

平成21年 6月 1日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591180
 研究課題名（和文）SLEモデルマウスにおける *Yaa* 遺伝子異常によるマージナルゾーンB細胞の分化異常
 研究課題名（英文） Defect of Marginal Zone B cell in *Yaa* Associated Lupus Prone-mice
 研究代表者 天野 浩文（AMANO HIROFUMI）
 順天堂大学・医学部・准教授
 研究者番号：50318474

研究成果の概要：

全身性エリテマトーデス(SLE)の特徴を持つ自己免疫疾患を自然発症するBXSMBマウスは、*Yaa* 遺伝子とその病態形成に重要な役割を果たしている。この*Yaa*遺伝子の異常はB細胞に発現されており、また脾臓において*Yaa*遺伝子の存在下ではマージナルゾーン(MZ) B細胞が著明に減少していることが知られている。我々は、*Yaa*遺伝子に伴うMZ B細胞の減少とB細胞抗原レセプター(BCR)及びそれに関わる分子との関わりについて、2種類の遺伝子改変マウスを用いて検討した。結果、BCRシグナル強度による違いがMZ B細胞の構成に影響を与えていると考えられた。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2007年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 2008年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、膠原病・アレルギー・感染症内科学

キーワード：(1) 全身性エリテマトーデス (2) マージナルゾーンB細胞

1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス(SLE)の特徴を持つ自己免疫疾患を自然発症するBXSMBマウスは、*Yaa* 遺伝子とその病態形成に重要な役割を果たしている。この*Yaa* 遺伝子の異常はB細胞に発現されており、またこれにより脾臓におけるマージナルゾーン(MZ) B細胞が著明に減少していることが知られている。

RP105(CD180)は、TLR類似分子であり低線量の放射線によって誘導されるアポトーシスからB細胞を回避させる抗体、Radioprotective(RP)抗体が認識する分子と

して発見され、主にB細胞上に発現している。またRP105は、B細胞におけるLPS認識やシグナル伝達に関わることが明らかになっている。またQuasi-monoclonal(QM)マウスは、nitrophenyl acetyl (NP) ハプテンに対し反応を示す均一な抗原特異性の細胞集団を有する。このマウスはNPハプテンに対して結合性を有することが知られている。

2. 研究の目的

MZ B細胞の分化異常はMZへの遊走性の欠陥、そしてB細胞抗原レセプター(BCR)シグ

ナルの過敏性に関連があることが示唆されている。今回、MZ B細胞とBCRに関わる分子の改変マウスであるRP105欠損マウスおよびQuasi-monoclonal (QM) マウスを用いて、*Yaa* 遺伝子によって引き起こされる自己免疫疾患の病態を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

RP105欠損マウスと BXS Bマウス由来の *Yaa* 遺伝子を野生型である C57BL/6 マウスに導入することで作製した C57BL/6 *Yaa* マウス (B6 *Yaa* マウス) と交配させることで、RP105欠損 *Yaa* マウスを作製した。作製した RP105欠損 *Yaa* マウス、RP105欠損マウス、B6 マウスそして B6 *Yaa* マウスの MZ B 細胞の構成をフローサイトメトリーで解析比較した。

QM マウスと B6 *Yaa* マウスの F1 マウスを作製し、更に F2 マウスを作製することで NP 反応性を持つ QM *Yaa* マウスを作製した。作製した QM *Yaa* マウス、QM マウス、B6 マウスそして B6 *Yaa* マウスの MZ B 細胞の構成をフローサイトメトリーで解析比較した。更にこれらのマウスに対して、抗原刺激となる NP-BSA および Imiquimod (R837) を投与した後の MZ B 細胞の構成についての解析を行った。

4. 研究成果

RP105欠損マウスは、B6 マウスよりも CD21^{high} CD23^{int} B220⁺ の分画である MZ B 細胞は増加していたものの、RP105欠損 *Yaa* マウスは B6 *Yaa* マウスと同様であった。

QM *Yaa* マウスで MZ B 細胞の構成をフローサイトメトリーで解析したところ、MZ B 細胞は B6 マウスと同様のレベルまで回復していた。B6 *Yaa* マウスに R837 を投与した際には、MZ B 細胞は、著明に減少したが、QM *Yaa* マウスに NP-BSA および R837 を投与したところ、特に MZ B 細胞の構成に変化は認めなかった。しかし、QM マウスに NP-BSA を投与したところ、著明に MZ B 細胞は減少していた。

上記の結果より、BCR シグナル強度による違いが MZ B 細胞の構成に影響をあたえていると考えられた。今後、更に上記マウスについて *in vivo* 及び *in vitro* で抗原刺激を行い、MZ B 細胞の構成と自己抗体産生について、現在解析・実験を継続している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- 1) Expression of B-cell activating factor of the tumour necrosis factor family

(BAFF) in T cells in active systemic lupus erythematosus: the role of BAFF in T cell-dependent B cell pathogenic autoantibody production *Rheumatology* 46(7):1083-6, 2007 査読あり

- 2) Nakiri Y, Minowa K, Suzuki J, Mitsuo A, Amano H, Morimoto S, Tokano Y, Takasaki Y. Expression of CD22 on peripheral B cells in patients with rheumatoid arthritis: relation to CD5-positive B cells. *Clin Rheumatol.* 26(10):1721-3, 2007 査読あり
- 3) Nakano S, Morimoto S, Suzuki J, Mitsuo A, Nakiri Y, Katagiri A, Nozawa K, Amano H, Tokano Y, Hashimoto H, Takasaki Y. Down-regulation of CD72 and increased surface IgG on B cells in patients with lupus nephritis. *Autoimmunity.* 40(1):9-15, 2007 査読あり
- 4) Morimoto S, Nakano S, Watanabe T, Tamayama Y, Mitsuo A, Nakiri Y, Suzuki J, Nozawa K, Amano H, Tokano Y, Kobata T, Takasaki Y. Expression of B-cell activating factor of the tumour necrosis factor family (BAFF) in T cells in active systemic lupus erythematosus: the role of BAFF in T cell-dependent B cell pathogenic autoantibody production *Rheumatology* 46(7):1083-6, 2007 査読あり
- 5) Nakano S, Morimoto S, Suzuki J, Nozawa K, Amano H, Tokano Y, Takasaki Y. Role of pathogenic auto-antibody production by Toll-like receptor 9 of B cells in active systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 47(2):145-9, 2008 査読あり

- 6) Watanabe T, Suzuki J, Mitsuo A, Nakano S, Tamayama Y, Katagiri A, Amano H, Morimoto S, Tokano Y, Takasaki Y. Striking alteration of some populations of T/B cells in systemic lupus erythematosus: relationship to expression of CD62L or some chemokine receptors. *Lupus*. 17(1):26-33, 2008
査読あり
- 7) Amano H, Furuhashi N, Tamura N, Tokano Y, Takasaki Y. Hypocomplementemic Urticarial Vasculitis with Jaccoud's Arthropathy and Valvular Heart Disease (case report and review of the literature) *Lupus* 2008;17(9):837-41.
査読あり
- 8) Katagiri A, Morimoto S, Nakiri Y, Nakano S, Mitsuo A, Suzuki J, Amano H, Nozawa K, Asano M, Tokano Y, Hashimoto H, Takasaki Y. Decrease in CD4(+)CD25(+) and CD8(+)CD28(+) T cells in interstitial pneumonitis associated with rheumatic disease. *Mod Rheumatol*. 2008;18(6):562-9. 査読あり

[学会発表] (計 9 件)

天野浩文、野澤和久、森本真司、西村裕之、広瀬幸子、戸叶嘉明、高崎芳成 BXSBBマウスの単球由来の樹状細胞は抗原特異的T細胞の増殖を誘導する
日本リウマチ学会総会 (第51回) 2007年

天野浩文、天野恵理、安藤誠一郎、仲野総一郎、森本真司、戸叶嘉明、林青順、広瀬幸子、高崎芳成BXSBBマウスの末梢血単球増加におけるFc γ レセプターの役割
日本臨床免疫学会総会(第35回) 2007年

天野浩文、天野恵理、安藤誠一郎、仲野総一郎、森本真司、戸叶嘉明、林青順、西村裕之、広瀬幸子、高崎芳成 BXSBBマウスの末梢血単球増加におけるFc γ レセプターの役割
日本リウマチ学会総会(第52回) 2008年

天野浩文、天野恵理、林青順、仲野総一郎、野澤和久、森本真司、戸叶嘉明、広瀬幸子、高崎芳成 Efficient Differentiation of Gr-1 Positive Monocytes to Gr-1 Negative Monocytes and Dendritic Cells in the *Yaa* Model of Systemic Lupus Erythematosus
日本免疫学会総会(第38回) 2008年

天野浩文、天野恵理、安藤誠一郎、仲野総一郎、森本真司、戸叶嘉明、林青順、西村裕之、広瀬幸子、高崎芳成 IgG Fc Receptor Contribution to the Development of Monocytosis in Lupus Prone BXSBB Mice
日本免疫学会総会(第37回) 2007年

Amano H, Ando S, Amano E, Nakano S, Minowa K, Watanabe T, Shinji Morimoto, Tokano Y, Takasaki Y. Increased CD14⁺CD62L^{low} CD16^{high} "resident" Monocyte Subset in Systemic Lupus Erythematosus. アメリカリウマチ学会(第74回) 2008年

Amano H, Amano E, Lin Qingshun, Ando S, Nishimura H, Morimoto S, Hirose S, Takasaki Y. Fc \cdot R-dependent Expansion of Gr-1⁻ Monocyte Subset in Lupus-Prone Mice. 日本免疫学会総会(第38回) 2008年

Amano H, Ando S, Amano E, Nakano S, Minowa K, Watanabe T, Shinji Morimoto, Tok

ano Y, Takasaki Y. Increased CD14⁺CD62L^{lo}
^w CD16^{high} “resident” Monocyte Subset in
Systemic Lupus Erythematosus. アジア環
太平洋リウマチ学会(第13回) 2008年

天野浩文、天野恵理、仲野総一郎、安藤誠一
郎、箕輪健太郎、渡辺崇、森本真司、林青順、
広瀬幸子、戸叶嘉明、高崎芳成 Toll-like
receptor (TLR) とリウマチ性疾患
日本リウマチ学会総会(第 53 回) シンポジウ
ム 2009 年

〔図書〕(計 0 件)
なし

〔産業財産権〕
○出願状況(計 0 件)
なし

○取得状況(計 0 件)
なし

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

研究代表者 天野 浩文 (AMANO HIROFUMI)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：50318474

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし