

慢性関節リウマチ発症におけるB細胞スーパー抗原の意義

課題番号：09670493

平成9年度～平成10年度科学研究費補助金（基盤C）研究成果報告書

平成11年3月31日

研究代表者：箱田雅之
(東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター講師)



研究組織

研究代表者：箱田雅之（東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター講師）
研究分担者：なし

研究経費

平成9年度：1,100（千円）
平成10年度：700（千円）
合計：1,800（千円）

研究発表

学会誌等

箱田雅之、B細胞スーパー抗原、リウマチ、40巻、619～623ページ、1997年

Hakoda, M, et al., Generation and molecular characterization of monoclonal IgG4 rheumatoid factor from a patient with rheumatoid arthritis., Ann. Rheum. Dis. Vol. 56, 74-77, 1997.

Hakoda, M, et al, Somatic mutations in immunoglobulin variable region genes encoding reactivity to staphylococcal protein A in B cell from rheumatoid synovial tissues., Arthritis Rheum. Vol 40, S245, 1997. (Abstract)

Hakoda, M, et al, Pathogenic implication of B cell superantigen in rheumatoid arthritis., Arthritis Rheum. Vol 41, S163, 1998. (Abstract)

口頭発表

箱田雅之、他、B細胞スーパー抗原反応性をコードするイムノグロブリンVH3レパトアのRA滑膜における片寄り、第41回日本リウマチ学会総会、1997年5月8日～10日

箱田雅之、他、B細胞スーパー抗原である黄色ブドウ球菌プロテインA反応性IgM産生細胞：慢性関節リウマチにおける検討、第25回日本臨床免疫学会総会、1997年9月17日～19日

箱田雅之、他、B細胞スーパー抗原反応性をコードするVH遺伝子体細胞突然変異—慢性関節リウマチ患者関節滑膜における解析、第27回日本免疫学会総会、

1997年10月29日～31日

Masayuki Hakoda, et al., Somatic mutations in immunoglobulin variable region genes encoding reactivity to staphylococcal protein A in B cells from rheumatoid synovial tissues. American College of Rheumatology, 61th National Scientific Meeting, Nov. 8-12, 1997, Washington, DC.

箱田雅之、他、ジャームラインVH3遺伝子にコードされた黄色ブドウ球菌プロテインAに対する異なった結合親和性、日本人類遺伝学会第43回大会、1998年10月14日～16日

Masayuki Hakoda, et al., Pathogenic implication of B cell superantigen in rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology, 62nd National Scientific Meeting, Nov. 8-12, 1998, San Diego.

研究成果

慢性関節リウマチは原因不明の全身性炎症性疾患であり、免疫応答が発症および病態の進行に関連することが想定されている。種々の微生物感染と慢性関節リウマチとの関連が報告されてきたが、病因との関係についてはいまだ不明である。黄色ブドウ球菌プロテインAは、IgG結合蛋白であるが、これまでよく知られていたIgG定常部以外に、可変部を介して特定の抗体分子と結合することが明らかになった。我々を含めたいくつかのグループは、プロテインAがVH3ファミリーに属するH鎖V遺伝子を使用したIgMに結合し、他のVHファミリーを使用したIgMには結合しないことを明らかにしてきた。このような結合様式は、T細胞においてスーパー抗原が特定のT細胞抗原レセプターVβファミリーに結合する現象と非常に類似している。実際に、プロテインAをB細胞に加えると、VH3遺伝子の特異的な発現が認められる。

本研究では、慢性関節リウマチの病因におけるB細胞スーパー抗原の意義を検討するため、慢性関節リウマチ患者において、末梢血および炎症局所である関節滑膜とで、IgM産生B細胞のプロテインA反応性に違いがあるかどうかを明らかにすることを目的とした。さらに、プロテインA結合IgM産生B細胞において、発現しているイムノグロブリンVH遺伝子の特徴や体細胞突然変異の生じ方について、末梢血と関節滑膜との違いを明らかにすることを目的とした。慢性関節リウマチ患者において、B細胞の特異性の検討はリウマトイド因子以外はほとんど行なわれていない。今回検討を行なう抗原は、イムノグロブリンに対してスーパー抗原様の反応性を示す細菌成分であり、他に例を見ない。

平成9年度は、慢性関節リウマチ（RA）患者および健常者末梢血についてIgM産生B細胞のプロテインA反応性を検討した。RA患者末梢血より226個のIgM産生B細胞クローンを、EBウイルスによる不死化操作によって得た。さらに、健常人末梢血より、909個のIgM産生B細胞クローンを同様の操作によって得た。これらのB細胞クローン培養上清中のIgMについて、プロテインA結合活性を酵素抗体法を用いて検討した。その結果、RA末梢血由来の118個（52.2%）がプロテインA結合IgMを産生し、一方、健常人末梢血では、プロテインA結合IgM産生B細胞クローンは386個（42.5%）であり、RA末梢血の方がその割合は有意に高かった。我々は、既に、プロテインA結合IgMが、固相化プロテインAに対する反応性によって高親和性と低親和性の二つのグループに分けられ、親和性の違いは、IgM可変部に用いられるジャームラインVH3遺伝子の違いによることを明らかにしている。今回得られた培養上清につき、IgM濃度を測定後、プロテインA結合親和性について検討した。その結果、高親和性IgMの割合は、RA患者末梢血（47.2%）において健常人末梢血（39.0%）より有意に高く、RA患者末梢血におけるプロテインA結合IgM産生B細胞の増加は、高親和性IgM産生細胞の増加によると考えられた。高親和性IgMを細胞表面に有するB細胞の方が、プロテインAによってより強く刺激されると考えられ、このような結果は、RA患者においてプロテインAによるB細胞活性化が存在した可能性を示唆する。

平成10年度は、平成9年度で得られた、RA患者におけるプロテインA結合IgM産生B細胞

胞の増加、特にプロテインAに対して高親和性を有するIgM産生B細胞の増加のメカニズムを検討する目的で、使用されているイムノグロブリン遺伝子の解析を行った。我々は既に、プロテインA結合IgMの親和性の違いは、可変部に用いられるジャームラインVH3遺伝子の違いによることを明らかにしている (Hakoda, M., et al. J. Immunol. 1996, 157: 2976)。すなわち、ジャームラインVH3遺伝子は、プロテインAに対して高親和性をコードするものと低親和性をコードするものと大きく分けられる。RA患者における高親和性IgM産生B細胞の増加は、高親和性をコードするジャームラインVH3遺伝子を使用したB細胞の増加によるものの可能性と、抗体遺伝子に生じた体細胞突然変異によるものの可能性が考えられる。いずれのメカニズムによるかを検討する目的で、RA患者末梢血より得られたSPA結合IgM産生B細胞クローンから無作為に選んだ35個について、イムノグロブリンH鎖可変部遺伝子の塩基配列を決定した。高親和性IgM産生クローン16個においては、発現したVH遺伝子はすべて高親和性をコードするジャームラインVH3遺伝子に高い相同性を有していた。一方、低親和性IgM産生クローン19個においては、1個を除いて低親和性をコードするジャームラインVH3遺伝子に高い相同性を有していた。以上の結果より、RA患者末梢血における高親和性SPA結合IgM産生B細胞の増加は、特定のジャームラインVH3遺伝子を発現したB細胞の増加によるものと考えられた。

以上の結果より、特定のイムノグロブリンVH遺伝子産物に結合するユニークな細菌蛋白と、RA発症あるいは病態との関連が推定された。イムノグロブリンVH遺伝子は、感染防御を目的として進化してきたと考えられるが、細菌蛋白に対する反応性をコードする特定のVH遺伝子を発現したB細胞がRA患者において増加しているという今回の結果は、細菌感染、イムノグロブリン遺伝子進化、および自己免疫疾患発症との間に何らかの相互関係があることを想像させ、自己免疫疾患の病因を解析するための新しい方向性を提供するものと考えられる。