

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成22年3月31日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790311
 研究課題名（和文） B細胞抑制分子FcγRIIBの発現低下による形質細胞分化の亢進とその機序
 研究課題名（英文） The mechanism for plasma cell differentiation which controlled by inhibitory FcγRIIB expression
 研究代表者
 林 青順（LIN QINGSHUN）
 順天堂大学・医学部・助教
 研究者番号：00468589

研究成果の概要（和文）：*Yaa* 変異遺伝子により SLE を発症する BXSB 雄マウスの SLE 型 *Fcgr2b* 多型を、正常型に置換えた BXSB. IIB^{B6} では、病態が抑制され、*Fcgr2b* 多型が疾患感受性遺伝子であると考えられる。しかし *Yaa* のない BXSB 雌は、SLE 型 *Fcgr2b* 多型にも係らず SLE を発症せず、*Yaa* と SLE 型 *Fcgr2b* 多型には相補作用がある。*Yaa* 非存在下での SLE 型 *Fcgr2b* 多型の役割を知るために、NZW を BXSB あるいは BXSB. IIB^{B6} と交配した F1 雌の病態と比較した。その結果、前者 F1 の SLE 病態は、後者 F1 で高度に抑制され、SLE 型 *Fcgr2b* 多型の重要性が確認された。

研究成果の概要（英文）：The autoimmune-type *Fcgr2b* is suggested to be one most plausible susceptibility gene for systemic lupus erythematosus (SLE). We previously found that there is a strong epistatic interaction between the autoimmune-type *Fcgr2b* polymorphism and Y chromosome-linked autoimmune acceleration (*Yaa*) mutation, thus severe SLE observed in BXSB males neither develops in BXSB females nor in the congenic BXSB. IIB^{B6} males carrying wild-type *Fcgr2b*. Present studies examined whether the wild-type *Fcgr2b* could suppress SLE in mice carrying *Yaa*-unrelated SLE susceptibility genes. Comparison of disease features between SLE-prone (NZW x BXSB) F1 females and the congenic (NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1 females showed that, as compared with findings in the former, SLE features were inhibited in the latter. Thus, the *Fcgr2b* polymorphism is a key genetic element for not only *Yaa*-related but also *Yaa*-unrelated lupus.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総 計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：SLE, *Fcgr2b* 遺伝子多型, $Fc\gamma$ RIIB 発現, 胚中心 B 細胞, 感受性遺伝子

1. 研究開始当初の背景

①膠原病の代表的疾患である全身性エリテマトーデス(SLE)は、抗体媒介性自己免疫疾患であり、その発症機構には自己反応性B細胞の異常分化・活性化が関与する。抗体のIgG-Fc部分に対するレセプター($Fc\cdot R$)には、 $Fc\cdot RI$, $Fc\cdot RII$, $Fc\cdot RIII$, $Fc\cdot RIV$ の主に4種類が知られている。これらのレセプターは多くの免疫細胞上に発現し、IgG免疫複合体を介して免疫応答や炎症反応を調節している。その中、 $Fc\cdot RI$, $Fc\cdot RIII$, $Fc\cdot RIV$ はそれぞれ細胞質内活性化モチーフ(ITAM)を有し、活性化シグナルを伝達するのに対し、 $Fc\cdot RII$ は抑制性モチーフ(ITIM)を有し、抑制性シグナルを伝達し、B細胞機能を抑制している。

②我々は、SLE自然発症マウスであるNZB, BXSB, MRL, NODマウスには共通して*Fcgr2b*遺伝子のプロモーター領域の転写因子AP-4の結合領域の欠損を伴う多型が存在している事を見出した(Jiang et al. *Int. Immunol.* 11:1685, 1999)。*Yaa*変異遺伝子によってSLE病態が発症する雄BXSBマウスに、欠損のない正常B6由来の*Fcgr2b*遺伝子を導入した雄BXSB. IIB^{B6}マウスでは、自己抗体産生を伴うSLE病態発症が完全に抑制された。この事実より、SLE型*Fcgr2b*遺伝子多型が自己抗体産生能の亢進に働き、*Yaa*関連SLE発症の原因となっていることが示された(Lin et al. *J. Immunol.* 177:1646, 2006)。

③しかしながらBXSB雌マウスはSLE型*Fcgr2b*遺伝子多型を持っているにも関わらずSLE病態を発症しない。また、正常B6マウスに*Yaa*遺伝子を導入したB6.*Yaa*マウスにもSLE病態は発症しない。従って、SLE型*Fcgr2b*遺伝子多型は*Yaa*変異遺伝子との相互作用によってSLE感受性に寄与していることが示された。

2. 研究の目的

SLEは代表的な全身性自己免疫疾患で、複数の感受性遺伝子の相互作用により発症する多遺伝子疾患である。我々はSLE自然発症モデルマウス系を用いたゲノムワイドな感受性遺伝子解析から*Fcgr2b*遺伝子多型がSLE感受性遺伝子の一つであることを見出した。しかし、上記したように、この多型のみではSLEは発症せず、雄BXSBマウスのSLE発症には、*Yaa*変異遺伝子の関与が必須である。

本研究では、*Yaa*非関連SLEにおけるSLE型*Fcgr2b*遺伝子多型の役割を解析する目的で、以下の実験を行なった。

3. 研究の方法

①(B6 x BXSB) F1マウスをBXSBマウスと交配することにより、第1染色体テロメアの*Fcgr2b*遺伝子領域を含む約6 cMがB6マウス由来であるBXSBコンジュニックマウス系(BXSB. IIB^{B6})を樹立した。

②NZWマウスとBXSBあるいはBXSB. IIB^{B6}を交配した第1代雑種(NZW x BXSB) F1および(NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1マウスを作製し、それぞれ雌マウスのSLE病態ならびにリンパ球の活性化の状態を比較した。

4. 研究成果

①SLE病態の比較

(NZW x BXSB) F1雌マウスでは4ヶ月齢より蛋白尿の累積発生率の上昇が見られるのに対し、(NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1雌マウスでは高度に抑制されている(図1A)。血清中のIgG抗DNA抗体産生も(NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1雌では有意に低下していた(図1B)。(NZW x BXSB) F1雌マウスで見られる糸球体の腫大、細胞増殖および高度の免疫複合体沈着が(NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1雌マウスでは見られなかった(図1C)。

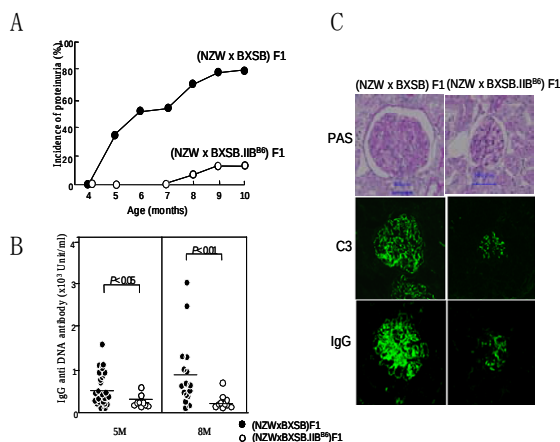


図1 (NZW x BXSB) F1 および (NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1 雌マウスの SLE 病態の比較。

②脾臓リンパ球の活性化の比較

図2にCD69の発現を指標にしたB細胞およびT細胞の活性化の程度を比較した。図からも明らかなように、(NZW x BXSB) F1 雌に比べ、(NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1 雌マウスではCD69を発現した活性化細胞比率が有意に減少していた。

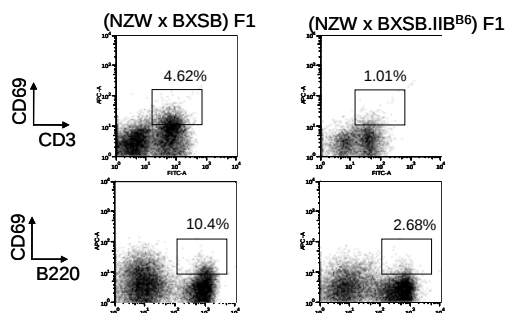


図2 (NZW x BXSB) F1 および (NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1 雌マウスの脾臓リンパ球活性化の比較

③B細胞におけるFcγRIIB発現レベルの比較

両F1マウスの脾臓B細胞でのFcγRIIB発現レベルを2.4G2抗体を用いて比較した。その結果、胚中心B細胞(GC-B)および形質細胞(plasma)において、(NZW x BXSB) F1 雌マウスに比べ、(NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1 雌マウスではFcγRIIB発現レベルが有意に高かった。一方、活性化していないB細胞(Non-GC B)においては発現レベルに差は見られなかった(図3)。

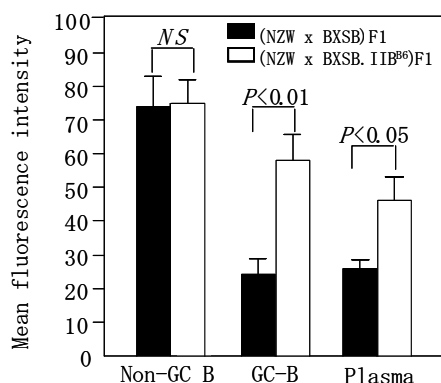


図3 (NZW x BXSB) F1 および (NZW x BXSB. IIB^{B6}) F1 雌マウスにおけるFcγRIIB発現レベルの比較

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5件)

- ① Qingshun Lin, Rong Hou, Aya Sato, Mareki Ohtsuji, Naomi Ohtsuji, Keiko Nishikawa, Hiromichi Tsurui, Hirofumi Amano, Eri Amano, Katsuko Sudo, Hiroyuki Nishimura, Toshikazu Shira and Sachiko Hirose. Inhibitory IgG Fc receptor promoter region polymorphism is a key genetic for murine systemic lupus erythematosus. J. Autoimmun. 査読有、2010;34(4):356-63
- ② 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. 査読有、2010; 394(3):804-10.
- ③ Santiago-Raber ML, Amano H, 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. 査読有、2009; 60(8); 2408-17.
- ④ Abe Y, Ohtsuji M, Ohtsuji N, Lin Q, Tsurui H, Nakae S, Shirai T, Sudo K, Hirose S. Ankylosing enthesitis associated with up-regulated IFN-γ and IL-17 production in (BXSB x NZB) F1 male mice; a new mouse model. Mod. Rheumatol. 査読有、2009;19(3):316-22.
- ⑤ Tsukamoto K, Ohtsuji M, Shiroiwa W, Lin Q, Nakamura K, Tsurui H, Jiang Y, Sudo K, Nishimura H, Shirai T, Hirose S. Aberrant genetic control of invariant TCR-bearing NKT cell function in New Zealand mouse strains: possible involvement in systemic lupus erythematosus pathogenesis. J. Immunol. 査読有、2008;180(7):4530-9.

[学会発表] (計2件)

- ① Lin Q, Hou Rong, Sato Aya, Tsurui Hiromichi, Ohtsuji Mareki, Ohtsuji

Naomi、Nishikawa Keiko、Nishimura Hiroyuki、Sudo Keiko、Shirai Toshikazu、Hirose Sachiko. *Fcgr2b* promoter region polymorphism is a key genetic element for breakdown of self-reactive B cell tolerance. 第38回日本免疫学会総会・学術集会 2009年12月4日 大阪・大阪国際会場

②Lin Q、Hiromichi Tsurui、Mareki Ohtsuji、Hirofumi Amano、Hiroyuki Nishimura、Toshikazu Shirai、Sachiko Hirose. The role of *Fcgr2b* promoter region polymorphism in (NZW x BXSb)F1 mice. 第37回日本免疫学会総会・学術集会 2008年12月3日 京都・国立京都国際会館

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 青順 (LIN QINGSHUN)
順天堂大学・医学部・助教
研究者番号：00468589

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし