

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659215

研究課題名(和文) ヒト自然抗体 IgG による B1 細胞制御機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of Regulatory Mechanism of B1 Cells by Human IgG Natural Antibodies

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000 円、(間接経費) 900,000 円

研究成果の概要(和文)：自己抗体の産生のひとつのソースとなっているとされるヒト末梢血中の CD20+CD27+CD43+CD70- で定義される B1 細胞様サブセットは、とりわけ CD5 などの抑制系受容体の発現がメモリー B 細胞と近似した。ヒト超ポリクローナル自然抗体である IVIg に対する応答は現在も検討中であるが、この分画は TLR9 刺激により弱い抗体産生能力を示すようになるものの、その性質は極めてメモリー B 細胞に近似することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：We defined human peripheral blood CD20+CD27+CD43+CD70- B cells as "putative (puB1) B1 cells", and characterized them in terms of expression profiles for B cell inhibitory receptors including several isoforms of ILT/LILR and Ig production. We found a grossly similar profiles of the inhibitory receptors on puB1 cells and memory B cells, but distinctive receptor expression and Ig secretion profiles between the puB1 subset and CD43high plasmablasts.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：自己抗体 自然免疫 末梢血 B リンパ球 制御受容体 グロブリン製剤

1. 研究開始当初の背景

高齢者を中心に患者数が百万人にも及ぶ慢性関節リウマチ等の自己免疫疾患は免疫制御能の低下によるものであり、QOLを著しく低下させる。よって免疫制御能の低下を回復させる手段と予防法に関する研究成果が待望される。我々はこれまで、全身性エリテマトーデスの動物モデルとなる免疫制御受容体遺伝子欠損マウスを基盤とした自己免疫性糸球体腎炎モデルにおいてマウス B1 細胞の機能亢進により自然抗体と抗 IgG 抗体を含むいくつかの特異性を有する自己抗体の産生が上昇することを発見した。さらに最近、ヒト自然抗体由来の超ポリクローナル IgG 製剤である IVIg を培養マウス B1 細胞に添加すると、細胞表面上に容易に結合し、細胞内に取り込まれてトル様受容体 TLR9 のシグナルを阻害することを発見した。我々はヒト自然抗体が主原料である IVIg が潜在的に有する B1 細胞制御活性の実体を探索し、その機構を同定し、炎症ならびに自己免疫疾患を抑える新規方法ならびに発症前診断を可能とする方法を開発することを目的として研究を行った。

2. 研究の目的

ヒト自然抗体が主原料である IVIg が有する B 細胞制御活性の実体を探索し、その機構を同定し、炎症ならびに自己免疫疾患を抑える新規方法ならびに発症前診断を可能とする方法を開発することを目的とする。具体的には、まずヒト末梢血中の B 細胞画分に、最近 Griffin らにより同定された CD20⁺CD27⁺CD43⁺CD70⁻ B1 細胞が実際にどの程度、健常人に存在し、メモリー B 細胞などと明確な機能的差異が見出せるか否かを検討する。またヒト γ グロブリン製剤から調製した種々の IgG 分画を B 細胞に添加するなどして応答性を評価することを計画した。

3. 研究の方法

(1) ヒト末梢血中の B 細胞を健常人ボランティアから採血したサンプルにおいて Flow cytometry にて解析し、最近 Griffin らにより同定された CD20⁺CD27⁺CD43⁺CD70⁻ B1 細胞が実際にどの程度、健常人に存在し、メモリー B 細胞などと明確な機能的差異が見出せるか否かを検討する。とりわけ細胞表面上の免疫制御受容体群、たとえば FcγRIIB や LILRB, CD5 などの解析を Flow cytometry により行う。

(2) Flow cytometry により分画、分取したヒト末梢血 B 細胞画分について、試験管内で培養することで自然抗体や自己抗体が産生されるか否かを ELISPOT 法などで比較解析する。

(3) ヒト γ グロブリン製剤から調製した種々の IgG 分画や TLR リガンド、サイトカインを B 細胞に添加するなどして抗体産生能やサイトカイン産生の変化などの応答性を評価する。

4. 研究成果

ヒト末梢血中 B 細胞画分に、CD20⁺CD27⁺CD43⁺CD70⁻で定義される B 細胞サブセットが 5%弱、存在することが明らかとなった (図 1)。さらにメモリー B 細胞との表面抗原の発現パターンを比較したところ、とりわけ CD5 などの抑制系受容体の発現が B1 細胞様のサブセットで高めになっていることが分かった。さらに、細胞表面上の免疫制御受容体群の発現プロファイルはメモリー B 細胞に極めて近似していることが分かった。IVIg に対する応答は現在も検討を継続中であるが、この分画は TLR9 刺激により弱い抗体産生能力を示すようになるものの、刺激の無い条件下では免疫グロブリンの産生は IgM や IgG で調査する限り、極めて低調で、高活性を有するプラズマブラストに比べてその性質は極めてメモリー B 細胞に近いことが解明された。この成果は新しい B 細胞分画として定義された CD20⁺CD27⁺CD43⁺CD70⁻ B 細胞サブセットがメモリー B 細胞とプラズマブラストの中間的な性質を有することをクローズアップしており、自己抗体産生の機構を調査する上で重要な知見となった。

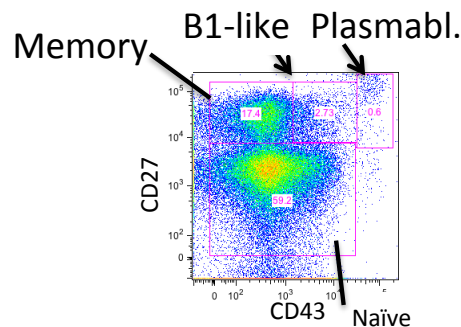


図 1 健常ヒト末梢血の分画と新しい画分である B1-like cells

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 11 件)

- ① Stroo I, Tammaro A, Rampanelli E, Blank F, Butter L, Claessen N, Takai T, Colonna M, Leemans J, Florquin S, Dessing MC. Role of TREM1-Dap12 in renal inflammation during obstructive nephropathy. *PLOS ONE* 10/28/2013 in press. 査読有
- ② Montalvo V, Quigley L, Vistica BP, Boelte KC, Nugent LF, Takai T, McVicar DW, Gery I. Environmental factors determine DAP12 deficiency to either enhance or suppress immunopathogenic processes. *Immunology* 2013 Dec;140(4):475-482. doi: 10.1111/imm.12158. 査読有

- ③ Matsumoto M, Sasaki Y, Yasuda K, Takai T, Muramatsu M, Yoshimoto T, Nakanishi K. IgG and IgE Collaboratively Accelerate Expulsion of *Strongyloides venezuelensis* in a Primary Infection. *Infect. Immun.*, 81: 2518-2527 (2013) doi: 10.1128/IAI.00285-13 査読有
- ④ Kuroki K, Hirose K, Okabe Y, Fukunaga Y, Takahashi A, Shiroishi M, Kajikawa M, Tabata S, Nakamura S, Takai T, Koyanagi S, Ohdo S, Maenaka K. The long-term immunosuppressive effects of disulfide-linked HLA-G dimer in mice with collagen-induced arthritis. *Hum Immunol.* 74: 433-438 (2013) doi: 10.1016/j.humimm.2012.11.060. 査読有
- ⑤ Kawano S, Lin Q, Amano H, Kaneko T, Nishikawa K, Tsurui H, Tada N, Nishimura H, Takai T, Shirai T, Takasaki Y, Hirose S. Phenotype conversion from rheumatoid arthritis to systemic lupus erythematosus by introduction of Yaa mutation into Fc γ RIIB-deficient C57BL/6 mice. *Eur J Immunol.* 2013 Mar;43(3):770-778. doi: 10.1002/eji.201243057. 査読有
- ⑥ Tanaka J, Hirano K, Sakamoto Y, Sugahara-Tobinai A, Endo S, Ito-Matsuoka Y, Nakano A, Inui M, Nitschke L, Takai T. Intravenous immunoglobulin suppresses IL-10 production by activated B cells *in vitro*. *Open J. Immunol.* 2(4): 149-160, 2012 (DOI: 10.4236/oji.2012.24019) 査読有
- ⑦ Kuroki K, Hirose K, Okabe Y, Fukunaga Y, Takahashi A, Shiroishi M, Kajikawa M, Tabata S, Nakamura S, Takai T, Koyanagi S, Ohdo S, Maenaka K. The long-term immunosuppressive effects of disulfide-linked HLA-G dimer in mice with collagen-induced arthritis. *Human Immunol.* Dec. 29, 2012 (doi:pil: S0198-8859(12)00688-X. 10.1016/j.humimm.2012.11.060) 査読有
- ⑧ Nakayama M, Kurokawa K, Nakamura K, Lee BL, Sekimizu K, Kubagawa H, Hiramatsu K, Yagita H, Okumura K, Takai T, Uderhill DM, Aderem A, Ogasawara K. Inhibitory receptor PIR-B is exploited by *Staphylococcus aureus* for virulence. *J. Immunol.* 189: 5903-11, 2012. (doi: 10.4049/jimmunol.1201940) 査読有
- ⑨ Mitsuhashi Y, Nakamura A, Endo S, Takeda K, Yabe-Wada T, Nukiwa T, Takai T. Regulation of plasmacytoid dendritic cell responses by PIR-B. *Blood* 120: 3256-9. 2012. doi:10.1182/blood-2012-03-419093 査読有
- ⑩ Zangi L, Klionsky YZ, Yarimi L, Bacher-Lustig E, Edelshtein Y, Shezen E, Hagin D, Ito Y, Takai T, Reichi-Zeliger S, Lask A, Milstein O, Jung S, Shinder V, Reisner Y. Deletion of cognate CD8 T-cells by immature dendritic cells: a novel role for perforin, Granzyme A, TREM-1 and TLR7. *Blood* 120(8):1647-57, 2012 (doi: 10.1182/blood-2012-02-410803) 査読有
- ⑪ Wong WF, Kohu K, Nakamura A, Ebina M, Kikuchi T, Tazawa R, Tanaka K, Kon S, Funaki T, Sugahara-Tobinai A, Looi CY, Endo S, Funayama R, Kurokawa M, Habu S, Ishii N, Fkumoto M, Nakata K, Takai T, Satake M. Runx1 deficiency in CD4⁺ T cells causes fatal autoimmune inflammatory lung disease due to spontaneous hyperactivation of cells. *J. Immunol.* 2012; 188: 5408-5420; Epub 2 May 2012; doi: 10.4049/jimmunol.1102991 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① Toshiyuki Takai, Yasuyoshi Kanari, Akiko Sugahara-Tobinai: Negative regulation of autoantibody production by a B cell inhibitory receptor Fc γ RIIB. NIH-Tohoku University-JSPS Symposium, May 9-11, 2013, Gonryo Hall, Sendai
- ② Kimura T, Inui M, Takai T, Nogo positively regulates TLR signal pathway and inflammatory gene expression in macrophages. *Frontiers in Immunology and Inflammation: From Molecules to Disease*, Tokyo, 2013/2/12-2013/2/13
- ③ Kimura T, Inui M, Takai T, Regulation of TLR signaling by a reticulon family protein Nogo in macrophages. The Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, Kobe, 2012/12/5
- ④ Toshiyuki Takai, Negative Regulation of Autoantibody Production by a B Cell Inhibitory Receptor, Fc γ RIIB, Centennial of Hashimoto Disease Symposium, International Symposium II: Autoimmune Diseases-Etiology and Therapeutics, ACROS Fukuoka, 2012/12/3

[図書] (計 2 件)

- ① 乾 匡範, 高井俊行: 自己免疫病と PirB, *医学のあゆみ* 2013, 245 : 225-228
- ② 乾 匡範, 高井俊行: 免疫グロブリン様受容体による破骨細胞の分化制御, *Clin Calcium.* 2012 Nov;22(11):1651-7. doi: CliCa121116511657.

[その他]

ホームページ等

[http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/expim
mu/](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