

母体の生体防御の機構解明に資する 乳汁 IgA 抗体のレパトア解析

[1] 組織

代表者：小山 紗江佳
(東北大学大学院農学研究科)

対応者：小笠原 康悦
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

野地 智法 (東北大学大学院農学研究科)
古川 睦実 (東北大学大学院農学研究科)
伊東 加織 (東北大学大学院農学研究科)
和田 詩乃 (東北大学大学院農学研究科)
山下 司 (東北大学大学院農学研究科)

研究費：物件費20万円

[2] 研究経過

【目的と概要】授乳期の母体の乳腺に備わる免疫機構は、母体の乳腺のみならず乳汁を飲んだ子の腸管を病原微生物から防除する上で非常に重要である。当研究室では、母体の腸内における特定の微生物の存在が乳汁 IgA 産生に重要であることを明らかにしてきた (Cell Reports, 36,109655, 2021)。本研究結果は、乳汁 IgA が認識する抗原が腸内微生物であることを示唆するものであるが、乳汁 IgA やその認識抗原が母乳を介して子に移行された際の機能についての解析は十分とは言えない。一方当研究室では、授乳期の乳腺に存在する IgA 産生細胞の一部が、離乳後にも乳腺に留まり続けることを明らかにしてきた (Mucosal Immunology, 11: 643-653, 2018)。このことは乳腺において IgA 産生細胞が長命化することを示唆していたが、授乳期の乳腺に存在する IgA 産生細胞と、離乳後の乳腺で長命化する IgA 産生細胞の免疫学的機能の差異については全く比較検討がなされていない。そこで本共同研究では、授乳期および離乳後の乳腺より単離した IgA 産生細胞を由来とするハイブリドーマを作出することで、その特異性(特に、B cell receptor: BCR の多様性)を比較検証することを目的としている。

【打ち合せ等の開催状況】2023年11月10日に加齢医学研究所にて対面打ち合わせを行った。さらに、随時メールを用いて BCR レパトア解析の実施に関する具体的議論を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

これまで(令和4,5年度)の本共同研究を通して、モノクローナルレベルでの乳汁 IgA の特異性解析を可能にする独自の材料「乳腺由来 IgA ハイブリドーマ」を計45株(授乳期:30株、離乳後:15株)作出に成功してきた。継続2年目である令和5年度の本共同研究成果を以下2点にまとめる。

第一に、授乳期由来ハイブリドーマと離乳後由来ハイブリドーマの BCR レパトアの比較解析を実施した。令和4年度に完了した授乳期由来ハイブリドーマ(全30株)の BCR レパトア解明に加えて、本年度は新たに離乳後由来ハイブリドーマの BCR レパトア(全15株)の解明を完了した。授乳期と離乳後のレパトアの比較から、授乳期・離乳後ともに乳腺 IgA 産生細胞の BCR は非常に多様である一方で、BCR の一部の領域(H鎖J領域)に関しては同一個体に由来するクローンでは同様の配列を示し、母体特有の遺伝子再編成機構の存在が示唆された。(図1)

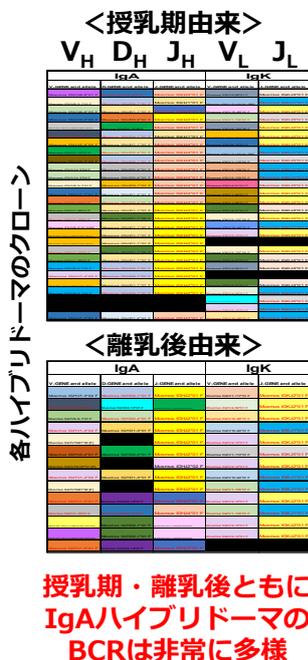
第二に、授乳期の乳腺モノクローナル IgA の主要な抗原を解明した。乳汁抗体の抗原特定を目的として、17種の腸内微生物とハイブリドーマから得られた乳汁モノクローナル IgA (45種)とのスクリーニングを実施し、乳汁モノクローナル IgA の多くが腸内に生息する特定の微生物を認識していることを明らかにした。さらにウエスタンブロットにより乳汁 IgA が認識するバンドを特定し、プロテオーム解析によりタンパク同定に成功した。具体的には、乳汁 IgA が認識する抗原は、一部の有用微生物が発現する特定の膜タンパク質であった(図2)。さらに、培地中のグルコースを欠損すると微生物は、この膜タンパク質を発現せず IgA と結合しないことを明らかにした。本結果は、乳汁 IgA と微生物叢の関わりを

理解する上で栄養環境を考慮に入れることの重要性を示唆した。

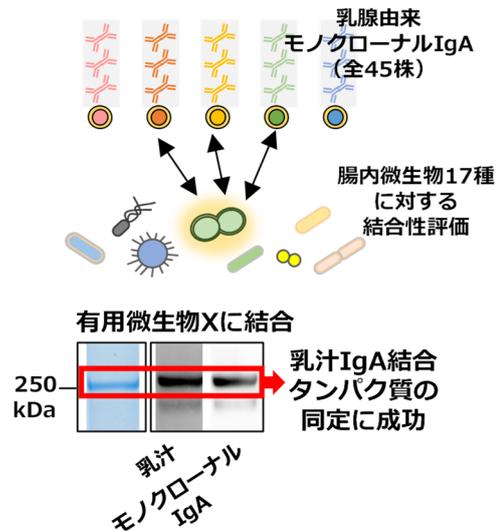
(3-2) 波及効果と発展性など

令和4,5年の本共同研究により、授乳期・離乳後の乳腺から作出したIgAハイブリドーマは多様なBCRを有し、その大部分は特定の有用微生物X上の膜タンパク質Aを認識することを解明した。本結果は、乳汁IgAが認識する微生物の特性を解明しただけでなく、乳汁IgAと膜タンパク質Aの結合がもたらす宿主微生物叢への影響の存在を示唆した。一方、IgAの大部分が特定の微生物を認識するにも関わらず、抗原認識を担うBCRが多様な状態で持されることの意義に疑問が生じ、この疑問は抗原認識に関わるBCR多様性の意義とは異なる新たな概念を生み出す可能性を秘めていた。令和6年度の継続申請では、in vivoで同一個体を用いた乳腺BCRレパトアの比較を計画しており、授乳期と離乳後の乳腺におけるBCR多様性の維持機構の解明に迫る。本共同研究の成果を基盤として、今後さらに国内外の拠点と連携を行いながら、乳汁IgAと腸内微生物の形成機構に関わる研究を国際的かつ学際的に発展させていく所存である。

(図1)



(図2)



[4] 成果資料

- (1) 小山紗江佳、山下司、和田誌野、平川良太、Jahidul Islam、古川睦実、野地智法、「乳汁IgAの標的微生物の同定と子の腸内微生物叢形成機構の解明」、乳房炎サマーキャンプ、旭川、最優秀賞（口頭発表の部）
- (2) 山下司、小山紗江佳、和田誌野、平川良太、Jahidul Islam、古川睦実、野地智法、「離乳後の乳腺に存在するIgA産生長命型形質細胞の機能解明」、乳房炎サマーキャンプ、旭川、優秀賞（ポスター発表の部）