Author として投稿してもレビューはかえって厳しいと、教室員とともに日々精進して研究しております。JEM に素晴らしい diversity をもたらした恩師 Steinman 先生の意志を継ぎ、貢献できるように頑張っ参りますので、新学術領域ネオ・セルフの先生方、本稿を読んでいただいている皆様、今後どうぞよろしくご指導の程お願い申し上げます。

謝辞：本稿を書くにあたりロックフェラー大学 Michel Nussezweig、Svetlana Mojsov、Carol Moberg、Maggie Witmer-Pack、Angela Piperno、Christine Trumpfheller のヘルプに心より感謝を申し上げます。本稿のご依頼をいただきました班長の松本満先生、ニュースレター担当の宇高先生に御礼を申し上げます。新学術領域ネオ・セルフの公募研究に採択いただき、誠に有り難うございました。

文献

1. Carl Nathan, Michel Nussenzweig, Teodoro Pulvirenti. J Exp Med 2017, Vol. 214, p2169
2. Carol Moberg. J Exp Med 2011, Vol. 208, p2337-2342.
3. Ralph Steinman. J Exp Med 2005, Vol. 201, 1349-1350.
4. Maclyn Maccarty. J Exp Med 1990, Vol.172, p1-6



写真2 Ralph Steinman と筆者。
Photo by Dr. Cheolho Cheong.



写真3 JEM を出版している New York のロックフェラー大学。
奥に Steinman 研があった Bronk ビルが見える。

「ネオ・セルフ」若手の会だより



若手の会世話人

細道 一善

(金沢大学 医薬保健研究域医学系)

新学術領域「ネオ・セルフ」第一回若手の会が2018年1月9日(火)から10日(水)、兵庫県立淡路夢舞台国際会議場で開催されました。参加者は28の研究室から57名、このうち大学院生が15名、助教および研究員が17名と多くの若手研究者の参加がありました。限られた短い時間の会では

ございましたが、大学院生を含む多くの若手研究者、PIの先生から、23件の口頭発表、22件のポスター発表を持つことができました。特に夕食後の意見交換会を兼ねたポスター発表セッションではカジュアルな雰囲気の中で夜11時まで盛んな討論が続きました。若手の会という名称ではございましたが、研究代表および分担の先生方にもご参加頂き、研究内容を大学院生にもわかりやすくご紹介頂くと共に、多くのご助言を賜りました。若手のみに偏らず、幅広い立場からの参加は領域内での学生、大学院生、若手研究者を中心としたボトムアップ型の異分野交流ならびにそれをきっかけとした研究萌芽という本会の目的には大変有益であったと思います。また、特別講演として、ワシントン大学の栄川先生には、30代前半で渡米し、海外でご自身の研究室を主催されるようになった経験をお話頂き、若手研究者の将来に向けた刺激になったことと思います。学術調査官、山縣一夫先生にはご多忙の所全日程でご出席頂き、新学術領域の活動全般も含めた貴重なご意見を頂きました。若手の会開催にあたり運営をしていただいた皆様、その他ご助力いただいた皆様に感謝申し上げますとともに今後も若手の会の開催と発展にご理解・ご協力をお願い申し上げます。

河本班 嘉島 相輝

(京都大学 再生医科学研究所)

「ネオ・セルフ」若手の会に参加させて頂きましたので、以下に雑感を寄稿させていただきます。

本会には「ネオ・セルフ機構の解明」という共通のテーマで多くの研究室が集まっていますが、各ご発表を聴いていると、その切り口が非常に多岐に渡っているということにまず驚かされます。自分の日々の研究活動の中では全く考えないような発想を沢山聞くことが出来ました。特別講演の栄川健先生のお話では、海外での研究生活について、若手が知りたいことを分かり易く教えて頂きました。

研究室同士の関わり合いの意味では、私のようなラボの末端要員は領域全体でどのような研究室が集まりどのような研究をされているか今一つ把握できておりませんでした。しかし今回、多くの発表者の方と非常に率直な意見交換をしながら領域の全体像を感じる事が出来ました。特にポスターセッションは気軽なフリートークスタイルであり、時間を気にせずじっくり見て回っていると、思いのほか、自分の研究テーマと結びつく内容が多いことに気づきました。そのような発表をされている先生とは、時間を忘れて discussion できました。また何人かの先生とは、名刺交換や後日のメールのやり取りに繋げることができ、実りを実感できました。今回は主催の先生方が「若手の会」と銘打って我々若手の心理的ハードルを下げて下さり、素晴らしい会場や雰囲気、1泊するスケジュールで時間を気にせずじっくり討議する時間を設けて下さったことで、普段よりもリラックスして多くの研究者の方と意見交換をすることが出来たのだと思います。

余談ではありますが、昨年湘南で開催された免疫サマースクールで同室だった小笹先生も、口演



発表で本会に参加されており、偶然半年ぶりに再会することができました。自分達の水準で、少しずつではありますが共に研究者としての道のりを歩み出していると実感し、嬉しく思いました。

「若手の会」主催の先生方におかれましては、こうして我々同世代の交流の場を与えて下さり、深く御礼申し上げます。今後も本会で交流した先生方と刺激し合いながら、より研究が発展するよう誠意努力して参りたいと思います。

横須賀班 若松 英

(東京医科大学 免疫学分野)

1月に開催された新学術領域「ネオ・セルフ」若手の会に参加させていただきました。開催場所であるウェスティンホテル淡路は私が大学生の時に謝恩会で使用したホテルだったため到着した時は懐かしさを感じ、少し気持ちが緩んでしまいましたが、実際、若手の会が始まるとあまり若手ではない先生の発表はもちろんです。若手の先生の発表もデータ量が非常に豊富で、内容も練りこまれ、質疑応答もしっかり対応しており、レベルの高さに一気に気持ちが引き締められました。また、クローズドな会であるため未発表データもどんどん発表されており、新しいことを知る喜びを感じつつも、自分も頑張らねばという良い刺激を受けました。私はポスター発表をしたのですが、昨年の4月に東京医大に移って始めたテーマのため結果はほとんどなく、あんまり人は来ないかなと思っていました。しかし、色々な先生に聞きに来ていただき、自分では思いつかないような質問やアドバイスをいただくことができ、今回参加して良かったなあ、とつくづく感じました。また、今回は若手主体で会を進めるということでセッションの座長を担当させていただきました。質疑が活発だったおかげでセッション自体は盛り上がったのですが、セッション全体の時間が超過し、特別公演の時間をずらすという失態を冒してしまい、苦い経験になりました。今回の若手の会は一泊二日と期間としては短いですが、普段の研究生活では体験できない濃密な時間を過ごすことができました。最後に、このような機会を与えていただいた領域長の松本先生、若手の会世話役の細道先生を始め、若手の会運営に関わられた先生方に心より御礼申し上げます。



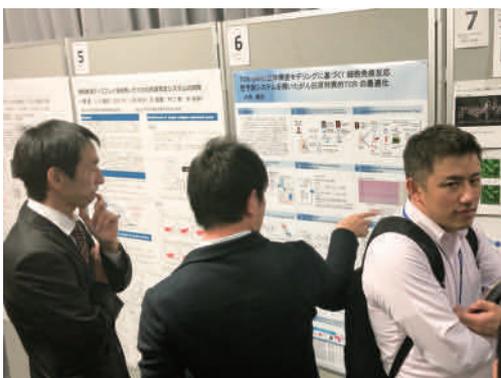
岸班 大 貫 燿

(富山大学 医学薬学研究部 免役学講座)

今回、2018年1月9・10日に開催された、第1回新学術領域「ネオ・セルフ」若手の会に参加させていただきました。会場の淡路島は、出発した雪国富山とは打って変わって、羨ましいほどの陽気で、我々の若手の会への参加を歓迎してくれているようでした。私がポスターセッションにおいて発表した、抗原同定システムの研究は、免疫学会などでも取り上げる方は少なかったのですが、若手の会でも、どのように受け入れられるか、初めは不安でした。しかし、様々なバックグラウンドの先生方から、関心を寄せていただき、多くのコメントをいただくことができました。その結果、自分の研究の発展について、より深く、より多角的に考え直すことができました。

また、他の先生方の発表についても、今までより近い距離感でディスカッションすることができたので、免疫学に携わって日の浅い（おそらく今回の会でも一番若手でした）私でも、しっかりと研究について理解することができました。懇親会でお酒を交わしながらワイワイとお互いの研究について話していた時間は、やっぱり研究は楽しい！ということを再認識できた時間でもありました。栄川先生の、横のつながりを大事にという言葉にあったように、研究を進めていく大事さ、そして楽しさを実感できました。

現在では、雪国富山にも春の陽気が差し、研究に邁進する日々です。あの時のメンバーが全国で頑張っていることを胸に、私も頑張っていきたいです。



研究業績

「ネオ・セルフ」公募班 研究のあゆみ

1. Yaguchi H, Yabe I, Takahashi H, Watanabe M, Hatakeyama S, 他 3 名 . Anti-Sez6l2 antibody, detected in a patient with immune-mediated cerebellar ataxia, inhibits complex formation of GluR1 and Sez6l2. *J Neurol*, 265, 962-965, 2018.
2. Yabe I, Yaguchi H, Kato Y, Hatakeyama S, Sasaki H, 他 19 名 . Mutations in bassoon in individuals with familial and sporadic progressive supranuclear palsy-like syndrome. *Sci Rep*, 8, 819, 2018.
3. Sang Y, Li Y, Song L, Hatakeyama S, Feng H, 他 7 名 . TRIM59 promotes gliomagenesis by inhibiting TC45 dephosphorylation of STAT3. *Cancer Res*, 78, 1792-1804, 2018.
4. Yaguchi H, Yabe I, Takahashi H, Watanabe M, Hatakeyama S, 他 5 名 . Sez6l2 regulates phosphorylation of ADD and neurogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 494, 234-241, 2017.
5. Watanabe M, Hatakeyama S. Fine-tuning of thymocyte development by ubiquitination-mediated stability control of the ESCRT protein CHMP5. *Cell Moll Immunol (Research Highlight)*, 14, 957-959, 2017.
6. Hatakeyama S. TRIM Family Proteins: Roles in Autophagy, Immunity and Carcinogenesis. *Trends Biochem Sci*, 42, 297-311, 2017.
7. Morii W, Sakai A, Ninomiya T, Kidoguchi M, Noguchi E, 他 2 名 . Association of Japanese cedar pollinosis and sensitization with HLA-DPB1 in the Japanese adolescent. *Allergol Int*, 67, 61-66, 2018.
8. Demenais F, Margaritte-Jeannin P, Barnes KC, Noguchi E, Nicolae DL, 他 170 名 . Multiancestry association study identifies new asthma risk loci that colocalize with immune-cell enhancer marks. *Nat Genet*, 50:42-53, 2018.
9. Yagami A, Aihara M, Ikezawa Z, Noguchi E, Matsunaga K, 他 14 名 . Outbreak of immediate-type hydrolyzed wheat protein allergy due to a facial soap in Japan. *J Allergy Clin Immunol*, 140, 879-81.e7, 2017.
10. Tokunaga T, Ninomiya T, Kato Y, Noguchi E, Fujieda S, 他 3 名 . The significant expression of TRPV3 in nasal polyps of eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Allergol Int*, 66:610-6, 2017.
11. Kanazawa J, Masuko H, Yatagai Y, Noguchi E, Hizawa N, 他 11 名 . Genetic association of the functional CDHR3 genotype with early-onset adult asthma in Japanese populations. *Allergol Int*, 66, 563-7, 2017.
12. Tsukasaki M, Komatsu N, Nagashima K, Nitta T, Takayanagi H, 他 5 名 . Host defense against oral microbiota by bone-damaging T cells. *Nat Commun*, 9, 701, 2018.
13. Muro R, Nitta T, Kitajima M, Okada T, Suzuki H. Rasal3-mediated T cell survival is essential for inflammatory responses. *Biochem Biophys Res Commun*, 496, 25-30, 2017.
14. Muro R, Nitta T, Nakano K, Okamura T, Takayanagi H, Suzuki H. $\gamma\delta$ TCR recruits the Syk/PI3K axis to drive proinflammatory differentiation program. *J Clin Invest*, 128, 415-426, 2018.
15. Nagashima K, Sawa S, Nitta T, Prados A, Takayanagi H, 他 3 名 . Targeted deletion of RANKL in M cell inducer cells by the Col6a1-Cre driver. *Biochem Biophys Res Commun*, 493, 437-443, 2017.
16. Nitta T, Kochi Y, Muro R, Tomofuji, Y, Takayanagi H, 他 5 名 . Human thymoproteasome variations influence CD8 T cell selection. *Sci Immunol*, 2, eaan5165, 2017.
17. Okamoto K, Nakashima T, Shinohara M, Nitta T, Takayanagi H, 他 4 名 . Osteoimmunology: the conceptual framework for unifying the immune and skeletal systems. *Physiol Rev*, 97, 1295-1349, 2017.
18. Nagashima K, Sawa S, Nitta T, Tsutsumi M, Takayanagi H, 他 3 名 . Identification of subepithelial mesenchymal cells that induce IgA and diversify gut microbiota. *Nat Immunol*, 18, 675-682, 2017.
19. Fujimoto H, Saito Y, Ohuchida K, Hori S, Ishikawa F, 他 14 名 . Deregulated Mucosal Immune Surveillance through Gut-Associated Regulatory T Cells and PD-1(+) T Cells in Human Colorectal Cancer. *J Immunol*, in press.
20. Kunisada Y, Eikawa S, Tomonobu N, Hori S, Udono H, 他 3 名 . Attenuation of CD4(+)CD25(+) Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment by Metformin, a Type 2 Diabetes Drug. *EBioMedicine*, 25, 154-64, 2017.
21. Nakajima A, Kaga N, Nakanishi Y, Hori S, Watanabe S, 他 8 名 . Maternal High Fiber Diet during Pregnancy and Lactation Influences Regulatory T Cell Differentiation in Offspring in Mice. *J Immunol*, 199, 3516-24, 2017.
22. Hayatsu N, Miyao T, Tachibana M, Murakami R, Hori S, 他 9 名 . Analyses of a Mutant Foxp3 Allele Reveal BATF as a Critical Transcription Factor in the Differentiation and Accumulation of Tissue Regulatory T Cells. *Immunity*, 47, 268-83 e9, 2017.
23. Garg G, Nikolouli E, Hardtke-Wolenski M, Hori S, Huehn J, 他 11 名 . Unique properties of thymic antigen-presenting cells promote epigenetic imprinting of alloantigen-specific regulatory T cells. *Oncotarget*, 8, 35542-57, 2017.
24. Maceiras AR, Almeida SCP, Mariotti-Ferrandiz E, Hori S, Graca L, 他 5 名 . T follicular helper and T follicular regulatory cells have different TCR specificity. *Nat Commun*, 8, 15067, 2017.
25. Matsubara N, Imamura A, Yonemizu T, Akatsu C, Tsubata T, 他 13 名 . CD22-binding synthetic sialosides regulate B lymphocyte proliferation through CD22 ligand-dependent and independent pathways, and enhance antibody production in mice. *Front Immunol*, 9, 820, 2018.
26. Tsubata T. Negative regulation of B cell responses and self-tolerance to RNA-related lupus self-antigen. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 94, 35-44, 2018.
27. Alborzian Deh Sheikh A, Akatsu C, Imamura A, Abdu-Allah H, Tsubata T, 他 3 名 . Proximity labeling of cis-ligands of CD22/Siglec-2 reveals stepwise α 2,6 sialic acid-dependent and -independent interactions. *Biochem Biophys Res Commun*, 495, 854-859, 2018.
28. Liu J, Zhu H, Qian J, Tsubata T, Wang J-Y, 他 4 名 . Fc μ R promotes the survival and activation of marginal zone B cells and protects mice against bacterial sepsis. *Front Immunol*, 9, 160, 2018.
29. Tsubata T. B cell tolerance and autoimmunity. *F1000Research* 6 (F1000 Faculty Rev.), 391, 2017.
30. Liu J, Xiong E, Zhu H, Tsubata T, Wang J-Y, 他 3 名 . Efficient induction of Ig gene hypermutation in ex vivo-

- activated primary B cells. *J Immunol*, 199, 3023-3030, 2017.
31. Ichise H, Nagano S, Maeda T, Miyazaki M, Kawamoto H, 他 7 名 . NK cell alloreactivity against KIR ligand-mismatched HLA-haploidentical tissue derived from HLA haplotype-homozygous iPS cells. *Stem Cell Reports*, 12, 9(3), 853-867, 2017.
 32. Seki M, Kimura S, Isobe T, Kawamoto H, Takita J, 他 39 名 . Recurrent SPI1 (PU.1) fusions in high-risk pediatric T cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*, 49, 1274-1281, 2017.
 33. Noguchi S, Kawamoto H, 他 176 名 . FANTOM5 CAGE profiles of human and mouse samples. *Sci Data*, 4, 170112, 2017.
 34. Miyazaki M, Miyazaki K, Chen K, Jin Y, Kawamoto H, Murre C, 他 8 名 . The E-Id Protein Axis Specifies Adaptive Lymphoid Cell Identity and Suppresses Thymic Innate Lymphoid Cell Development. *Immunity*, 46, 818-834, 2017.
 35. Furukawa A, Kakita K, Yamada T, Arase H, Maenaka K, 他 13 名 . Structural and thermodynamic analyses reveal critical features of glycopeptide recognition by the human PILR α immune cell receptor. *J Biol Chem*, 292, 21128-21136, 2017.
 36. Hiwa R, Ohmura K, Arase N, Jin H, Arase H, 他 8 名 . Myeloperoxidase/HLA class II complexes recognized by autoantibodies in microscopic polyangiitis. *Arthritis Rheumatol*, 69:2069-2080.2017.
 37. Arase N, Tanimura K, Jin H, Arase H, Katayama I, 他 10 名 . Novel autoantibody against the β 2-glycoprotein I/HLA-DR complex in patients with refractory cutaneous ulcers. *Br J Dermatol*, 83, 157-159. 2017.
 38. Saito F, Hirayasu k, Satoh T, Wang CW, Arase H, 他 14 名 . Immune evasion of Plasmodium falciparum by RIFIN via inhibitory receptors. *Nature*, 552, 101-105, 2017.
 39. Dai HS, Griffin N, Bolyard C, Arase H, Caligiuri MA, 他 8 名 . The Fc Domain of Immunoglobulin Is Sufficient to Bridge NK Cells with Virally Infected Cells. *Immunity*, 47, 159-170.e10, 2017.
 40. Yamashita M, Kuwahara M. The critical role of Bach2 in regulating type-2 chronic airway inflammation. *Int Immunol*, (Epub ahead of print), 2018.
 41. Ebina-Shibuya R, Matsumoto M, Kuwahara M, Yamashita M, Igarashi K, 他 7 名 . Inflammatory responses induce an identity crisis of alveolar macrophages, leading to pulmonary alveolar proteinosis. *J Biol Chem*, 292, 18098-18112, 2017
 42. Yamazaki S, Odanaka M, Nishioka A, Kasuya S, Morita A, 他 7 名 . Ultraviolet B-induced maturation of CD11b-Type Langerin- dendritic cells controls the expansion of foxp3⁺ regulatory t cells in the skin. *J Immunology*, 200 (1), 119-129, 2018.
 43. Ishida Y, Kimura A, Nosaka M, Kaisho T, Kondo T, 他 4 名 . 2017. Essential involvement of the CX3CL1-CX3CR1 axis in bleomycin-induced pulmonary fibrosis via regulation of fibrocyte and M2 macrophage migration. *Sci Rep*, 7:16833, 2017.
 44. Brewitz A, Eickhoff S, Dähling S, Kaisho T, Kastenmüller W, 他 11 名 . CD8⁺ T cells orchestrate pDC-XCR1⁺ dendritic cell spatial and functional cooperativity to optimize priming. *Immunity*, 46, 205-219, 2017.
 45. Arai Y, Inuki S, Fujimoto Y. Site-specific effect of polar functional group-modification in lipids of TLR2 ligands for modulating the ligand immunostimulatory activity. *Bioorg Med Chem Lett*, 28(9), 1638-1641, 2018.
 46. Inuki S, Kishi J, Kashiwabara E, Aiba T, Fujimoto Y. Convergent Synthesis of Digalactosyl Diacylglycerols. *Org Lett*, 19, 6482, 2017.
 47. Wang Q, Marchetti R, Prsic S, Arai Y, Fujimoto Y, 他 8 名 . Comprehensive Study of the Interaction between Peptidoglycan Fragments and the Extracellular Domain of Mycobacterium tuberculosis Ser/Thr Kinase PknB. *Chem Bio Chem*, 18, 2094-2098, 2017.
 48. Choy SL, Bernin H, Aiba T, Fujimoto Y, Lotter H, 他 13 名 . Synthetic analogs of a protozoan glycolipid designed to combat intracellular Leishmania infection. *Sci Rep*, 7, 9472, 2017.
 49. Okamoto N, Mizote K, Honda H, Fujimoto Y, Takatsu. K, 他 16 名 . Funiculosin variants and phosphorylated derivatives promote innate immune responses via the Toll-like receptor 4/myeloid differentiation factor-2 complex. *J Biol Chem*, 292, 15378-15394, 2017.
 50. Inuki S, Ohta I, Ishibashi S, Takamatsu M, Fukase K, Fujimoto Y. Total Synthesis of Cardiolipins Containing Chiral Cyclopropane Fatty Acids. *J Org Chem*, 82, 7832-7838, 2017.
 51. Inuki S, Aiba T, Kawakami S, Akiyama T, Inoue JI, Fujimoto Y. Chemical Synthesis of D-glycero-D-manno-Heptose 1,7-Bisphosphate and Evaluation of Its Ability to Modulate NF- κ B Activation. *Org Lett*, 19, 3079-3082, 2017.
 52. Aiba T, Suehara S, Choy S-L, Maekawa Y, Fujimoto Y, 他 4 名 . Employing BINOL-phosphoroselenoyl chloride for selective inositol phosphorylation and chemical synthesis of glycosyl inositol phospholipid from Entamoeba histolytica. *Chem Eur J*, 23(34), 8304-8308, 2017.
 53. Hibino S, Chikuma S, Kondo T, Ito M, Yoshimura A, 他 2 名 . Inhibition of Nr4a receptors enhances anti-tumor immunity by breaking Treg-mediated immune tolerance. *Cancer Res*, 78, 3027-3040, 2018.
 54. Okada M, Chikuma S, Kondo T, Hibino S, Yoshimura A, 他 3 名 . Blockage of Core Fucosylation Reduces Cell-Surface Expression of PD-1 and Promotes Anti-tumor Immune Responses of T cells. *Cell Reports*, 20(5), 1017-1028, 2017.
 55. Yoshimura A, Ito M, Chikuma S, Akanuma T, Nakatsukasa H. Negative Regulation of Cytokine Signaling in Immunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, pii: a028571 (Epub ahead of print), 2017.
 56. Kondo T, Morita R, Okuzono Y, Chikuma S, Yoshimura A, 他 6 名 . Notch-mediated conversion of activated T cells into stem cell memory-like T cells for adoptive immunotherapy *Nature Communications*, 8, 15338, 2017.
 57. Komai K, Shichita T, Ito M, Kanamori M, Chikuma S, Yoshimura A. Role of scavenger receptors as damage-associated molecular pattern receptor in TLR activation. *Int Immunol*, 29(2), 59-70, 2017.

58. Chikuma S, Kanamori M, Mise-Omata S, Yoshimura A. SOCS: potential immune checkpoint molecules for cancer immunotherapy. *Cancer Sci*, 108(4), 574-580, 2017.(review)
59. Chikuma S. CTLA-4, an Essential Immune-Checkpoint for T cell Activation. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2017. (review)
60. Yoshimura A, Ito M, Chikuma S, Akanuma T, Nakatsukasa H. Negative Regulation of Cytokine Signaling in Immunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, pii: a028571 (Epub ahead of print) 2017.(review)
61. Nakano Y, Nakao S, Sumiyoshi H, Hozumi K, Inagaki Y, 他 7 名 . Identification of a novel alpha-fetoprotein-expressing cell population induced by the Jagged1/Notch2 signal in murine fibrotic liver. *Hepatol Commun*, 1, 215-229, 2017.
62. Mugeruma Y, Yahata T, Warita T, Hozumi K, Ando K, 他 3 名 . Jagged1-induced Notch activation contributes to the acquisition of bortezomib resistance in myeloma cells. *Blood Cancer J*, 7, 650-654, 2017.
63. Li X, Gadzinsky A, Gong L, Kitamura D, Gu H, 他 7 名 . Cbl ubiquitin ligases control B cell exit from the germinal-center reaction. *Immunity*, 48, 530-541, 2018.
64. Jiménez-Alcázar M, Rangaswamy C, Panda R, Kitamura D, Fuchs TA, 他 13 名 . Host DNases prevent vascular occlusion by neutrophil extracellular traps. *Science*, 358, 1202-1206, 2017.
65. Le Gallou S, Nojima T, Kitamura D, Weill JC, Reynaud CA. The AID-Cre-ERT2 model: A tool for monitoring B cell immune responses and generating selective hybridomas. *Methods Mol Biol*, 1623, 243-251, 2017.
66. Haniuda K, Nojima T, Kitamura D. In vitro-induced germinal center B cell culture system. *Methods Mol Biol*, 1623, 125-133, 2017.
67. Tasaki S, Cho T, Nagao J, Ikezaki S, Tanaka Y, 他 5 名 . Th17 cells differentiated with mycelial membranes of *Candida albicans* prevent oral candidiasis. *FEMS Yeast Res*, 18(3), foy018, 2018.
68. Yamazaki S, Tanaka Y, Araki H, Kohda A, Sumimoto, H, 他 10 名 . The AP-1 transcription factor JunB is required for Th17 cell differentiation. *Sci Rep*, 7, 17402, 2017.
69. Hashimoto M, Nagao J, Ikezaki S, Tasaki S, Tanaka Y, 他 5 名 . Identification of a novel alternatively spliced form of inflammatory regulator SWAP-70-like adapter of T cells. *Int J Inflamm*, Article ID 1324735, 10 pages, 2017.
70. Taniuchi I. CD4 helper/ CD8 cytotoxic T cell differentiation. *Annual Rev Immunol*, 2018, 36, 579-601, 2018.
71. Wada H, Ohno-Oishi M, Nike S, Muroi S, Taniuchi I. Requirement for intron structure in activating the Cd8a locus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115, 3440-3445, 2018.
72. Fujita T, Kitaura F, Oji A, Taniuchi I, Fujii H, 他 3 名 . Transgenic mouse lines expressing the 3xFLAG-dCas9 protein for enChIP analysis. *Gene Cells*, 23, 318-325, 2018.
73. Naito T, Muroi S, Taniuchi I, Kondo M. Loss of Eed leads to lineage instability and increased CD8 expression of mouse CD4⁺ T cells upon TGFβ signaling. *Mol Immunol*, 94, 140-152, 2018.
74. Tenno M, Kojo S, Lawir D-F, Hess I, Taniuchi I. Cbfb2 controls differentiation of and confers homing capacity to pre-thymic progenitors. *J Exp Med*, 215, 595-610, 2018.
75. Nieke S, Yasmin N, Muroi S, Yokomizo, T, Taniuchi I, 他 2 名 . Unique N-terminal sequences in two Runx1 isoforms are dispensable for Runx1 protein function. *BMC Dev Biol*, 17, 14, 2017.
76. Ono M-H, Sarper SE, Kurosaka H, Taniuchi I, Yamashiro T, 他 2 名 . Runx1 mediates the development of the granular convoluted tubules in the submandibular glands. *Plos One*, 12(9), e0184395, 2017.
77. Kojo S, Tanaka H, Endo TA, Muroi S, Taniuchi I, 他 14 名 . Priming of lineage-specifying genes by Bcl11b is required for lineage choice in post-selection thymocytes. *Nat Commun*, 8, 702, 2017.
78. Tenno M, Shiroguchi K, Muroi S, Kawakami E, Taniuchi I, 他 4 名 . Cbfb2-deficiency preserves Langerhans cell precursors by lack of selective TGFβ receptor signaling. *J Exp Med*, 214, 2933-2946, 2017.
79. Shan Q, Zeng Z, Xing S, Taniuchi I, Xue Xue H-H, 他 11 名 . Runx3 guards cytotoxic CD8⁺ effectors against Tfh deviation in acute viral infection. *Nat Immunol*, 18, 931-939, 2017.
80. Seo W, Taniuchi I. Regulation of hematopoiesis and immune responses by long noncoding (lnc) RNAs. *Int Immunol*, 29(4), 165-172, 2017.
81. Kakugawa K, Kojo S, Tanaka H, Seo W, Taniuchi I, 他 8 名 . Essential roles of SATB1 in specifying T lymphocyte subsets. *Cell Rep*, 19, 1176-1188, 2017.
82. Seo W, Muroi S, Akiyama K, Taniuchi I. Distinct requirement of Runx complexes for TCR β enhancer activation at distinct developmental stages. *Sci Rep*, 7, 41351, 2017.
83. Fujimoto H, Saito Y, Ohuchida K, Saito T, Ishikawa F, 他 14 名 . Deregulated mucosal immune surveillance through gut-associated Tregs and PD1⁺ T cells in human cancer. *J Immunol*, in press.
84. Takeuchi A, Saito T. CD4⁺ CTL, a Cytotoxic Subset of CD4⁺ T cells, Their Differentiation and Function. *Front Immunol*, 8, 194, 2017.
85. Hashimoto-Tane A, Yokosuka T, Saito T. Analyzing the dynamics of signaling microclusters. *Methods Mol Biol*, 1584, 51-64, 2017.
86. Hayashi M, Aoshi T, Haseda Y, Saito T, Ishii KJ, 他 11 名 . Advax, a delta inulin microparticle, potentiates in-built adjuvant property of co-administered vaccines. *EBioMedicine* 15, 127-136, 2017.
87. Morishima S, Shiina T, Suzuki S, Ogawa S, Morishima Y, 他 8 名 . Japan Marrow Donor P. Evolutionary basis of HLA-DPB1 alleles affects acute GVHD in unrelated donor stem cell transplantation. *Blood*, 131, 808-17, 2018.
88. Morishima Y, Azuma F, Kashiwase K, Morishima S, Yabe T, 他 10 名 . Japanese Cord Blood Transplantation Histocompatibility Research G. Risk of HLA Homozygous Cord Blood Transplantation: Implications for Induced Pluripotent Stem Cell Banking and Transplantation. *Stem Cells Transl Med*, 7, 173-9, 2018.
89. Yabe T, Azuma F, Kashiwase K, Morishima S, Morishima Y, 他 10 名 . Japanese Cord Blood Transplantation Histocompatibility Research G. HLA-DPB1 mismatch induces a graft-versus-leukemia effect without severe acute GVHD after single-unit umbilical cord blood transplantation. *Leukemia*, 32, 168-75, 2018.

2017年度 主なアウトリーチ活動

研究班	日付	研究者	カテゴリー	活動の詳細	
計画班	松本班	2018/5/1	松本 満	総説寄稿	「AIRE 遺伝子と多腺性自己免疫症候群」最新医学 73(5)
		2018/4/20	松本 満	啓発活動(青少年)	徳島市立高校理数科の生徒を Junior Student Lab として受け入れ実験指導を開始
		2017/8/6	松本 満	啓発活動(青少年)	免疫ふしぎ未来 2017 (1,787人) ショートトーク
		2017/8/2	吉開 泰信	公開セミナー	LOVE LAB 2017 (200人)
	小笠原班	2017/11/16	小笠原康悦	啓発活動(青少年)	長野県伊那北高校生キャリア学習 研究室訪問
		2017/10/7-8	小笠原康悦	啓発活動(青少年)	東北大学片平まつり 2017 (1,011人) パネル解説
		2017/9/29	小笠原康悦	啓発活動(青少年)	宮城県宮城第一高等学校キャリア学習 出前授業
	宇高班	2017/10/5	西村 泰治	招待講演	日本喘息学会日本・北アジア部会
			西村 泰治	教育講演	日本癌学会など、3件
	横山班	2017/6/15	横山 茂之	啓発活動(成人)	三鷹ネットワーク大学 “もっと科学に親しもう！5”
		2017/7/31	笹月 健彦	若手育成	第19回免疫サマースクール 2017 in 湘南 (約95人)
	横須賀班	2017/8/6	横須賀 忠	啓発活動(青少年)	免疫ふしぎ未来 2017 パネル解説
		2017/7/25	横須賀 忠	啓発活動(青少年)	三重県高田高校生キャリア学習 研究室訪問
		横須賀 忠	教育講演	日本肺癌学会、国立がん研究センターなど、7件	
椎名班	2018/3/9-11	椎名 隆	若手育成	次世代シークエンサーを用いた、HLA DNA タイピング実習 (16人) (神奈川)	
公募班	野口班	2017/7/18-21	野口恵美子	啓発活動(青少年)	サマーリサーチプログラム 研究室体験
		2017/12/16	野口恵美子	教育講演	第4回総合アレルギー講習会
		2018/2/27-3/6	野口恵美子	啓発活動(青少年)	さくらサイエンスプログラム研究室体験 (海外の大学生対象)
	木村班	2018/6/1	木村 元子	総説寄稿	「胸腺内 T 細胞分化制御機構」千葉医学
	鏑田班	2017/4/1	鏑田 武志	総説寄稿	「全身性エリテマトーデスの最新メカニズムと治療薬開発」月刊 PHARM STAGE
		2018/2/3	鏑田 武志	総説寄稿	「抗体医薬を代替する治療ワクチン」医学の歩み
	河本班	2017/7/31	河本 宏	若手育成	第19回免疫サマースクール 2017 in 湘南 (約95人)
		2017/8/6	河本 宏	啓発活動(青少年)	免疫ふしぎ未来 2017 ショートトーク及び観察・体験エリア
		2017/10/27	河本 宏	啓発活動(青少年)	和歌山県立向陽高校1年環境科学科(40人) ウイルス・再生医科学研究所にて講義
		2018/1/26-28	河本 宏	若手育成	第3回日本骨免疫学会 ウィンターセミナー (30人)

研究班	日付	研究者	カテゴリー	活動の詳細	
公募班	山下 班	2017/12/6	山下 政克	啓発活動 (成人)	東温市いきいき健康講座 (50 人)
		2017/11/10	山下 政克	教育講演	日本食品免疫学会シンポジウム (東京)
	山崎 班	2017/11/10	山崎小百合	啓発活動 (成人)	名古屋市立大学最新医学講座 オープンカレッジ
		2017/8/6	山崎小百合	啓発活動 (青少年)	免疫ふしぎ未来 2017
	改正 班	2017/11/8	改正 恒康	啓発活動 (青少年)	出前授業 (和歌山県立向陽高等学校)
	藤本 班	2018/3/21	藤本ゆかり	啓発活動 (成人・青少年)	日本化学会第 98 回春季年会講演企画小委員会 (市民講座および小学生向け実験教室)
		2017/12/5	藤本ゆかり	啓発活動 (成人・青少年)	なでしこ Scientist トーク 甲南 vs. 早慶 甲南研究サミット講演会
	竹馬 班	2018/1/18	竹馬 俊介	教育講演	福山大学グリーンサイエンス講演会 2018
		2017/11/30	竹馬 俊介	教育講演	千葉大学医工学レクチャー
		2017/9/8	竹馬 俊介	教育講演	東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター 第 40 回講演会
	北村 班	2017/12/16	北村 大介	教育講演	第 4 回総合アレルギー講習会
		2017/6/1	北村 大介	教育講演	順天堂免疫セミナー
	谷内 班		谷内 一郎	招請講演	Symposium in honor of Ellen Rothenberg (Caltech, Los Angels) など、7 件
			谷内 一郎	教育講演	UCSF, U. Alabama, U. Massachusetts 3 件 La Jolla 免疫研、Singapore Immunology Network など、研究施設 3 件





文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究

ネオ・セルフの生成・機能・構造

T細胞 / B細胞を活性化する新しい自己

平成 28 年度～ 32 年度

文部科学省 科学研究費補助金

「新学術領域研究（研究領域提案型）」

ネオ・セルフの生成・機能・構造

ニュースレター第 2 号（2018 年 6 月発行）

領域代表：松本 満

ネオ・セルフ NL 発行事務局：

〒770-8503 徳島県徳島市蔵本町3丁目18-15

徳島大学先端酵素学研究所免疫病態学分野内

TEL: 088-633-7433

編集担当：宇高恵子（高知大学医学部）

E-mail:im11@kochi-u.ac.jp



領域ホームページ：<http://www.tokyo-med.ac.jp/neoself/index.html>