

課題番号 70

## 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：内野 紗江佳  
(東北大学大学院農学研究科)

対応者：伊藤 甲雄  
(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 詩野 (東北大学大学院農学研究科)

研究費：物件費 20 万円，旅費 0 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)。本研究成果は、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。そこで本研究は、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成することで、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た。

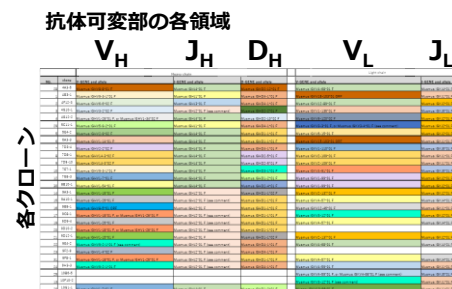
【打ち合せ等の開催状況】2022年4月13日に加齢医学研究所にて対面打ち合わせを行い、その後は随時メールを用いて BCR レパトア解析の実施に関する具体的な議論を行った。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

令和4年度の本共同研究成果を以下3点に記す。

第1に、作出済みであった授乳期の乳腺由来ハイブリドーマ (30 株) の BCR 配列を完全解明し、授乳期の乳腺形質細胞の BCR は非常に多様であることを明らかにした。一方で、BCR の一部の領域 (H 鎖 J 領域) に関しては、同一個体由来するハイブリドーマでは同一配列が特定されたことから、母体特有の遺伝子再構成の実態が示された。



(各色は選択されたアレルを表す)  
授乳期の乳腺形質細胞のBCRは  
非常に多様であった

第2に、授乳期の乳腺由来 IgA ハイブリドーマの大量培養から得られたモノクローナル抗体の精製 (30 種) を完了した。精製 IgA を用いて 15 種の腸内微生物との反応性を検証した結果、30 種中 10 種のクローンが特定の有用微生物に強い反応性を有することが示された。

第3に、離乳後の乳腺細胞を用いて全 12 回の細胞融合を行い、長命型 IgA 産生細胞由来ハイブリドーマ (全 15 クローン) の作出に成功した。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

授乳期のハイブリドーマの解析を通し、BCR が多様である一方で3分の1にあたるクローンは同一の有用微生物に強く反応することを明らかにした。来年度の継続研究においては、今年度新たに樹立に成功した離乳後乳腺由来ハイブリドーマを用いて同様の解析を実施することで、授乳期と離乳期の IgA 産生細胞の免疫学的意義の差異を解明できる可能性が高い。本研究により、周産期の免疫機能を理解することで、効率的な乳腺免疫賦活戦略の構築への発展が期待される。

[4] 成果資料

(1) **Saeka Uchino**, Katsuki Usami, Kanae Niimi, Mutsumi Furukawa, Tomonori Nochi “Maternal IgA in milk has specificity for certain beneficial intestinal microbe”. , 3rd International Joint Seminar on New Horizons in Animal Science, Sendai.