

2008年3月21日

独立行政法人 理化学研究所

## B細胞の分化・増殖を制御する細胞内シグナルを解明

### - プレ B 細胞内のタンパク質リン酸化酵素 Erk1、Erk2 がカギ -

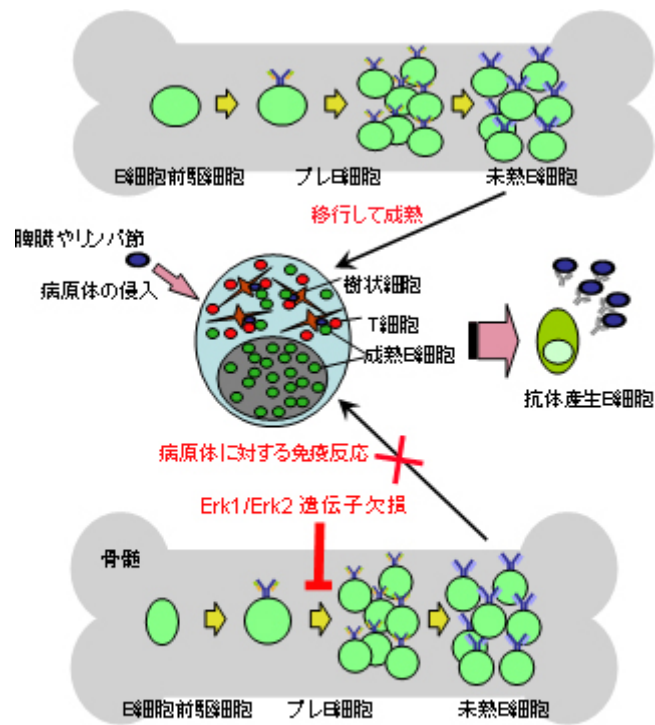
スギ花粉が猛威を振るい、病気から身体を守る免疫システムが働き、鼻水、くしゃみなどに悩まされます。この免疫システムで重要な働きを担っている免疫細胞の1つが、異物を攻撃する抗体の産生をする B 細胞。B 細胞が産生する抗体は、細菌を直接攻撃したり、ウイルスの拡散を防いでいますが、さまざまな病気に立ち向うためには、多種多様な病原体に備える膨大なレパートリーの B 細胞を生み出すことが必要です。

B 細胞は、骨髄の中で発生・分化します。機能的な抗体を産生する B 細胞だけが選ばれ、選ばれた細胞が何度も分裂を繰り返して増殖していきます。選別段階の B 細胞をプレ B 細胞と呼び、その細胞表面にある未熟な抗体分子「プレ B 細胞受容体」が選別や増殖に必要であることが知られていました。しかし、このプレ B 細胞受容体からどのようなシグナルがでて、細胞を分化・増殖しているのかは謎のままでした。

免疫・アレルギー科学総合研究センターの分化制御研究グループらは、2つの細胞内タンパク質リン酸化酵素が、このシグナルに欠かせないことを発見し、謎の一端を解き明かしました。この2つの酵素を生産することができない欠損マウスを生み出し、機能を調べると、プレ B 細胞の選別段階で分化が停止して、分裂増殖を起こしませんでした。その結果、異物に対する抵抗性（免疫能力）が極端に低くなってしまいました。

さらに、遺伝子発現を解析した結果、活性化している2つの酵素は、細胞増殖に関わる遺伝子の転写因子を活性化し、細胞増殖を増強していました。

シグナルの発見やシグナル伝達経路の解明は、免疫不全症の病態解明や、小児に多く見られ、未分化なリンパ球の異常増殖で発症する急性リンパ球性白血病の新規治療法の開発に貢献すると期待されます。



(図) B細胞の抗体産生(上)と2つの酵素を欠損したマウスのB細胞分化(下)

2008年3月21日  
独立行政法人 理化学研究所

## B細胞の分化・増殖を制御する細胞内シグナルを解明

### - プレ B 細胞内のタンパク質リン酸化酵素 Erk1、Erk2 がカギ -

#### ◇ポイント◇

- Erk1、Erk2 を欠損させたマウスを作製、その機能を解析
- 活性化した Erk1、Erk2 は、核へ移行し、B 細胞の増殖を誘導
- 急性リンパ球性白血病などの病態解明、治療に新たな期待

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、細胞内タンパク質リン酸化酵素「Erk1」、「Erk2」が、免疫系細胞の1つであるB細胞の分化と増殖を制御する細胞内シグナルに必須であることを発見しました。これは、理研免疫・アレルギー科学総合研究センター（谷口克センター長）分化制御研究グループの黒崎知博グループディレクターと保田朋波流研究者らによる研究成果です。

個体が生涯に遭遇する多種多様な病原体に備えるためには、莫大なレパートリーのB細胞を産生し続けることが必要です。哺乳類の骨髄中では、機能的な抗体を産生できるB細胞だけが選ばれ、選ばれた細胞は何度も分裂を繰り返して、爆発的に数を増やします。この段階の細胞は「プレB細胞」と呼ばれ、細胞表面の未熟な抗体分子である「プレB細胞受容体」が選別と増殖に必要であることがわかっています。しかし、プレB細胞受容体からどのようなシグナルが細胞の核まで伝わり、プレB細胞の選別と増殖を制御しているのか、不明のままでした。

研究グループは、Erk1 と Erk2 という2つの細胞内タンパク質リン酸化酵素をマウスで欠損させ、これらの酵素が、プレB細胞の選別と増殖に不可欠であることを発見しました。Erk1 と Erk2 の両方を欠損したマウスでは、プレB細胞の選別の段階で分化が停止し、分裂増殖が起こりませんでした。さらに、細胞内の遺伝子発現を解析すると、プレB細胞受容体によって活性化した Erk1 と Erk2 は、転写因子を活性化し、細胞の増殖に関わる遺伝子の発現を制御していることが明らかになりました。

小児で最も多いがんである急性リンパ球性白血病は、未分化なB細胞の異常増殖を特徴とします。また、原発性免疫不全症の中にも、B細胞分化が初期段階で停止してしまう疾患があります。今回明らかにした、B細胞分化のシグナル伝達経路は、これらの疾患の病態解明や新規治療法の開発に役立つと期待できます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*Immunity*』のオンライン版（3月20日付：日本時間3月21日）に掲載されます。

## 1. 背景

細菌などの病原体が身体に侵入してくると、免疫系が発動して、それらを異物（抗原）として認識・排除するためのさまざまな反応が起こります。B細胞による抗体の産生は、その重要な反応の1つです（図1）。抗体は、細胞外で増殖する細菌を直接攻撃したり、細胞内で増殖したウイルスが細胞から細胞へと体液を介して拡散

するのを防いだりする役割を担っています。

個体が生涯にわたって遭遇する多種多様な病原体に備えるためには、莫大なレパトリーの B 細胞を産生し続けなければなりません。ヒトやマウスのような哺乳類では、B 細胞はまず骨髄の中で発生・分化します。そこでは機能的な抗体を産生する B 細胞だけが選ばれ、選ばれた細胞が何度も分裂を繰り返して、その細胞数を爆発的に増やします。この選別段階の B 細胞は「プレ B 細胞」と呼ばれ、細胞表面の未熟な抗体分子である「プレ B 細胞受容体」が選別に伴う増殖に必要であることが知られていました。しかし、プレ B 細胞受容体からどのようなシグナルが細胞の核まで伝わり、分化・増殖を制御しているのかは、これまで全く不明でした。

Erk1 と Erk2 という 2 つの細胞内タンパク質リン酸化酵素は、細胞の生存や増殖に重要な遺伝子発現に関与しています。研究グループは、これらの分子に着目し、B 細胞の初期の選別と増殖に関与しているかどうかを解析しました。

## 2. 研究手法と成果

### (1) Erk1/Erk2 二重欠損マウスの作製

Erk1 と Erk2 が、B 細胞の分化にどのように関与しているのかを検討するため、Erk1 と Erk2 を遺伝的に欠損するマウスを作製して、解析しました。先天的に Erk2 を欠損するマウスは、胎児の非常に初期の段階で死亡してしまうことが報告されていたため、マウスが成体になった後に、薬剤で後天的な遺伝子変異を Erk2 遺伝子に誘導できるマウスを作製しました。この Erk1 と Erk2 の両方の遺伝子に変異を持つ「Erk1/Erk2 二重欠損マウス」を調べたところ、B 細胞の分化がプレ B 細胞の選択段階で停止してしまい、機能的な B 細胞が全く産生されていないことがわかりました (図 2)。

### (2) Erk1、Erk2 の B 細胞分化への関与の解析

Erk1 と Erk2 の両方の遺伝子を欠損すると、なぜ B 細胞がプレ B 細胞の選択段階で停止するのか調べました。まず、Erk1/Erk2 二重欠損マウスの B 細胞を取り出し、細胞表面のプレ B 細胞受容体の発現を調べたところ、プレ B 細胞受容体は、正常に細胞表面に発現していました。このことから、Erk1 と Erk2 がプレ B 細胞受容体の発現そのものには影響を与えないことがわかりました。

次に、Erk1/Erk2 二重欠損マウス由来のプレ B 細胞の細胞増殖能を調べました。その結果、Erk1 と Erk2 の両方の遺伝子を欠損したプレ B 細胞では、増殖能が欠如していることがわかりました (図 3)。一方、プレ B 細胞受容体シグナルを欠損するプレ B 細胞に対し強制的に Erk1/Erk2 の活性化を誘導すると、正常な増殖能を取り戻すことがわかりました。このことから、プレ B 細胞受容体は、Erk1 と Erk2 を活性化するシグナルを伝達することで、プレ B 細胞数を増大させていることが判明しました。

### (3) B 細胞増殖のシグナル伝達経路の解明

Erk1 と Erk2 は、細胞質で活性化すると細胞核に移行し、複数種の転写因子を活性化しさまざまな遺伝子の発現を誘導することが知られています。そこで、プレ B 細胞受容体シグナルを人為的に誘導した後、活性化される遺伝子について

てマイクロアレイ解析<sup>※1</sup>を用いて探索しました。その結果、全ゲノム遺伝子中からプレB細胞の増殖を誘導するMyc遺伝子など4つの遺伝子を同定することに成功しました。また、これら4つの遺伝子は、Erk1とErk2によって活性化されるElkとCREBという2種類の転写因子によって発現が制御されていることを突き止めました。これらの結果から、Erk1とErk2が転写因子ElkとCREBを介して、B細胞の増殖遺伝子の発現を促すという、B細胞の増殖制御のシグナル伝達経路の一端が明らかとなりました（図4）。

### 3. 今後の期待

小児で最も多いがんは、未分化なリンパ球が異常増殖することが原因の急性リンパ球性白血病です。今回、未分化なリンパ球の増殖をコントロールしている新たなシグナル伝達経路とその関連遺伝子を同定したことで、異常増殖するリンパ球に対して、効果的に作用する薬剤の開発が期待されます。

また、近年、iPS細胞のように体細胞から人為的にES細胞を誘導する技術が開発されています。このような技術と、今回の知見を組み合わせることで、正常なリンパ球を誘導・増殖させ、免疫不全や白血病の患者に移植し、免疫系を再構築するなどといった新規治療法の開発が将来可能になると期待できます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

免疫アレルギー総合研究センター 分化制御研究グループ

グループディレクター 黒崎 知博 (くろさき ともひろ)

Tel : 045-503-7019 / Fax : 048-503-7018

横浜研究推進部 企画課

Tel : 045-503-9113 / Fax : 045-503-9117

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

### <補足説明>

#### ※1 マイクロアレイ解析

数万にも及ぶ遺伝子発現を一度に検出することができる解析技術。数万に区切られたスライドガラスやシリコン基盤の上に、DNAの部分配列を高密度に固定化し、調べたい遺伝子と反応させることにより、どの遺伝子が発現しているかを知ることができる。

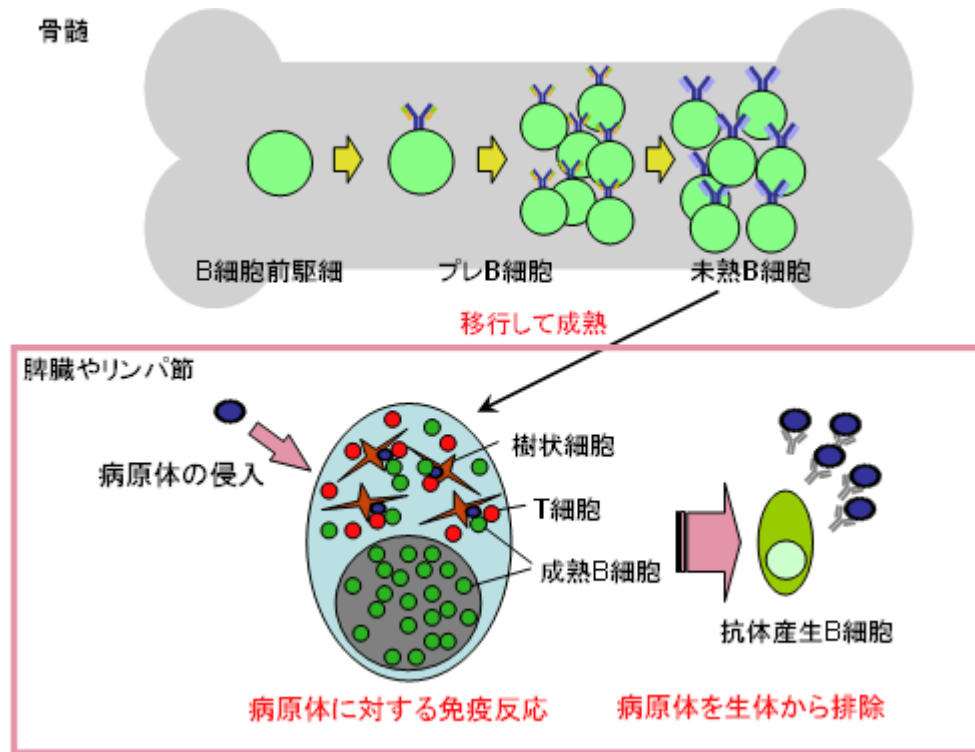


図 1 B 細胞による抗体の産生

骨髓内で分化した未熟な B 細胞は、脾臓やリンパ節といったリンパ組織に移行する。移行した未熟 B 細胞は成熟 B 細胞へと分化し、外来の抗原に対する反応に備える。細菌などの病原体が侵入した場合、直接または T 細胞や樹状細胞を介して B 細胞が活性化し、病原体に対する抗体を産生するようになる。

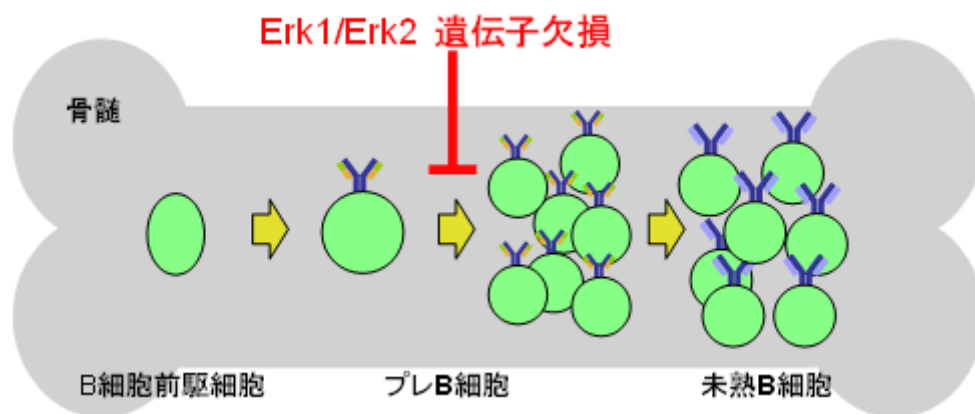


図 2 Erk1/Erk2 二重欠損マウスにおける B 細胞分化

Erk1/Erk2 二重欠損マウスでは、B 細胞分化がプレ B 細胞の増殖前の段階で完全に停止することがわかった。

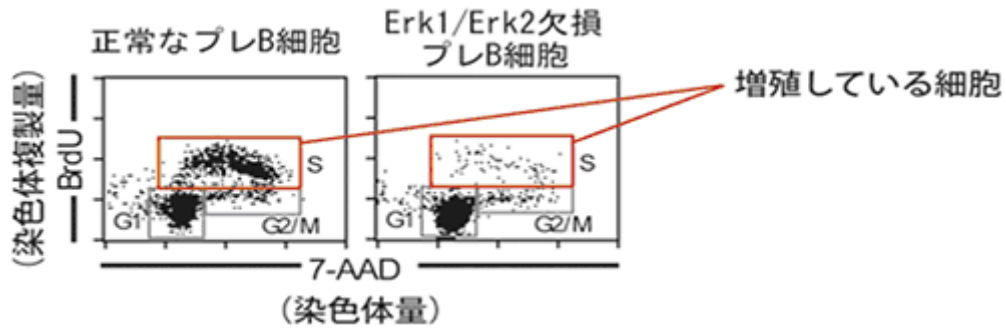


図3 Erk1/Erk2 二重欠損マウス由来プレ B 細胞の細胞増殖能

マウス骨髄の細胞を BrdU の取り込みと 7-AAD の染色から、細胞周期の状態を観察した。Erk1/Erk2 二重欠損マウスのプレ B 細胞では、増殖している細胞がほとんどいないことがわかった。

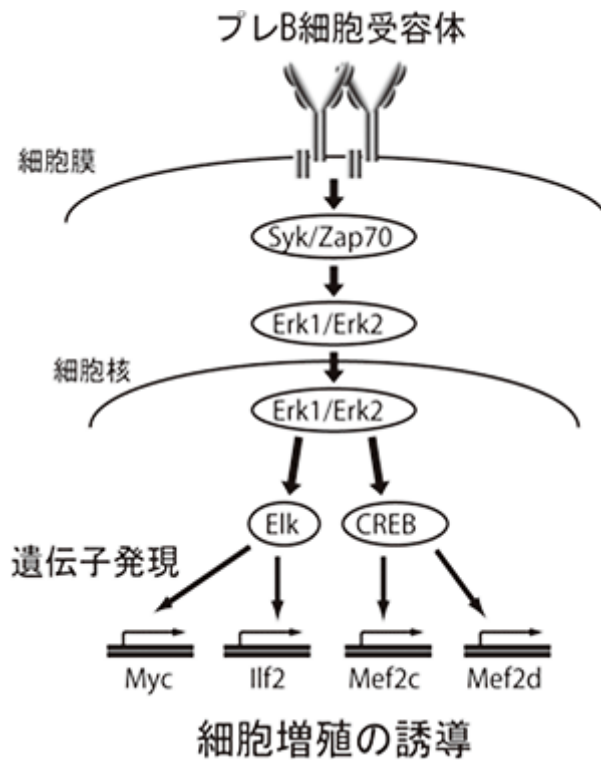


図4 B 細胞の増殖を誘導する 4 つの遺伝子の発現制御

今回の研究成果から、プレ B 細胞は Syk や Zap70 といったチロシンリン酸化酵素を介して Erk1 と Erk2 を活性化することがわかった。活性化した Erk1 と Erk2 は核内に移動し、Elk や CREB などの転写因子をリン酸化して活性化する。活性化した Elk と CREB は細胞増殖を誘導する複数の遺伝子を発現させ、プレ B 細胞の増殖を開始させていることが明らかになった。