

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659057

研究課題名（和文）ランダムペプチドライブラリーへの血中抗体反応性評価による免疫疾患発症予測法の開発

研究課題名（英文）Prediction of immune disorders by evaluation of serum IgG reactivity to random peptide library

研究代表者

高井 俊行（TAKAI TOSHIYUKI）

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：20187917

研究成果の概要（和文）：自己免疫疾患等の発症前と発症後で自然抗体プロファイルが変化する予測の下、まずヒト・ポリクローナル IgG が有する細胞への結合性と機能修飾能を検討したところ、B 細胞等にその F(ab)₂ を介して結合し、速やかに取り込まれること、さらに B 細胞 CpG 刺激後のサイトカイン応答性 xx を低下させる作用を見出した。

研究成果の概要（英文）：Based on an assumption that reactivities of natural antibodies in sera will be changed before and after onset of immune disorders such as autoimmune diseases, we first analyzed the effect of human polyclonal IgG preparations on immune cell functions such as that of B cells. We found that F(ab)₂ fragment of IgG can bind to various cell surfaces and swiftly internalized into the cytosol. Interestingly, the polyclonal IgG was able to suppress cytokine production from B cells stimulated with CpG.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	0	2,100,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	210,000	3,010,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：免疫制御・抗体・自己免疫疾患・アレルギー・炎症

1. 研究開始当初の背景

加齢による免疫機能の低下は主に胸腺の生理的萎縮による T 細胞の数・多様性・機能の低下という内的因子で説明されているが、個体が経験した外的な感染性の因子や自己組織への免疫応答の影響がある。しかしながら、外的小および自己組織に対する免疫応答の履

歴と生理的变化、即ち「免疫履歴」を簡便、客観的に評価する手段は乏しい上、免疫履歴を個体の免疫機能の評価や、疾患発症の予測とリンクさせた研究は乏しい。

2. 研究の目的

本研究では、免疫履歴を血中抗体の反応性を

網羅的に把握することで簡便に評価する基盤技術を構築し、これを免疫疾患発症の予測に応用することを目的とする。実際には、血中抗体のランダムペプチドライブラリー (RPL) への反応性をマイクロアレー解析により定量化し、自己免疫疾患の発症前および発症過程でこのパラメーターがどのように変化するかを調査することを計画した。

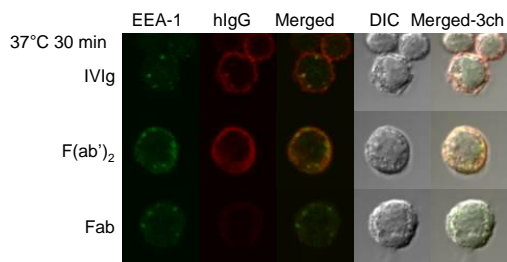
3. 研究の方法

ランダムペプチドライブラリーへの反応性の評価の前段階として、ヒトの血中自然抗体がそのポリクローナリティにより、どのような細胞に結合し、どのような免疫修飾機能を有するのかを評価する実験系を構築した。

2010 年度はまず血中抗体の、あらゆるエピトープに対する網羅性を利用している既存の治療薬と我々が考えているγグロブリン製剤およびその大量投与として実際に炎症や自己免疫疾患に適用されているγグロブリン大量静注療法 (IVIg) の有効性がどのような細胞および機能に対して発揮されているのかを評価する研究を行った。とりわけ我々が自己抗体のソースとして着目している B1 細胞に対して、その抗体産生能やサイトカイン産生能に対する IVIg の作用を検討した。さらに 2011 年度はこれに B2 細胞を加えて比較解析を行った。

4. 研究成果

自己抗体の主要なソースとして着目されている B1 細胞、および特異抗体、高親和性の自己抗体のソースと考えられる B2 細胞を比較検討した。まずマウス B1、B2 細胞に対して、その抗体産生能やサイトカイン産生能に対する IVIg の作用を検討した結果、マウス B1 および B2 細胞の TLR9 刺激後の IL-10 産生に対して IVIg が有意な抑制作用を示すことを見出した。また IVIg は IgM 産生、IL-6 産生などには顕著な修飾効果を示さなかった。IL-10 産生制御の機構を探索するために IVIg の細胞への結合と取り込みを共焦点レーザー蛍光顕微鏡により解析したところ、B 細胞表面上にまず IVIg の F(ab)₂ 部分を介して結合し、速やかに細胞内に取り込まれてリソソーム画分に移行することが示された (下図)。



細胞上への結合は Fab フラグメントでは顕

著でなく、また B 細胞に限らず T 細胞、マクロファージでも見られたため、ポリクローナル IgG の F(ab)₂ 部分を介した網羅的反応性によるものであることが示唆された。

これら血中抗体の網羅的反応性が生理機能を有する例として、自己抗体産生抑制機能であることを示唆する知見として、今後のエピトームという概念の確立に向けて基盤的な成果が得られた。

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 15 件)

1. Sato-Hayashizaki A, Ohtsui M, Lin Q, Hou R, Ohtsui N, Nishikawa K, Tsurui H, Sudo K, Ono M, Izui S, Shirai T, Takai T, Nishimura H, Hirose S. 査読有り
Presumptive role of 129 strain-derived Sle16 locus in rheumatoid arthritis in a new mouse model with Fcγ receptor type IIb-deficient C57BL/6 genetic background.
Arthritis Rheum. 2011 Oct;63(10):2930-8. (DOI: 10.1002/art.30485) 査読有り
2. Nakayama M, Takeda K, Kawano M, Takai T, Ishii N, Ogasawara K. Natural killer (NK)-dendritic cell interactions generate MHC class II-dressed NK cells that regulate CD4⁺ T cells.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Nov 8;108(45):18360-5. Epub 2011 Oct 31. (DOI: 10.1073/pnas.1110584108) 査読有り
3. McCormick S, Shaler CR, Small CL, Horvath C, Damjanovic D, Brown EG, Aoki N, Takai T, Xing Z. Control of pathogenic CD4⁺ T cells and lethal immunopathology by signaling immunoadaptor DAP12 during influenza infection.
J Immunol. 2011 Oct 15;187(8):4280-92. Epub 2011 Sep 9. (DOI: 10.4049/jimmunol.1101050) 査読有り
4. Fujita Y, Takashima R, Endo S, Takai T, Yamashita T. The p75 receptor mediates axon growth inhibition through an association with PIR-B.
Cell Death Dis. 2011 Sep 1;2:e198. (DOI: 10.1038/cddis.2011.85) 査読有り
5. Matsushita H, Endo S, Kobayashi E, Kobayashi K, Kitaguchi K, Kuroki K, Soderhall A, Maenaka K, Nakamura A, Takai T. Differential but competitive binding of Nogo and MHCI to PIR-B provides an inhibition of cells.
J. Biol. Chem. 2011 Jul 22;286(29):25739-47. Epub 2011 Jun 2. (DOI:

- 10.1074/jbc.M110.157859) 査読有り
6. Arita K, Endo S, Kaifu T, Kitaguchi K, Nakamura A., Ohmori H, Kofu K, Satake M, Takai T. Transcriptional activation of the *Pirb* gene in B cells by PU.1 and Runx3. *J. Immunol.* Jun 15; 186(12): 7050-7059. Epub 2011 May 9 (DOI: 10.4049/jimmunol.1001302) 査読有り
 7. Daito H, Kikuchi T, Sakakibara T, Gomi K, Damayanti T, Zaini J, Tode N, Kanehira M, Koyama S, Fujimura S, Ebina M, Ishii KJ, Akira S, Takai T, Watanabe A, Nukiwa T. Mycobacterial hypersensitivity pneumonitis requires TLR9 - MyD88 in lung CD11b⁺CD11c⁺ cells. *Eur. Respir. J.* 2011. erj01771-2010. DOI: 10.1183/09031936.00177110 査読有り
 8. Ma G, Pan PY, Eisenstein S, Divino CM, Lowell C, Takai T, Chen SH. Paired immunoglobulin like receptor-B regulates the suppressive function and fate of myeloid derived suppressor cells. *Immunity* 34: 385-395, 2011. (DOI:10.1016/j.immuni.2011.02.004) 査読有り
 9. Fujita Y, Endo S, Takai T, Yamashita T. Myelin suppresses axon regeneration by PIR-B/SHP-mediated inhibition of Trk activity. *EMBO J.* 2011 Apr 6;30(7):1389-401. Epub 2011 Mar 1. 査読有り
 10. Nakano-Yokomizo T, Tahara-Hanaoka S, Nakahashi-Oda C, Nabekura T, Tchao NK, Kadosaki M, Totsuka N, Kurita N, Nakamagoe K, Tamaoka A, Takai T, Yasui T, Kikutani H, Honda S, Shibuya K, Lanier LL, Shibuya A. An immunoreceptor adapter protein, DAP12, suppresses adaptive immune responses mediated by B lymphocytes. *J. Exp. Med.* in press 2011 査読有り
 11. Nakamura, Y., Fujita, Y., Ueno, M., Takai T, Yamashita, T. Paired immunoglobulin-like receptor B knockout does not enhance axonal regeneration or locomotor recovery after spinal cord injury. *J. Biol. Chem.* 2011, Jan 21; 286(3):1876-83. Epub 2010 Nov 18. 査読有り
 12. Takai T, Nakamura A, Endo S. Role of PIR-B in Autoimmune Glomerulonephritis. (Review) *J. Biomed. Biotech.* vol. 2011: 275302, 2010. doi:10.1155.2011.275302 査読無し
 13. Omoto S, Ueno M, Mochio S, Takai T, Yamashita T. Genetic deletion of paired immunoglobulin-like receptor B does not promote axonal plasticity or functional recovery after traumatic brain injury. *J. Neurosci.* 30: 13045-13052, 2010. 査読有り
 14. Yamamoto M, Kobayashi K, Ishikawa Y, Nakata K, Funada Y, Kotani Y, Masuda A, Takai T, Azuma T, Yoshida M, Nishimura Y. The inhibitory effects of intravenous administration of rabbit IgG on airway inflammation are dependent on Fcγ receptor IIb on CD11c⁺ dendritic cells in murine model. *Clin. Exp. Immunol.* 2010 Nov; 162(2):315-24. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04243.x. Epub 2010 Sep 1. 査読有り
 15. Yamanishi Y, Kitaura J, Izawa K, Kaitani A, Komeno Y, Nakamura M, Yamazaki S, Enomoto Y, Oki T, Akiba H, Abe T, Komori T, Morikawa Y, Kiyonari H, Takai T, Okumura K, Kitamura T. TIM1 is an endogenous ligand for LMIR5/CD300b: LMIR5 deficiency ameliorates mouse kidney 1 ischemia/reperfusion injury. *J. Exp. Med.* 2010 Jul 5;207(7):1501-11. Epub 2010 Jun 21. 査読有り
- [学会発表] (計 14 件)
1. 高井俊行: Regulatory effects of IgG on B cell functions. RCAI Workshop. RCAI, Yokohama, 2012/3/23
 2. Toshiyuki Takai: Update understanding of the mechanism of action of IVIG. 10th Kawasaki Disease Symposium. February, Kyoto, 2/8/2012
 3. Toshiyuki Takai: Regulation of TLR9 and autoimmunity by PirB, a multiligand inhibitory receptor. Second CSI/JSI/KAI Joint Symposium on Immunology "Regulation of Immune Responses in Health and Diseases" Osaka, 12/6/2011
 4. Shinozaki N, Inui M, Endo S, Sakamoto Y, Kitaguchi K, Kuroki K, Maenaka K, Takai T. Differential but competitive binding of Nogo and MHC class I to PIR-B regulates LPS-activated mast cells. 2011 The annual meeting of the Japanese society for immunology, Chiba, 2011/11/29
 5. Kitaguchi K, Arita K, Endo S, Kaifu T, Nakamura A, Takai T. Transcriptional activation of the PIR-B gene in B cells by PU.1 and Runx3. 2011 The annual meeting of the Japanese society for immunology, Chiba, 2011/11/28
 6. Hirano K, Tanaka J, Sakamoto Y, Looi CY,

- Nakano A, Itoh Y, Takai T. A suppressive effect of IVIg on B1 cell activation and production of natural antibodies. The annual meeting of the Japanese society for immunology, Chiba, 2011/11/27
7. Toshiyuki Takai:Fc γ receptor targeting -How ITIM receptors regulate Bio-Rheumatology International Congress (BRIC) Tokyo / The 8th GARN Meeting Locomotor Science 1 -Recent Topics of RA- Hilton Tokyo Bay Hotel, 11/15/2011
 8. 乾 匡範, 篠崎夏子, 遠藤章太, 高井俊行 Nogo およびMHC class IによるPIR-Bを介した新たなマスト細胞の制御機構 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2011/11/11
 9. 篠崎夏子, 乾 匡範, 遠藤章太, 坂本 譲, 北口公司, 高井俊行 Nogo およびMHC class I による PIR-B への競合的結合によるマスト細胞の制御について 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2011/11/11
 10. 高井俊行:抗体療法とFcレセプター 第31回日本川崎病学会・学術集会ランチョンセミナー2 はまぎんホール・ヴィアマーレ 横浜市 2011/10/1
 11. Tanaka J, Nakano A, Itoh Y and Takai T. Intravenous Immunoglobulin inhibits autoantibody production by B-1 cells. 10th World Congress on Inflammation. Paris, France. 2011/06/26
 12. 高井俊行:Fc 受容体と免疫疾患について 第 16 回シェーグレン症候群セミナー 特別講演, 東京, 2011/6/4
 13. 田中純, 仲野篤史, 伊藤由美, 高井俊行 静注用免疫グロブリンはB-1細胞からの自己抗体産生を抑制する 第32回日本炎症・再生医学会, 京都,2011/6/3
 14. Toshiyuki Takai:Targeting Fc receptors 第 32 回日本炎症・再生医学会, 京都, 2011/6/2

〔図書〕 (計 2 件)

1. 北口公司, 遠藤章太, 乾匡範, 高井俊行:骨髄球系細胞におけるMDL-1/DAP12の機能. リウマチ科 45(5): 531-535, 2011. 科学評論社
2. 中村 晃 , 高井俊行 : Paired immunoglobulin-like receptor(PIR)-Bの自己免疫疾患における役割. リウマチ科 46(2): 184-189, 2011. 科学評論社

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/expimu/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高井 俊行 (TAKAI TOSHIYUKI)
 東北大学・加齢医学研究所・教授
 研究者番号:20187917

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし