

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		生体組織イメージングによる B 細胞分化制御機構の研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Imaging of B cell differentiation in the antibody response			
研究氏 代 表 名 者	カナ字 CC	姓)オカダ	名)タカハル	研究期間 B	2007 ~ 2011 年
	漢字 CB	岡田	峰陽	報告年度 YR	2009 年
	ローマ字 CZ	Okada	Takaharu	研究機関名	京都大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		大学院工学研究科・科学技術振興准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>リンパ球の生体組織内イメージングシステムを構築し、これを用いて免疫応答時における B 細胞の分化機構を解明するための研究を行った。まず二光子顕微鏡によるリンパ性組織の ex vivo、in vivo のライブイメージングシステムを構築した。このシステムを用いて得たライブ画像データを、多次元画像解析ソフトウェアを用いることにより、リンパ球の組織内動態の詳細な多次元解析が可能となった。抗体産生応答中のリンパ球のイメージングを行うために、B 細胞抗原受容体および T 細胞抗原受容体の遺伝子改変マウスを用いた実験を行った。抗原特異的 B 細胞が抗原と出会った後、増殖・分化するために、同族抗原に特異的なヘルパー T 細胞と、10 分から数時間の安定接合を行うことが分かっている。今回の実験では、特異的 B 細胞とヘルパー T 細胞の相互作用を、免疫後 1～2 日目、4 日目、7 日目に二光子レーザー顕微鏡により観察した。B 細胞とヘルパー T 細胞の 10 分以上持続する接合の形成効率は、1～2 日目においては全接触の 50%、4 日目には 16%、7 日目には 2.2%と免疫応答の進行とともに下降していくことが明らかとなった。また抗体産生細胞のホールマーク転写因子 Blimp-1 の遺伝子座への、GFP 蛍光タンパク質遺伝子ノックインマウス (Prdm1-GFP) を導入した。さらに胚中心 B 細胞のホールマーク転写因子 BCL6 の遺伝子座に、YFP 蛍光タンパク質遺伝子を導入した Bcl6YFP マウスを作製した。これらのマウスと B 細胞抗原受容体遺伝子ノックインマウスを交配することにより、抗体産生細胞や胚中心 B 細胞への分化状態を免疫開始後から追跡できる実験系が構築された。現在これらのマウスを用いて抗体産生細胞への分化シグナルを受けた胚中心 B 細胞の生体組織内挙動の観察実験を行っている。</p>					
キーワード FA	イメージング	抗体	免疫		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

The aim of this study is to elucidate the differentiation mechanisms of antigen-engaged B cells by live imaging of lymphocytes in the tissues. We established the ex vivo and in vivo imaging techniques for visualizing cells in the lymphoid organs by two-photon microscopy. These techniques enable us to perform the multi-dimensional analysis of lymphocyte dynamics in the tissue. By using these techniques, we conducted experiments to track during the antibody response antigen-engaged B cells and T cells harboring the antigen receptor transgenes. We have previously shown that B cells are stably interacted with cognate antigen-specific helper T cells for more than ten minutes to proliferate and differentiate either to plasma cells or germinal center B cells. In the present study, we performed the detailed tracking of B and T cells 1-2 days, 4 days, and 7 days after immunization, and revealed that the frequency of the B-T interactions longer than ten minutes decreased from 50% to 16%, and further down to 2.2% at the respective time points. We obtained the previously generated Prdm1-GFP knock-in mouse to track expression of Blimp-1, the hallmark transcription factor of plasma cells. We also generated the novel knock-in mouse, BCL6-YFP to detect expression of BCL6, the master transcription factor of germinal center B cells. By crossing these reporter mice with B cell antigen receptor knock-in transgenic mice, it now became possible to track in situ differentiation of antigen-specific B cells to plasma cells and germinal center B cells. We are currently attempting to visualize the interaction dynamics of germinal center B cells that are committed to become plasma cells.