

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)
山下 司 (東北大学大学院農学研究科)
山岡 由惟 (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】授乳期の母体乳腺に備わる免疫機構である「乳腺免疫」は、母体の乳腺のみならず、乳汁を摂取した子の腸管を病原微生物から防御する上で極めて重要な役割を果たす。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 の産生に重要であることを明らかにしてきた (Cell Reports, 36(10):109655, 2021)。また、母乳に含まれる免疫物質が腸内微生物叢に及ぼす影響を理解するため、免疫不全モデルを用いた里子試験を実施し、免疫機能を欠くミルクを飲んで育てられた子では、成体になるまで腸内微生物叢に影響が及ぶことを明らかにした (Biochem Biophys Res Commun, Vol 756, 151585, 2025)。これらの研究成果は、乳汁 IgA をはじめとする乳中免疫物質が子の腸内細菌叢の形成に生涯にわたり重要な役割を果たすことを示唆している。しかし、乳汁 IgA 産生細胞が周産期を通してどのように維持されるかについては、十分に解析がなされていないのが現状である。

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)。この知見は、乳腺において IgA 産生細胞が長寿命化する可能性を示唆するものである。しかし、授乳期の乳腺に存在する IgA 産生細胞と、離乳後も乳腺に残存する IgA 産生細胞の免疫学的機能の違いについては、これまで比較検討がなされてこなかった。この点を明らかにすることは、周産期の母体の生体防御機構の理解を深める上で重要な課題である。

そこで本研究では、授乳期から離乳後にかけて乳腺の IgA 産生細胞がどのように維持されるのか、その意義を解明することを目的とした。特に、授乳期および離乳後の乳腺組織に存在する IgA 産生細胞を対象に、BCR の多様性の観点から比較解析を行う。

【打ち合せ等の開催状況】受け入れ教官である小笠原康悦教授とは、頻度としては、月 1 回程度、電話や e-mail を用いて連絡を取りながら、研究を進めてきた。小笠原研究室では、BCR レパトア解析に関する卓越した技術を有しており、同解析の実施に関する具体的議論を行った。実験の概要を以下に示す (図 1)。

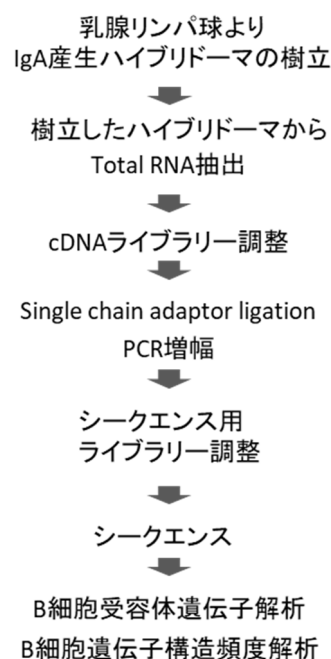


図1 BCRレパトア解析の流れ

〔3〕 成果

（3－1）研究成果

これまでに、申請者らは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として、「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）作出することに成功した。本共同研究では、これらの「乳腺由来 IgA ハイブリドーマ」の BCR レパトア解析を進めた。

令和 6 年度までに、授乳期由来ハイブリドーマ（30 株）および離乳後由来ハイブリドーマ（15 株）の BCR レパトアの解析を完了した。その結果、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ことが明らかとなった。一方で、BCR の一部（H 鎖 J 領域）に関しては、同一個体由来のクローンで類似した配列を示し、母体特有の遺伝子再編成機構の存在が示唆された。

また、授乳期と離乳後の乳腺に存在する形質細胞の違いを明らかにするため、授乳期および離乳後の乳腺由来ハイブリドーマを IgA 産生細胞のモデル細胞株としてラットに免疫し、それぞれに対するモノクローナル抗体の作出に挑戦した。その結果、授乳期由来のハイブリドーマを認識する新規モノクローナル抗体を樹立することに成功し、乳腺 IgA 形質細胞のサブセット解析の質向上を可能にした。

新規に樹立した抗体の抗原分析を実施した結果、認識抗原は IgA 形質細胞特有の膜表面分子ではなく、IgA であることが示されたが、分子間相互作用解析技術を用いて、IgA 研究に広く使用されている既存の抗 IgA 抗体（BD 社）と新規樹立した抗体の抗原のサイズを比較したところ、抗原は同じ IgA であるにも関わらず、BD 社の抗体は新規に樹立した抗体とは異なり、より多量体化された IgA を強く認識していることが示され、また、生体内に存在する IgA 産生細胞は、2 種の抗体を用いることで複数のサブセットに区別可能であることが示された。

（3－2）波及効果と発展性など

本共同研究の成果として、授乳期および離乳後の乳腺由来のハイブリドーマの BCR を明らかにした。本成果は今後ハイブリドーマから得られたモノクローナル抗体を用いて乳汁 IgA と抗原の結合機序をさらに解明していくために、重要な基盤データとなる。また、今後は新規樹立した抗 IgA ハイブリドーマ抗体の BCR や抗原を明らかにしていくことで、周産期を通した乳腺 IgA 産生細胞の性質や機能を明らかにすることが期待される。また、新たに樹立した IgA 特異的抗体を用いることで、IgA 形質細胞のサブセット解析の質向上が可能になったことから、乳腺における IgA 産生機序に関する研究への応用が可能になった。

〔4〕 成果資料

Kaori Ito, Jahidul Islam, Kota Sakurai, Saeka Koyama, Ayumi Matsuo, Kunihiro Okano, Ryota Hirakawa, Mutsumi Furukawa, Tomonori Nochi, Breast milk stabilizes bacterial communities in the large intestine even after weaning, *Biochem Biophys Res Commun.* 756:151585, 2025