

機関番号： 32620

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591272

研究課題名(和文) SLEにおける性染色体に発現するToll様受容体を介した免疫異常

研究課題名(英文) Immunological disorder via Toll like receptors expressed by sex chromosome in systemic lupus erythematosus

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(和文)：SLEのモデルマウスであるBXSBBマウスにおいて、疾患を促進させる*Yaa*(Y-linked autoimmune acceleration)遺伝子変異は、本来X染色体上に存在するToll-like receptor(TLR)7をコードする*tlr7*をはじめとする十数個の遺伝子を含む領域がY染色体上に転座し、維持されてきたものであることが明らかにされている。我々は、B細胞の活性化を負にフィードバックするFcγRIIBを欠損した際に生じる関節リウマチ様の病態が*Yaa*遺伝子の導入により病態が変化するかを調べたところSLEに類似した腎症を誘導したことをつきとめた。TLR7の重複が自己免疫疾患において疾患特異性をも変化させる現象を確認した。

研究成果の概要(英文)：*Yaa*(Y-linked autoimmune acceleration) mutation, which develop autoimmune diseases in lupus-prone BXSBB mice turned out to be a translocation of X chromosomal telomeric region containing *tlr7* gene onto Y chromosome. Meanwhile, FcγRIIB is known as a negative regulator of B cell activation. We introduced the *Yaa* mutation to the FcγRIIB knockout mice which develop rheumatoid arthritis. The FcγRIIB^{-/-}.*Yaa* mice develop lupus like nephritis and we confirm the TLR7 duplication affect the specificity of disease phenotype in autoimmune background.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：免疫学、病理学、膠原病学

キーワード：Toll様受容体

1. 研究開始当初の背景

IgG型免疫グロブリンのFc部分を認識する受容体であるFcγ受容体は、ほとんどが免疫応答を活性化させる方向に働くが、FcγRIIBは唯一抑制性のシグナルを伝えるFcγ受容体である。この

FcγRIIBを野生型マウスであるC57BL/6(B6)マウスで欠損したB6.FcγRIIB^{-/-}マウスでは、全身性エリテマトーデス(SLE)に類似した腎炎を発症すると報告されている(RavetchらImmunity 2000)。一方、広瀬らはB6.FcγRIIB^{-/-}

マウスで SLE の病態を発症することはなく、リウマトイド因子(RF)の出現とともに関節破壊と変形を伴う関節リウマチの病態を呈したと報告している (Sato-Hayashizaki ら Arthritis Rheum 2011)。

2. 研究の目的

今回我々は、関節リウマチを自然発症する B6.Fc γ RIIB^{-/-}マウスを用いて SLE を誘導し Toll like receptor (TLR)7 の重複を認める *Yaa* 遺伝子を導入することで病態の変化が生じるかを確認する目的で B6.Fc γ RIIB^{-/-}*Yaa* マウスを作製し解析した。

3. 研究の方法

交配により B6.Fc γ RIIB^{-/-}*Yaa* マウスを作製し 2 ヶ月、6 ヶ月齢での血清中の RF、抗 ds-DNA 抗体、抗クロマチン抗体を ELISA で測定した。さらに腎臓の免疫組織学的検査を行った。脾臓細胞についてフローサイトメトリーを用いて解析した。

4. 研究成果

B6.Fc γ RIIB^{-/-}*Yaa* マウスは 2 ヶ月齢で B6.Fc γ RIIB^{-/-}マウス、B6 マウス、B6.*Yaa* マウスと比較し有意に抗 ds-DNA 抗体、抗クロマチン抗体の上昇を認めた。RF は B6 マウスと比較して上昇していたが、B6.Fc γ RIIB^{-/-}マウス、B6.*Yaa* マウスと比較し変化を認めなかった。6 ヶ月齢の時点で蛋白尿を認めるマウスは 50%であり、50%生存率は約 7 カ月であった。腎臓組織では、ループス様糸球体腎炎の像を呈し、糸球体では免疫グロブリンの沈着を認めた。脾臓の B 細胞では CD69 陽性細胞および CD138 陽性細胞の増加を認め、マージナルゾーン B 細胞の低下を認めた。さらに ICOS 陽性 PD-1 陽性 T 細胞の著明な増加を認めた。RA と SLE では、共通の遺伝子背景が存在し TLR の刺激など、エピジェネティックな作用が加わることが自己免疫疾患の発症における疾患特異性を決定している可能性がある。B6.Fc γ RIIB^{-/-}*Yaa* マウスは SLE の病態を示し、脾臓リンパ球においては活性化フェノタイプを呈した。RA と SLE では共通の疾患関連遺伝子が存在し、他の自己免疫感受性遺伝子の異常が加わることがそれらの疾患特異性を決定している可能性が考えられる。

今後さらにこのマウスにおける免疫異常についての解析を深めていき、自己免疫疾患の病態の解明および新規治療

開発に結びつく研究を推し進めていきたい。

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 12 件)

- ① Minowa K, Amano H, Nakano S, Ando S, Watanabe T, Nakiri Y, Amano E, Tokano Y, Morimoto S, Takasaki Y. Elevated serum level of circulating syndecan-1 (CD138) in active systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 44(5):357-62, 2011 査読有
- ② 天野浩文. SLE の病態と自然免疫 - Toll-like receptor を中心に. リウマチ科, 46(2):117-22, 2011 査読無
- ③ 天野浩文. Fc γ レセプターと全身性自己免疫疾患. 日本臨床免疫学会会誌. 34(1): 1-7, 2011 査読無
- ④ Lin Q, Hou R, Sato A, Ohtsuji M, Ohtsuji N, Nishikawa K, Tsurui H, Amano H, Amano E, Sudo K, Nishimura H, Shirai T, Hirose S. Inhibitory IgG Fc receptor promoter region polymorphism is a key genetic element for murine systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 34(4):356-63, 2010 査読有
- ⑤ Shimane K, Kochi Y, Horita T, Ikari K, Amano H, Hirakata M, Okamoto A, Yamada R, Myouzen K, Suzuki A, Kubo M, Atsumi T, Koike T, Takasaki Y, Momohara S, Yamanaka H, Nakamura Y, Yamamoto K. The association of a nonsynonymous single-nucleotide polymorphism in TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Arthritis Rheum*. 62(2):574-9, 2010 査読有
- ⑥ Ando S, Amano H, Amano E, Minowa K, Watanabe T, Nakano S, Nakiri Y, Morimoto S, Tokano Y, Lin Q, Hou R, Ohtsuji M, Tsurui H, Hirose S, Takasaki Y. FTY720 exerts a survival advantage through the prevention of end-stage glomerular inflammation in lupus-prone BXSB mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 394(3):804-10, 2010 査読有

- ⑦ Nakano S, Morimoto S, Suzuki S, Watanabe T, Amano H, Takasaki Y. Up-regulation of the endoplasmic reticulum transmembrane protein UNC93B in the B cells of patients with active systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 49(5):876-81, 2010 査読有
- ⑧ Santiago-Raber ML, Amano H, Amano E, Fossati-Jimack L, Swee LK, Rolink A, Izui S. Evidence that Yaa-induced loss of marginal zone B cells is a result of dendritic cell-mediated enhanced activation. *J Autoimmun*. 34(4):349-55, 2010 査読有
- ⑨ Matsuyama N, Morimoto S, Tokano Y, Amano H, Nozawa K, Isonuma H, Hashimoto H, Takasaki Y. The long-term prognosis of lupus nephritis patients treated with intravenous cyclophosphamide. *Intern Med*. 49(9):823-8, 2010 査読有
- ⑩ 天野浩文. SLEの疾患活動性の評価法と問題点-SLEDAI(original, SLEDAI-2K)とBILAG(classicと2004など). *リウマチ科* 43(6):585-592, 2010 査読無
- ⑪ Santiago-Raber ML *, Amano H * (*equal contributor), Amano E, Baudino L, Otani M, Lin Q, Nimmerjahn F, Verbeek JS, Ravetch JV, Takasaki Y, Hirose S, Izui S. Fcγ receptor-dependent expansion of a hyperactive monocyte subset in lupus-prone mice. *Arthritis Rheum*. 60(8):2408-17, 2009 査読有
- ⑫ 天野浩文. SLEモデルマウスとYaa遺伝子. *リウマチ科* 42(2):198-204, 2009 査読無
- [学会発表] (計14件)
- ① 安藤誠一郎, 天野浩文, 天野恵理, 箕輪健太郎, 渡邊崇, 仲野総一郎, 森本真司, 戸叶嘉明, 林青順, 侯蓉, 大辻希樹, 広瀬幸子, 高崎芳成. FTY720治療後のBXSbマウス腎炎における腎臓局所サイトカイン・ケモカインの発現の変化. 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2011.7.17-20.
- ② 箕輪健太郎, 天野浩文, 仲野総一郎, 安藤誠一郎, 渡邊崇, 名切裕, 天野恵理, 戸叶嘉明, 森本真司, 高崎芳成. 活動期SLE患者において血清中sCD138は高値を示す. 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2011.7.17-20.
- ③ 森本真司, 仲野総一郎, 渡邊崇, 天野浩文, 高崎芳成. 当科におけるループス腎炎V型の治療と予後の検討. 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2011.7.17-20.
- ④ 今高之, 山路健, 杉本郁, 宮下知子, 小笠原倫大, 建部一夫, 天野浩文, 津田裕士, 橋本博史, 高崎芳成. 全身性エリテマトーデス剖検80例における病理所見と臨床経過に関する検討. 第26回日本臨床リウマチ学会. 横浜 2011.12.03-04.
- ⑤ Amano H, Kawano S, Kaneko T, Sato-Hayashizaki A, Lin Q, Takasaki Y and Hirose S. Yaa-Mutation Induces Phenotype Shift From Rheumatoid Arthritis to Systemic Lupus Erythematosus in FcγRIIB-Deficient B6 Mice. The 75th National Meeting of American College of Rheumatology. Chicago 2011. 11.5-9.
- ⑥ 天野浩文, 安藤誠一, 箕輪健太郎, 金子俊之, 河野晋也, 仲野総一郎, 渡邊崇, 石原直樹, 天野恵理, 森本真司, 林青順, 広瀬幸子, 高崎芳成. SLEとB細胞異常. 第39回日本臨床免疫学会総会. 東京 2011.9.15-17.
- ⑦ 箕輪健太郎, 天野浩文, 仲野総一郎, 安藤誠一郎, 渡邊崇, 名切裕, 天野恵理, 戸叶嘉明, 森本真司, 高崎芳成. 活動期SLE患者において血清中sCD138は高値を示す. 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2011.7.17-20.
- ⑧ Amano H, Amano E, Ando S, Minowa K, Watanabe T, Nakano S, Morimoto S, Hirose S, Takasaki Y, Izui S. The role of complement and B cell antigen receptor on the development of marginal zone B cells in lupus-prone mice. 14th Congress of the Asia Pacific League of Associations for Rheumatology (APLAR 2010) Hong Kong. 2010. 7. 11-15
- ⑨ Minowa K, Amano H, Nakano S, Ando S, Watanabe T, Ishihara N, Nakiri Y,

Morimoto S, Tokano Y, Takasaki Y. The hidden activation of plasma cell in SLE patients detected by soluble CD138. 14th International Congress of Immunology Kobe, 2010. 8. 22-27

- ⑩ Amano H, Amano E, Ando S, Minowa K, Morimoto S, Hirose S, Izui S, Takasaki Y. The role of complement and B cell antigen receptor on the development of marginal zone B cells in lupus-prone mice. 14th International Congress of Immunology Kobe, 2010. 8. 22-27
- ⑪ 天野浩文、天野恵理、安藤誠一郎、箕輪健太郎、森本真司、戸叶嘉明、広瀬幸子、高崎芳成. SLEモデルマウス脾臓辺縁帯B細胞形成における補体とB細胞抗原受容体の関与 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2010.4.22-25.
- ⑫ 天野浩文、天野恵理、安藤誠一郎、箕輪健太郎、森本真司、戸叶嘉明、広瀬幸子、高崎芳成. SLEモデルマウス脾臓辺縁帯B細胞形成における補体とB細胞抗原受容体の関与. 第54回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2010.4.22-25.
- ⑬ 安藤誠一郎、天野浩文、天野恵理、渡邊崇、名切裕、森本真司、戸叶嘉明、林青順、大辻希樹、広瀬幸子、高崎芳成. FTY720によるBXSbマウスのループス腎炎抑制機序の解析. 第54回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2010.4.22-25.
- ⑭ 天野浩文、天野恵理、仲野総一郎、安藤誠一郎、箕輪健太郎、渡邊崇、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(シンポジウム) 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2009.4.23-26.

6. 研究組織

(1) 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