

にし、場合によってはこの経路を正に制御することで疾患をコントロールするアプローチも考慮したい。

【結論】 われわれが樹立した抗ラットMAdCAM-1抗体は生体内に投与しても安定で、MAdCAM-1のリガンド分子との接着を確実に阻害できることが明らかとなった。いっぽう疾患モデルへの投与ではデキストラン腸炎に対しては明らかな影響は観察されなかったが、アジュバント関節炎やその経口寛容誘導に対してはむしろ発病を早め、悪化させる傾向が認められた。今後この結果の再現性についてはさらに検討する必要があるが、MAdCAM-1を介した経路は自己免疫疾患や炎症に対し抑制的に機能している可能性があり、MAdCAM-1分子の発現制御上の特徴にも矛盾しないことから、治療への応用にはこれまでと異なる方向で検討を要することも考えられる。

【参考文献】

- 1) Iizuka, T., Koike, R., Miyasaka, N., Miyasaka, M., Watanabe, T. : Cloning and characterization of the rat MAdCAM-1 cDNA and gene. *Biochim. Biophys. Acta* 1395: 266-270, 1998.
- 2) Hanninen, A., Taylor, C., Streeter, P. R., Stark, L. S., Sarte, J. M., Shizuru, J. A., Simell, O., Michie, S. A. : Vascular addressins are induced on islet vessels during insulinitis in nonobese diabetic mice and are involved in lymphoid cell binding to islet endothelium. *J. Clin. Invest.* 92: 2509-2515, 1993.
- 3) Weiner, H. L. : Oral tolerance: Immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunol. Today* 18: 335-343, 1997.

膠原病患者における T 細胞共刺激分子に対する自己抗体

加藤 智啓 (聖マリアンナ医科大学, 難病治療研究センター)
松井 利浩 (東京大学, アレルギーリウマチ内科)
喻 筱紅 (聖マリアンナ医科大学, 難病治療研究センター)
當間 重人 (東京大学, アレルギーリウマチ内科)
井上 哲文 (東京大学, アレルギーリウマチ内科)
山本 一彦 (東京大学, アレルギーリウマチ内科)
西岡久寿樹 (聖マリアンナ医科大学, 難病治療研究センター)

KEYWORD = T 細胞共刺激分子, 自己抗体, 膠原病, 全身性エリテマトーデス, ベーチェット病

[目的] 昨年、各種膠原病患者において、CTLA-4(CD152)に対する自己抗体が存在することを報告した。今回は、他の T 細胞共刺激分子(CD28、B7-1、B7-2)に対する自己抗体の検索を行った。また、抗 CTLA-4 自己抗体の機能的解析を試みた。[方法] 各分子を β -galactosidase との融合蛋白として大腸菌にて発現させ、精製した蛋白を用いて健常人(82 人)及び患者(162 人)血清で ELISA を行い、抗体を検索した。また、リンパ球混合反応の系に患者より精製した抗 CTLA-4 抗体を添加し、リンパ球増殖に与える影響をみた。[結果] 抗 CTLA-4 抗体が患者の 13.0%で陽性であったのに対し、抗 B7-2 抗体は 1.9%、抗 CD28 抗体、抗 B7-1 抗体は検出されなかった。抗 CTLA-4 自己抗体はリンパ球増殖を増強する傾向を示した。[結論] 膠原病患者において、T 細胞の共刺激分子である CTLA-4、CD28、B7-1、B7-2 のうち、CTLA-4 に対する自己抗体が高頻度に産生されることが示された。抗 CTLA-4 自己抗体は、リンパ球機能に影響を与え、病態を修飾する可能性があると考えられた。

Autoantibodies to T cell Costimulatory Molecules in Systemic Autoimmune Diseases

Tomohiro Kato (Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine), Toshihiro Matsui (Division of Allergology and Rheumatology, Department of Medicine, University of Tokyo), Xiaohong Yu (Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine), Shigeto Tohma (Division of Allergology and Rheumatology, Department of Medicine, University of Tokyo), Tetsufumi Inoue (Division of Allergology and Rheumatology, Department of Medicine, University of Tokyo), Kazuhiko

Yamamoto (Division of Allergology and Rheumatology, Department of Medicine, University of Tokyo), Kusuki Nishioka (Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine)

[Purpose] We had shown the existence of autoantibodies to CTLA-4 which is one of the main costimulatory molecules expressed on T cells. In this study, we investigated autoantibodies to another T cell costimulatory molecules (CD28, B7-1, and B7-2). In addition, we analyzed the function of anti-CTLA-4 autoantibodies in vivo. [Methods] Using recombinant proteins, autoantibodies to T cell costimulatory molecules were investigated by ELISA. Further, we analyzed the effect of anti-CTLA-4 autoantibodies, which were purified from patients, on T cell proliferation in the mixed lymphocyte reaction (MLR) system. [Results] Though autoantibodies to CTLA-4 were found in 13.0% of patients, those to another molecules were rare (anti-B7-2 antibodies : 1.9%, anti-B7-1 and anti-CD28 antibodies : none). Addition of autoantibodies to CTLA-4 in MLR system increased T cell proliferation. [Conclusion] Among four T cell cotimulatory molecules, antibodies to CTLA-4 were frequently produced in systemic autoimmune diseases. Our results indicate that anti-CTLA-4 autoantibodies in the patient may affect T cell activation or proliferation, and then modulate the disease activity.

【目的】

リンパ球表面分子に対する自己抗体（抗リンパ球抗体）は、SLEをはじめとする各種膠原病、感染症、輸血、妊娠などで出現することが報告されている。SLEにおいては、疾患活動性、リンパ球減少、種々のリンパ球機能異常と相関するという報告があり、病因論的な役割を担っている可能性が示唆されているが、これまで、その標的分子、作用機序などはほとんど解明されていない。リンパ球表面に発現する分子は種々あるが、リンパ球の活性化に必要な共刺激シグナルを伝達する共刺激分子もそのひとつである。T細胞上に発現する CTLA-4、CD28 と抗原提示細胞上に発現する B7-1、B7-2 の分子群は、特に重要な共刺激シグナル系として知られているが、最近、これら共刺激シグナル系の異常が自己免疫疾患の病態に関与している可能性が示唆されている。我々は、T細胞の活性化に重要な共刺激分子（CTLA-4、CD28、B7-1、B7-2）が抗リンパ球抗体の標的となり、それがリンパ球機能を修飾し、ひいては自己免疫疾患の病態形成に重要な役割を担っている可能性を考えた。それを証明する第一歩として、膠原病患者において、これらの分子に対する自己抗体が存在するかどうかの検索を行った。昨年、各種膠原病患者において、CTLA-4 に対する自己抗体が存在することを報告した。今回は、さらに症例数を増やし、他の T細胞共刺激分

子(CD28、B7-1、B7-2)に対する自己抗体の検索も併せて行った。また、抗 CTLA-4 自己抗体の機能的解析を試みた。

【対象と方法】

対象. 全身性自己免疫疾患患者 162 人 [SLE 49 人、慢性関節リウマチ (以下 RA) 48 人、全身性強皮症 (以下 SSc) 32 人、Behcet 病 22 人、Sjogren 症候群 (以下 Sjs) 15 人、RA + Sjs 合併症例 4 例は RA、Sjs いずれにも含めて検討] とそれに性、年齢の適合した健常人 82 人の血清を用意した。

方法. 抗体検索のための抗原蛋白 (CTLA-4、CD28、B7-1、B7-2) をコードする DNA を PCR 法を用いて増幅し、蛋白発現ベクター (pTEX7) に挿入し、大腸菌にて β ガラクトシダーゼとの融合蛋白を発現させ、精製した。組み換え融合蛋白が目的とした蛋白であることを immunoblotting で確認した後、これらを抗原として、希釈した血清を用いて enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を行い、IgG タイプの抗体を検索した。それぞれの解析において、性と年齢の適合した健常人の平均値+3SD をカットオフ値と設定し、それ以上を陽性と判定した。また、抗 CTLA-4 抗体陽性者より精製した抗 CTLA-4 自己抗体をリンパ球混合反応系に添加し、リンパ球増殖に与える影響を検討した。

【結果と考察】

大腸菌にて発現させた CTLA-4、CD28、B7-1、B7-2 の融合蛋白に対し、各々の蛋白に特異的な抗体を用いて immunoblotting を行い、いずれも目的の蛋白であることを確認したのち、この 4 種の融合蛋白を抗原として ELISA を行い、血清の反応性を検討した。健常人ではいずれの分子に対しても抗体陽性者は認められなかったが、患者 162 症例中、抗 CTLA-4 抗体は 21 例 (13.0%) で陽性であり、抗 B7-2 抗体は 3 例 (1.9%) のみで陽性、抗 CD28 抗体、抗 B7-1 抗体陽性者は認められなかった。抗 CTLA-4 抗体の陽性率を疾患別に検討したところ、SLE で 49 例中 4 例 (8.2%)、RA で 48 例中 9 例 (18.8%)、SSc で 32 例中 1 例 (3.1%)、Behcet 病で 22 例中 7 例 (31.8%)、Sjs で 15 例中 2 例 (13.3%) が陽性となり、検討した疾患の中では Behcet 病に高率に検出された。また、患者血清より精製した抗 CTLA-4 自己抗体をリンパ球混合反応系に添加し、リンパ球増殖への影響をサイミジンの取り込みで検討したところ、増殖を増強する傾向を認めた。以上の結果より、抗 CTLA-4 自己抗体は、リンパ球上の CTLA-4 に結合し、CTLA-4 からのシグナル、すなわち、T 細胞の活性化に対して抑制的なシグナルを阻害し、リンパ球機能に影響を与え、病態を修飾する可能性が示唆された。最近、CTLA-4 分子を介したシグナル異常と自己免疫疾患の関連が示唆されている。すなわち、CTLA-4 ノックアウトマウスでは諸臓器へのリ

ンパ球浸潤など自己免疫疾患様の所見が認められる。また、抗 CTLA-4 抗体の投与で、モデルマウスにおける自己免疫性脳脊髄炎の悪化がみられる。さらに、ヒトにおいても Graves 病や自己免疫性糖尿病で CTLA-4 遺伝子の偏った多型性が報告されている。本研究は、CTLA-4 からのシグナル異常に自己抗体が関与している可能性を示唆しており、今後、この自己抗体の機能的な側面の解析をさらに進めていく必要があると考えられる。

【結論】

膠原病患者において、T 細胞の共刺激分子である CTLA-4 に対する自己抗体が存在することが初めて示された。抗 CTLA-4 自己抗体はリンパ球機能に影響を与え、病態を修飾する可能性があると考えられた。

【研究業績】

1. Matsui, T, M. Kurokawa, T. Kobata, S. Oki, M. Azuma, S. Tohma, T. Inoue, K. Yamamoto, K. Nishioka, T. Kato : Autoantibodies to T cell costimulatory molecules in systemic autoimmune diseases. *J. Immunol.* 1999. (in press).

ヒト全身性エリテマトーデス(SLE)の自己抗体産生における recombination activating gene (RAGs)の役割

坂根 剛 (聖マリアンナ医科大学、難病治療研究センター)
鈴木 登 (聖マリアンナ医科大学、難病治療研究センター)
永渕裕子 (聖マリアンナ医科大学、難病治療研究センター)

【研究要旨】 SLE患者の自己抗体産生にはレセプターエディティングの異常が関わりと考
えられている。レセプターエディティングにはRAGの発現が必須である。今回SLE患者末
梢血Bリンパ球におけるRAGの発現を検討した。正常者末梢血Bリンパ球は非刺激状態
ではRAGを発現せず、各種刺激によりRAGの発現が誘導された。このRAG複合体は
recombination signal sequenceへの結合性を有した。一方、SLE末梢血Bリンパ球では
非刺激状態でRAG1およびRAG2の発現亢進を蛋白レベルおよびmRNAレベルで認めた。
しかし、抗DNA抗体産生細胞ではRAGの発現は認められなかった。これらの結果より、
SLE患者では自己抗体産生成熟Bリンパ球レベルでもRAG発現が低下し、成熟Bリンパ球
レベルでもレセプターエディティングの異常が存在すると考えられた。

【研究目的】 B細胞分化の過程でB細胞は、免疫グロブリン遺伝子の再編成 (rearrange
ment)を行う。この過程で一部のB細胞においては、自己抗原に反応する免疫グロブリン
も産生される。このような細胞は自己反応性B細胞と呼ばれ、正常個体においては自己反
応性B細胞は自己抗原に反応しないように種々の機構により免疫寛容、トレランスの状態
が維持されている。最近では自己抗体遺伝子トランスジェニックマウスを詳細に解析する
ことで、自己抗原と反応するB細胞にclonal deletionやanergyが起こるのみでなく、自
己反応性B細胞の除去に働くレセプターエディティングと呼ばれる新しい機構が存在する
ことが明らかになった。レセプターエディティングは骨髄内の未熟B細胞において一度細
胞表面に発現した免疫グロブリン (B細胞レセプター) が自己抗原と反応した場合に、
RAGの活性化が誘導され、その免疫グロブリン遺伝子に再度遺伝子の再編成 (secondary
rearrangement)が起こり、自己抗原と反応しない免疫グロブリン (B細胞レセプター)
が新たに発現され自己反応性を失うという機構である。つまりレセプターエディティング
は自己抗体産生の抑制に働き、RAG発現はこのレセプターエディティングに必須である。
これまで我々はSLE患者における抗DNA抗体産生にレセプターエディティングの異常が
関与していることを報告してきた。今回我々は正常者及びSLE患者末梢血Bリンパ球の
RAG発現を解析し、自己抗体産生における成熟B細胞レベルでのRAGの役割を検討した。

【研究方法】 正常者及びSLE患者末梢血B細胞を羊赤血球とのロゼット形成法により非T
細胞を分離し、シャーレ付着細胞を除去後、抗CD3,CD11b抗体を用いてMACSによりB
細胞を精製し、以下の実験に用いた。B細胞の刺激にはStaphylococcus aureus Cowan I
株(SAC) + Interleukin (IL)-2または抗CD40+IL-10を用いた。RAGの発現はウエスタン
ブロット法及びRT-PCR法にて、一部は免疫染色法にて検討した。抗DNA抗体産生細胞
はSLE患者B細胞にビオチン化DNAを反応させた後、ストレプトアビジン-マグネティ
ックビーズを結合させ、MACSにより分離した。RAGのrecombination signal sequence

への結合活性はゲルシフト法により解析した。

【結果と考察】 正常者B細胞は非刺激状態ではRAG1及びRAG2の発現は認められなかったが、SAC+IL-2または抗CD40+IL-10で刺激するとRAGの発現をウエスタンブロット法で認めた。SAC+IL-2刺激では刺激48から96時間後にかけて、抗CD40+IL-10では刺激後24時間後より持続的に120時間後までRAGの発現を誘導できた。正常者B細胞で認められたRAGの発現はRT-PCR法でmRNAレベルでも確認された。RAGの核内への移行をウエスタンブロット法で検討した結果、各種刺激で誘導されたRAGは核内へ移行していることが確認できた(図1)。次に正常者刺激B細胞に発現したRAG複合体は recombination signal sequence(RSS)への結合活性を有することをゲルシフト法で確認した。これらの結果より正常者においては成熟B細胞レベルでRAGの発現を誘導することができ、RSSへの結合活性を有することから正常者は末梢血レベルでも免疫グロブリン遺伝子に再度遺伝子の再編成(secondary rearrangement)を起こし、RAGが自己反応性B細胞の除去に関与していることが明らかになった。つぎにSLE患者末梢血B細胞のRAGの発現を検討した。ほとんど全てのSLE患者末梢血B細胞では非刺激状態で既にRAG1とRAG2を発現していた(図2)。SLE患者B細胞をSAC+IL-2で刺激してもRAGの発現は増強しなかった。次にSLE患者末梢血B細胞を抗DNA抗体産生細胞と非産生細胞に分離し、免疫染色法にてRAGの発現を検討した。抗DNA抗体非産生細胞はRAGを発現していたが、抗DNA抗体産生細胞ではRAGの発現は低下していた。抗DNA抗体産生細胞をSAC+IL-2で刺激してもRAGの発現は増強しなかった。同様の結果がRT-PCR法でmRNAレベルでも認められた(図3)。この結果からSLE患者自己抗体産生B細胞はRAGの発現を誘導できず、自己反応性B細胞を除去できないことがSLEの病態形成に関与していると考えた。

【結論】 SLE患者では自己抗体産生成熟Bリンパ球レベルでもRAG発現が低下し、成熟Bリンパ球レベルでもレセプターエディティングの異常が存在すると考えられた。

【参考文献】

1. Suzuki, N, T. Harada, S. Mihara, T. Sakane: Characterization of a germline V κ gene encoding cationic anti-DNA antibody and role of receptor editing for development of the autoantibody in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.* 1996;98:1843-1850.
2. Hikida, M, M. More, T. Takai: Reexpression of RAG-1 and RAG-2 genes in activated mature mouse cells. *Science* 1996; 274: 2092-2094.
3. Retter, M, W. D. Nermazee: Receptor editing occurs frequently during normal B cell development. *J. Exp. Med.* 1998; 188: 1231-1238.
4. Xu, H, E. Suri-Payer, R. R. Hardt, M. Weighrt: Regulation of anti-DNA B cells in recombination-activating gene-deficient mice. *J. Exp. Med.* 1998; 188: 1247-1254.

図1 正常者B細胞におけるRAG2の発現

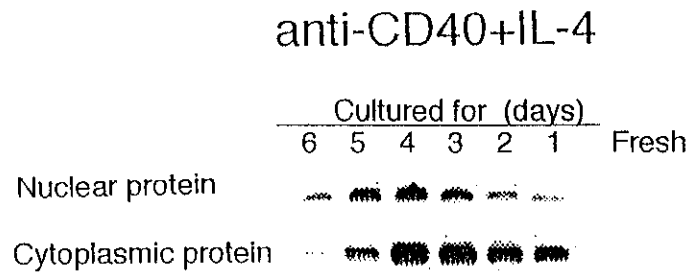


図2 SLE患者非刺激Bリンパ球でのRAG発現

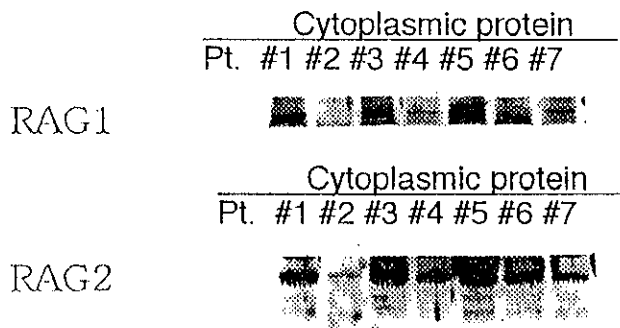
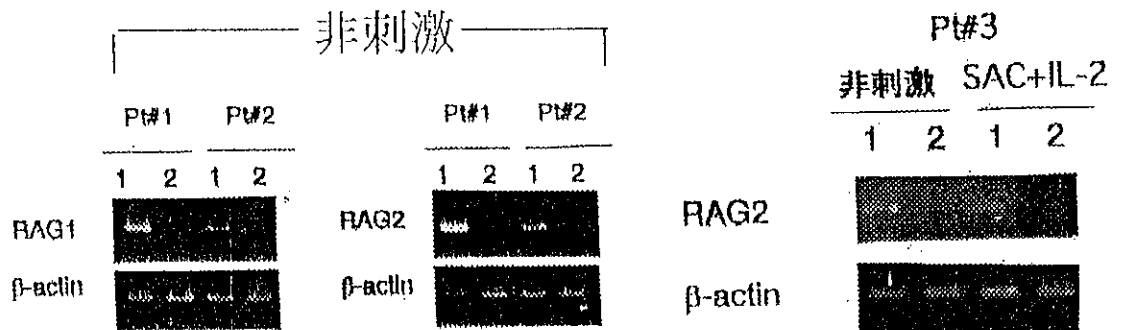


図3 SLE患者抗DNA抗体産生B細胞でのRAG発現



1 : 抗DNA抗体非産生細胞
2 : 抗DNA抗体産生細胞

全身性エリテマトーデス(SLE)でのX染色体不活化モザイク現象における自己反応性T細胞の選択

坂根 剛 (聖マリアンナ医大、難病治療研究センター)
岳野光洋 (聖マリアンナ医大、難病治療研究センター)
柏倉淳一 (聖マリアンナ医大、難病治療研究センター)
鈴木 登 (聖マリアンナ医大、難病治療研究センター)
永測裕子 (聖マリアンナ医大、難病治療研究センター)

【研究要旨】我々は先にSLE患者の自己反応性T細胞は広範なB細胞上に存在する自己抗原を認識して、自己抗体の産生を伴うポリクローナルなB細胞の活性化に寄与していることを示した。本年度はSLE患者でX染色体不活化モザイク現象により、B細胞上に提示されたX染色体遺伝子産物が自己反応性T細胞の認識抗原となる可能性を検討した。その結果、(1)SLE患者においては、同じ抗原提示細胞であっても末梢血単球とB細胞ではX染色体不活化パターンに差異があること、(2)SLE患者由来自己反応性T細胞株の中には、一方のX染色体にのみ規定された遺伝子産物を自己抗原として認識しているT細胞が存在する可能性を明らかにした。

【研究目的】SLE患者の大部分が女性であるという臨床的事実より、X染色体の不活化モザイク現象が胸腺レベルでの自己反応性T細胞の選択に関与する可能性を解析した。

【研究方法】(1)アンドロゲンレセプターの遺伝的多形性に基づき、末梢血T細胞、B細胞、単球のX染色体の不活化の偏りを定量的PCR法で解析した。(2)SLE患者より自己反応性T細胞株およびEBV形質転換B細胞株を樹立した。B細胞株の不活化X染色体を同定した上で、異なるX染色体の不活化パターンを示すB細胞株による自己反応性T細胞株の増殖支持能を³H-TdRの取り込みで測定した。また、不活化パターンの異なる二つのモノクローナルB細胞株上のHLA-class II分子および副シグナル分子の発現をフローサイトメトリー法で、IgVH鎖の使用をRT-PCR法により比較、検討した。

【結果と考察】健常者およびSLE患者末梢血では、T細胞、B細胞および単球でのX染色体の不活化パターンはいずれも二項分布を示した(表1-A)。同一個体における各サブセット間での不活化のパターンは、健常者では差異がなく、SLE患者でもT細胞とB細胞間にはX染色体の不活化の差異を認めなかったが、リンパ球と単球のX染色体不活化のパターンに差異を認めた(表1-B)。末梢血単球は胸腺樹状細胞におけるX染色体不活化パターンと一致すると考えられることから、SLE患者においては胸腺樹状細胞と末梢血B細胞のX染色体不活化パターンに差異があり、胸腺内では暴露されることないX染色体遺伝子産物が末梢B細胞によりT細胞に提示されている可能性がある。また、SLE患者(KI)の自己反応性T細胞株のうち、2つのDR拘束性および1つのDP拘束性T細胞株は、一方のX染色体が不活化されたB細胞株のみに強い増殖反応を示し、他方のX染色体が不活化されたB細胞株には反応しなかった(図1)。X染色体の不活化パターンが異なる二つのB細胞株の間では、細胞表面上のMHC class IIおよび副シグナル分子の発現の程度に差異を認めなかった(表2)。したがって、これら2つのB細胞株の自己反応性T細胞株に対する増殖支持能の相異はX染色体

の不活化パターン、すなわち発現するX染色体遺伝子産物の相違に基づくものである可能性がある。このことは、自己反応性T細胞が、いずれか一方のみのX染色体に規定される遺伝子産物を自己抗原として認識していることを示唆している。

【結論】SLE患者では、抗原提示細胞サブセットにおけるX染色体不活化パターンに差異があり、一方のX染色体遺伝子産物を認識する自己反応性T細胞が末梢に存在することが示唆された。

【参考文献】

1. Takeno, M., H. Nagafuchi, S. Kaneko, S. Wakisaka, K. Oneda, Y. Takeba, N. Yamashita, N. Suzuki, H. Kaneoka, T. Sakane : Autoreactive T cell clones from patients with systemic lupus erythematosus support polyclonal autoantibody production. J. Immunol. 1997;158(7):3529-3538
2. Stewart, J.J. : The female X-inactivation mosaic in systemic lupus erythematosus. Immunol. Today 1998;19(8):352-357
3. Takeno, M, J. Kashiwakura, T. Sakane : The female X-inactivation mosaic in SLE. Immunol. Today 1999;20(3):152-153

表1.SLE患者末梢血単球とリンパ球におけるX染色体の不活化の頻度

X染色体の不活化	健常者 (平均±標準偏差%)	SLE患者 (平均±標準偏差%)
(A)優位対立遺伝子の頻度*		
T細胞	62.2 ± 10.2	62.3 ± 11.5
B細胞	62.1 ± 12.2	59.2 ± 10.7
単球	61.7 ± 12.8	64.9 ± 13.8
(B)不活化頻度の差異		
T細胞・B細胞	2.9 ± 2.7	4.9 ± 4.7
T細胞・単球	4.5 ± 2.7	10.0 ± 8.2
B細胞・T細胞	1.9 ± 1.9	9.2 ± 6.1

*アンドロゲンレセプターの多形性解析により、比率の高い方の不活化X染色体の頻度を示す。

表2.X染色体不活化パターンの異なる二種類の自己B細胞株の比較

	X染色体不活化パターン	IgH	HLA-class II			CD80	CD86	ATCに対する増殖支持能#
			DP	DQ	DR			
BCL2*	Lower	IgG V _H 4	90.1	73.2	121.6	106.9	154.6	++
BCL7	Upper	IgG V _H 1	98.3	72.3	122.6	109.4	143.0	-

* BCLは同一患者(KI)由来EBV形質転換B細胞株を示す

ATC=autoreactive T cell clone

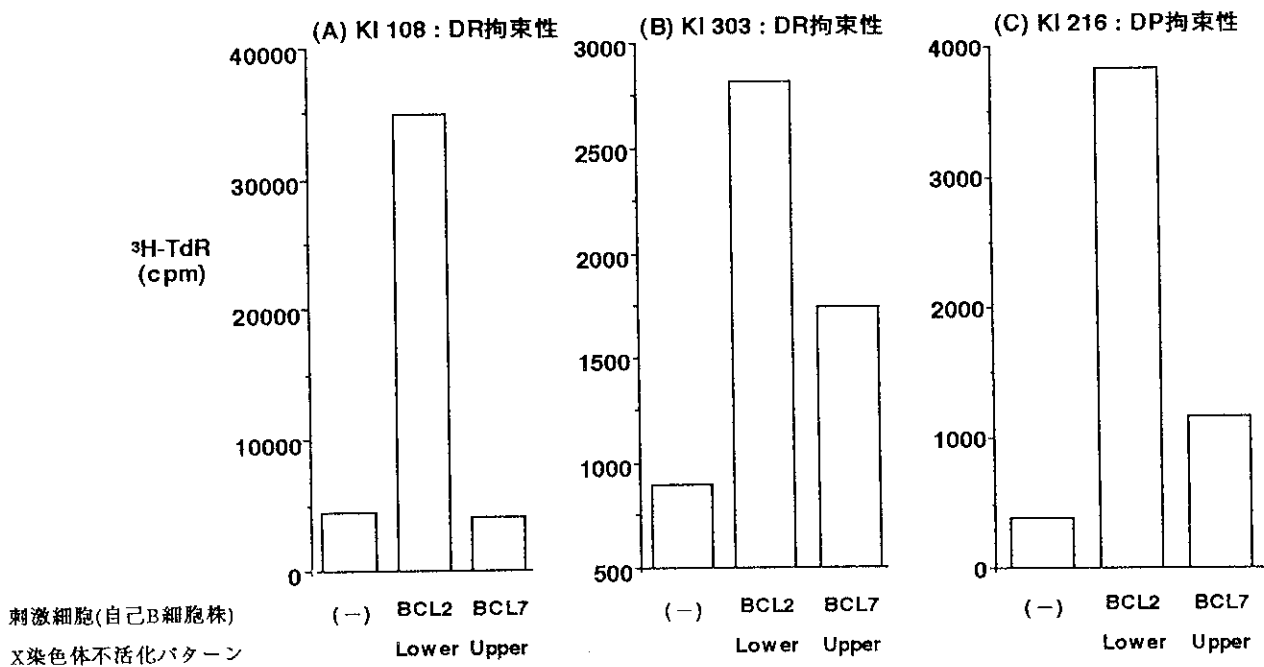


図1.SLE患者(KI)における自己反応性T細胞株のX染色体不活化パターンの異なる自己B細胞株に対する増殖反応

SLE 末梢血 T 細胞における TCR ζ 鎖発現異常の機序に関する研究

竹内 勤 (埼玉医大総合医療センター、第二内科)
津坂 憲政 (埼玉医大総合医療センター、第二内科)
安倍 達 (埼玉医大総合医療センター、第二内科)

【研究概要】 全身性エリテマトーデス (SLE) T 細胞に見いだされる T 細胞レセプター (TCR) ζ 鎖の発現異常が TCR-CD3 複合体の細胞表面でのアッセンブリーにも影響を及ぼし、T 細胞機能不全に関わっていることが明らかとなった。この ζ 鎖発現異常は、疾患活動性、ステロイド量とは関係せず、1 年の経過を追った解析でも異常が継続して観察された。

【研究目的】 T 細胞シグナル伝達に関与する ζ 鎖は、T 細胞レセプター (TCR)-CD3 複合体を構成する各分子の発現やそれらのアッセンブリーにも深く関わっている。昨年度の研究で、SLE 患者の 60% もが、 ζ 鎖の蛋白発現が低下していることが明らかとなった。そこで、全身性エリテマトーデス (SLE) T 細胞で見いだされる ζ 鎖の発現異常が、他の T 細胞レセプター (TCR)-CD3 複合体の発現、サイトカイン産生にどのような影響を及ぼしているかを検討し、同時に、 ζ 鎖異常がどのような症例のどのような病期に出現するのかを臨床的に明らかにすることを目的とした。

【研究方法】 1) 対象：ACR 分類基準を満足する SLE 31 例を対象とし、正常人 14 例、慢性関節リウマチ 11 例、強皮症 5 例、一次性シェーグレン症候群患者 4 例をコントロールとした。2) リンパ球、T 細胞の分離：ヘパリン加静脈血から Ficoll-Conray 法でリンパ球を分離、プラスチックディッシュ付着性によってマクロファージを除去した後、ナイロンウールカラムで T 細胞を分離した。3) T 細胞刺激：抗 CD3 で T 細胞表面分子を処理し、抗マウス Ig 抗体を加えて架橋し、37℃、2～5 分インキュベートした。4) チロシンリン酸化：細胞を、1%NP-40RIPA バッファーによって可溶化した後、サンプルバッファーを加えて煮沸し、SDS-PAGE で泳動、さらに PVDF 膜に転写し、抗チロシンリン酸化モノクローナル抗体を用いて、免疫ブロットし、ECL 溶液にて可視化した。5) ζ 鎖表面発現の解析：ビオチンで表面標識した後可溶化し、モノクローナル抗体によって免疫沈降した。同時に、フローサイトメーターを用いて免疫蛍光染色して解析した。6) T 細胞に発現される全 ζ 鎖蛋白量の解析：T 細胞を NP-40RIPA バッファーで可溶化し、抗 ζ 鎖モノクローナル抗体で免疫沈降。5%SDS-PAGE で泳動後、プロットイングし、さらに

抗ゼータモノクローナル抗体と HRP 標識抗マウス抗体で検出。7) 免疫沈降：細胞溶解液にモノクローナル抗体+プロテイン G を加えて免疫沈降した後、SDS-PAGE、PVDF 膜転写を行い、抗チロシンリン酸化抗体、抗シグナル伝達分子抗体、あるいはアビジン-HRP によって免疫プロットを施行した。8) サイトカイン産生：末梢血 T 細胞は、無刺激あるいは PMA とイオノマイシンの存在下に 2～4 日培養し、その上清を採取した。上清中の IL-2, IFN γ は、高感度 ELISA 法を用い、96 穴プレート培養上清を測定した。

【結果と考察】 1) 末梢血 T 細胞のゼータ鎖発現：ビオチン標識細胞を用いた免疫沈降法の結果、SLE T 細胞では、ゼータ鎖の発現が著明に低下していることが確認された。全ゼータ鎖の発現低下も同様に観察された。その低下は、慢性関節リウマチ、強皮症、一次性シェーグレン症候群には見られないもので、正常人末梢血リンパ球に発現されるゼータ鎖の 50% 以下まで低下しているものが、実に 31 例中 19 症例 (61%) に及んだ。2) ゼータ鎖発現低下に及ぼす因子：ゼータ鎖発現低下は、2 例を除く多くの症例でほぼ安定して観察され、その中にはエクソン 7 欠失例 2 例を含む全例の変異を有する症例が含まれていた。注目すべきは、2 症例で観察された現象で、活動期に著明に低下していたゼータ鎖の発現が、治療によって活動性が低下すると共に正常に戻ったことである。しかしながら、全体としては、ゼータ鎖の発現低下は、活動性やステロイド量と有意の相関を示さなかった。多彩な臨床症状のなかで、唯一抗リン脂質抗体の存在と有意の相関を示すことが明かとなった。3) ゼータ鎖発現低下が他の TCR/CD3 複合体形成に及ぼす影響：ゼータ鎖発現低下に伴って TCR α/β の発現も中糖度に低下していることが明かとなった。CD3 ϵ の発現低下は軽度であったが、CD3 ϵ -TCR α/β の共沈が起こらず、機能的カップリングが不十分である可能性が示唆された。4) TCR/CD3 複合体の表面発現：フローサイトメトリーによる免疫蛍光抗体法によっても、TCR α/β 、CD3 ϵ 鎖の T 細胞表面での発現異常が確認された。5) T 細胞リセプター刺激後のサイトカイン産生：TCR-CD3 刺激による IL-2 産生は、ゼータ鎖発現低下と相関して減弱したが、PMA+イオノマイシン刺激により、正常以上の IL-2, IFN γ 産生を示した。

【結論】 T 細胞ゼータ鎖の発現異常は、TCR-CD3 複合体形成にも大きな影響を及ぼし、SLE T 細胞機能異常に深く関っているものと考えられた。また、活動性や治療とは無関係に観察されることから、SLE T 細胞に内在する異常として SLE の病態形成に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

【参考文献】

1. Weiss, A., and D.R. Littman. 1994. Signal transduction by lymphocyte antigen receptors. *Cell* 76:263-74.
2. Kotzin, B.L. 1996. Systemic lupus erythematosus. *Cell* 85:303-306.
3. Dayal, A.K., and G.M. Kammer. 1996. The T cell enigma in lupus. *Arthritis & Rheumatism* 39, no. 1:23-33.
4. Sussman, J.J., J.S. Bonifacino, J. Lippincott-Schwartz, A.M. Weissman, T. Saito, R.D. Klausner, and J.D. Ashwell. 1988. Failure to synthesize the T cell CD3-zeta chain: structure and function of a partial T cell receptor complex. *Cell* 52, no. 1:85-95.
5. Ono, S., H. Ohno, and T. Saito. 1995. Rapid turnover of the CD3 zeta chain independent of the TCR-CD3 complex in normal T cells. *Immunity* 2, no. 6:639-44 Issn: 1074-7613.
6. Takeuchi, T., M. Pang, K. Amano, J. Koide, and T. Abe. 1997. Reduced protein tyrosine phosphatase (PTPase) activity of CD45 on peripheral blood lymphocytes in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 109:20-26.
7. Takeuchi, T., K. Tsuzaka, M. Pang, K. Amano, J. Koide, and T. Abe. 1998. TCR zeta chain lacking exon 7 in two patients with systemic lupus erythematosus. *International Immunology* 10, no. 7:911-21.
8. Pang, M., T. Abe, T. Fujihara, S. Mori, K. Tsuzaka, K. Amano, J. Koide, and T. Takeuchi. 1998. Up-regulation of alphaEbeta7, a novel integrin adhesion molecule, on T cells from systemic lupus erythematosus patients with specific epithelial involvement. *Arthritis & Rheumatism* 41, no. 8:1456-63.
9. Tsuzaka, K., T. Takeuchi, N. Onoda, M. Pang, and T. Abe. 1998. Mutations in T cell receptor ζ chain mRNA of peripheral T cells from systemic lupus erythematosus. *J Autoimmunity* 11:381-5.

SLE患者末梢血リンパ球サブセットにおける 細胞表面機能分子の発現と病態形成との関連性

田中良哉 (産業医科大学、医学部、第一内科)
高澤亜希子 (産業医科大学、医学部、第一内科)
麻生めぐみ (産業医科大学、医学部、第一内科)
齋藤和義 (産業医科大学、医学部、第一内科)
藤井幸一 (産業医科大学、医学部、第一内科)
大田俊行 (産業医科大学病院、中央臨床検査部)
江藤澄哉 (産業医科大学、医学部、第一内科)

〔研究要旨〕 全身性エリテマトーデス (SLE) 患者末梢血リンパ球をサイトカイン産生様式により亜分画し、細胞表面機能分子の発現を解析した。SLEでは健常人に比し、Th1, Th2, Tc1, Tc2, B_{RO1}, B_{RO2}の何れのサブセットも増加した。また、SLEでは、Th2, Tc2, B_{RO1}, B_{RO2}はBcl-2の発現増強により細胞死から免れて残存し、Th2, Tc2のCD30L, CD40Lの発現増強とB_{RO1}, B_{RO2}のCD30, CD40の発現増強は、これらの分子を介するT細胞サブセットによるB細胞の活性化機構の存在が示唆された。即ち、SLEの病態は、Th2サイトカイン産生性サブセットの量的異常よりも、細胞特性に基づく質的異常によるものであり、その結果、細胞接着と特定のサイトカインを介するT細胞サブセットによるB細胞の活性化が誘導されるものと考えられた。

〔研究目的〕 SLEでは、自己応答性T細胞の存在、B細胞の自己抗体産生、それらがもたらす血管炎が病態の中心をなす。今回、SLE患者末梢血リンパ球をサイトカイン産生様式により亜分画し、細胞表面機能分子の発現を解析し、T細胞によるB細胞の活性化の機構を検討した。一方、SLEでは、しばしば皮膚などの特定の臓器病変形成を認めるが、近年、末梢血中T細胞には、腸管や皮膚等の特定臓器へのホーミング分子を発現し、特定の組織へ再循環するサブセットが存在する事が明らかとなった。今回、特に皮膚病変を有するSLE患者の末梢血T細胞のサイトカイン産生性サブセットに発現する皮膚リンパ球関連抗原(CLA)の臨床的意義について検討した。

〔研究方法〕 SLE患者、及び、健常人の末梢血からCD45RA⁻メモリー細胞を抽出し、3日間無刺激培養後、CD4/CD8/CD19、IL-2/IL-4、各種細胞表面機能分子や皮膚ホーミング分子CLAに対する抗体で三重染色し、細胞質内サイトカインの測定により、サイトカイン産生性リンパ球サブセット(Th1, Th2, Tc1, Tc2, B_{RO1}, B_{RO2})における細胞表面機能分子の発現をflow cytometerで解析した。また、T細胞と臍帯、皮膚、関節滑膜由来の血管内皮細胞との接着を検討した。

〔結果と考察〕 SLE患者では健常人に比し、Th1, Th2, Tc1, Tc2, B_{RO1}, B_{RO2}の何れのサブセットも同様に増加した。また、SLEでは、Th2, Tc2, B_{RO1}, B_{RO2}におけるBcl-2の発現増強とTh2上のCD95(Fas)発現低下を認め、さらにTh2, Tc2におけるCD30L,

CD40Lの発現増強とB_{RO}1, B_{RO}2のCD30, CD40の発現増強を認めた。SLEの病態は、自己応答性T細胞によるB細胞の自己抗体産生がもたらす血管炎であると考えられ、T細胞からのIL-4等のB細胞刺激(Th2)サイトカインの量的増加によってB細胞の活性化がもたらされるとされた。しかし、本研究では、細胞質サイトカインを測定することによって、SLEでは健常人に比し、Th1, Th2, Tc1, Tc2, B_{RO}1, B_{RO}2の何れのサイトカイン産生性サブセットも同様に増加する事を認めた。そこで、SLE患者末梢血リンパ球をサイトカイン産生様式により亜分画し、細胞表面機能分子の発現を解析したところ、SLEでは、Th2, Tc2, B_{RO}1, B_{RO}2は、Bcl-2の発現増強により細胞死から免れて残存すること、Th2, Tc2はCD30L, CD40Lの発現を増強し、CD30, CD40の発現が増強したB_{RO}1, B_{RO}2とこれらの分子を介して接着してB細胞を活性化することが示唆された。即ち、SLEの病態は、Th2サイトカイン産生性サブセットの量的異常よりも、むしろTh2, Tc2サブセットの細胞特性に基づく質的異常によるものであり、その結果、サイトカインと接着分子の双方を介する細胞間相互作用によってT細胞によるB細胞の活性化が誘導されるものと考えられた。

一方、皮膚病変を有するSLE患者では健常人や皮膚病変のないSLEに比し、Th2, Tc2における皮膚リンパ球関連抗原(CLA)の発現増強を認めた。また、皮膚病変のあるSLE患者T細胞は皮膚病変を有さないSLE患者T細胞に比し、PMA刺激下で、皮膚由来血管内皮細胞と有意に高率に接着した一方、滑膜や臍帯由来の血管内皮細胞との接着では両者に差が認められなかった。以上より、皮膚病変を有するSLEではTh2, Tc2で、CLAの発現増強と皮膚由来血管内皮細胞との接着増強を認め、これらのサブセットが、皮膚病態組織へ選択的に再循環することが示唆された。即ち、SLEの病態は、リンパ球のホーミングという観点からも、Th2, Tc2サブセットの細胞特性に基づく質的異常によるものである事が示唆された。

[結論] SLEはTh2サイトカイン依存性の疾患であるとされるが、SLEでは、Th1, Th2, Tc1, Tc2, B_{RO}1, B_{RO}2の何れのサブセットも同様に増加し、Th2サイトカイン産生性サブセットにおける細胞特性の異常が顕著であった。即ち、SLEでは、Th2, Tc2は、細胞死から免れて残存し、CD30L/CD40Lを介してB細胞(B_{RO}1, B_{RO}2)のCD30/CD40と接着し、B細胞を活性化する可能性が示唆された。また、SLE患者においては、IL-4等のTh2サイトカイン産生性T細胞サブセットにおけるCLAの発現を介する皮膚病態組織への再循環が、病態組織におけるB細胞の活性化をもたらし、臓器特異的な病態形成に関与する可能性が示唆された。以上より、SLEの病態は、Th2サイトカイン産生性サブセットの量的異常よりも、細胞特性に基づく質的異常によるものであり、その結果、T細胞とB細胞とのサイトカインと接着分子の双方による相互作用を介してB細胞の活性化がもたらされるものと考えられた。

[参考文献]

1. Fujii K, Tanaka Y, Hubscher S, et al. Crosslinking of CD44 on rheumatoid synovial Cells upregulates VCAM-1. J. Immunol. 1999; 162: 2391-2398.
2. Liu Z-J, Tanaka Y, Mine S, et al. Functional co-operation of cyclin C and c-Myc in mediating homotypic cell adhesion via VLA-4 activation and VCAM-1 induction. Blood 1998; 92: 4700-4711.

3. Mine S, Tanaka Y, Suematsu M, et al. Hepatocyte Growth Factor is a potent trigger of neutrophil adhesion through rapid activation of lymphocyte function-associated antigen-1. *Lab. Invest.* 1998; 78: 1395-1404.
4. Tanaka Y, Mine S, Hanagiri T, et al. Constitutive Up-regulation of Integrin-mediated Adhesion of Tumor-Infiltrating Lymphocytes to Osteoblasts and Bone Marrow-Derived Stromal Cells. *Cancer Res.* 1998; 58: 4138-4145.
5. Tanaka Y, Fujii K, Hubscher S, et al. Heparan sulfate proteoglycan on endothelium efficiently induces integrin-mediated T cell adhesion by immobilizing chemokines in rheumatoid synovitis. *Arthritis Rheum.* 1998; 41: 1365-1377.
6. Tanaka Y, Mine S, Figdor CG, et al. Constitutive chemokine production results in activation of LFA-1 on adult T cell leukemia cells. 1998; *Blood* 91: 3909-3919.
7. Tanaka Y, Kimata K, Adams DH, et al. Modulation of cytokine function by heparan sulfate proteoglycans: sophisticated models for the regulation of cellular responses to cytokines. *Proc. Assoc. Am. Physicians* 1998; 110: 118-125.
8. Tanaka Y, Aso M. Chemokine and cellular adhesion in the context of heparan sulfate proteoglycan. *Trend. Glycosci. Glycotech.* 1998; 10: 153-160.
9. 田中良哉. 膠原病と接着分子. *現代医療.* 1999; 31: 70-75.
10. 田中良哉. 炎症性サイトカイン・成長因子の作用発現におけるヘパラン硫酸プロテオグリカンの役割. *炎症と免疫.* 1999; 7: 70-78.
11. 田中良哉. サイトカインとは何か. *リウマチ科.* 1999; 21: 1-12.
12. 田中良哉. サイトカイン. *日本骨代謝学会雑誌.* 1999; 16: 179-181.
13. 塚田順一, 三砂将裕, 田中良哉, 他. インターロイキン1 (IL-1) 遺伝子発現とそれを制御する転写因子. *臨床免疫.* 1998; 30: 1687-1692.
14. 田中良哉. サイトカイン・接着分子. *日本内科学会雑誌.* 1998; 87: 2461-2468.
15. 田中良哉. 細胞移動と接着分子. *臨床免疫.* 1998; 30 (suppl 18): 90-98.
16. 田中良哉. インテグリン-接着のメカニズム-. *医学のあゆみ.* 1998; 187: 3-10.
17. 田中良哉. 慢性関節リウマチにおけるケモカインと細胞接着分子. *THE CELL.* 1998; 30: 396-399.
18. 田中良哉. ケモカイン・ヘパラン硫酸複合体とインテグリンの活性化. *炎症.* 1998; 18: 279-286.
19. 田中良哉. 接着分子と骨粗鬆症の分子生物学. *実験医学.* 1998; 16: 1406-1411.
20. 田中良哉. ケモカインと細胞接着分子. *細胞工学.* 1998; 17: 1038-1045.
21. 田中良哉. 細胞接着とケモカイン. *血液・免疫・腫瘍.* 1998; 3: 17-24.
22. 田中良哉. ケモカインとヘパラン硫酸プロテオグリカン. *最新医学.* 1998; 53: 933-940.
23. 田中良哉. 炎症反応とケモカイン・接着分子. *臨床医.* 1998; 24: 406-409.
24. 田中良哉. プロテオグリカンとサイトカイン. 徳久剛史, 羅智靖編, *分子アレルギー学* (メディカルレビュー社). 1998; pp279-284.
25. 田中良哉. 接着分子機能. 小川道雄編, *分子生物学実験講座*(メディカルレビュー社). 1998; pp36-40.

自己免疫疾患モデルマウスとB細胞アポトーシス異常

鏑田武志（東京医科歯科大学、難治疾患研究所、免疫疾患）

樋口哲也（東京医科歯科大学、難治疾患研究所、免疫疾患）

萩山裕之（東京医科歯科大学、難治疾患研究所、免疫疾患）

饗庭祐一（東京医科歯科大学、難治疾患研究所、免疫疾患）

【研究要旨】 我々は、自己免疫疾患モデルマウスNZBおよび(NZB x NZW)F1で、抗原受容体を介するB細胞アポトーシスに異常があることを報告したが、今回、MRL/+マウスにも同様の異常を認めた。一方、抗原受容体を介するB細胞アポトーシスにはCD95は必要ないので、MRL/lprマウスにおける顕著な自己免疫疾患の発症には、CD95の変異ばかりでなくMRLバックグラウンドに伴う抗原受容体を介するB細胞アポトーシスの異常も関与することが示唆された。さらに、抗原受容体を介するB細胞アポトーシスを制御するCD72分子がSHP-1を抗原受容体にリクルートすることを明かにした。SHP-1の変異を伴うmotheaten (me)マウスは自己免疫疾患を発症するので、CD72がSHP-1の活性化を通して自己トレランスの制御に関与することが示唆された。以上より、MRL/lpr やmeマウスにおける全身性自己免疫疾患の発症にも、抗原受容体を介するB細胞アポトーシスの異常が関与することが示唆された。

【研究目的】 全身性自己免疫疾患では自己反応性B細胞が出現し、自己抗体の産生がおこるので、B細胞の自己トレランスの異常があると示唆されるが、その詳細は不明である。我々は、成熟B細胞が抗原受容体を介するシグナルによりアポトーシスをおこし、さらに、全身性自己免疫疾患モデルマウスNZB および(NZB x NZW)F1では抗原受容体を介するアポトーシスに異常があることを明かにした(1,2)。我々は、この知見から、抗原受容体を介するアポトーシスにより、自己反応性B細胞が自己抗原と反応して死滅し、自己トレランスが維持されるものと示唆した。しかしながら、全身性自己免疫疾患モデルマウスにはCD95 (Fas) の異常を伴う MRL/lpr マウスやチロシンフォスファターゼ SHP-1の異常を伴う motheaten (me) マウスがある。そこで、我々は、MRL/lpr マウスB細胞の抗原受容体を介するアポトーシスについて検索し、さらに、SHP-1と会合する分子による抗原受容体を介するアポトーシスの制御について検索した。

【研究方法】 B細胞の精製と抗原受容体架橋による細胞死の誘導 脾細胞を塩化アンモニウム溶液で処理して赤血球を溶解後、抗 Thy 1 抗体 (F7D5, Serotec)、抗CD4 抗体 (RL172.5)、抗 CD8 抗体 (3.115) と補体で処理して T 細胞を除去し、さらにパーコール密度勾配で 65% パーコールと 70% パーコールの境界面の細胞を回収し、精製 B 細胞分画とした。精製 B 細胞 $5-10 \times 10^5$ コを 1ml の 10% FCS 添加 RPMI 1640 培地 (50 μ M 2ME, 2mM グルタミンを添加) で固相化抗IgM抗体とともに培養した。24-48時間後に細胞を回収し、トリパンブルー染色後、顕微鏡下で、または、propidium iodide (PI) で染色

後、フローサイトメトリーで解析し、生細胞と死細胞の比率を計測した。

免疫沈降とウエスタンブロッティング B細胞株WEHI-231をlysis bufferで処理後、抗CD72抗体とプロテインGセファローズビーズ（ファルマシア）を用いて免疫沈降し、沈降物をSDS-PAGEで展開した後、ナイロンメンブレンにトランスファーし、抗SHP-1抗体（Upstate Biotechnology）、抗SHIP抗体、抗フォスフォチロシン抗体、抗CD72抗体を用いてウエスタンブロッティングを行った。

【結果と考察】 MRL/lprマウスB細胞の抗原受容体を介する細胞死の異常

我々は、MRL/+, MRL/lpr, C57BL/6, C57BL/6-lprそれぞれのマウス脾臓よりB細胞を精製し、培地のみまたは固相化抗IgM抗体と共に24時間または48時間培養し、培養後の生細胞と死細胞の比率を求めたところ、C57BL/6マウスB細胞を固相化抗IgM抗体と共に培養した際には、培地のみの場合に比べて、著明に死細胞の割合が増加し、抗原受容体架橋により細胞死が誘導されていた。このような固相化抗IgM抗体による細胞死の増加はC57BL/6-lprマウスB細胞でも認められ、抗原受容体架橋による細胞死にはCD95を介するシグナルは不要であることが明かとなった。一方、MRLマウスではlpr変異の有無に関わらず、B細胞を培地のみで培養した場合と固相化抗IgM抗体とともに培養した場合で、細胞死をおこすB細胞の割合に違いは認められず、MRLバックグラウンドのマウスでは、抗原受容体架橋による細胞死の誘導がおこらないことが明かとなった。抗原受容体架橋によるB細胞の細胞死はアポトーシスによることを我々は示している(3)ので、MRLマウスでは、抗原受容体架橋によるアポトーシスに異常があると考えられた。

lpr変異による自己免疫疾患の発症がマウスのバックグラウンドにより影響を受けることが知られている。実際、MRL/lprでは強い自己抗体の産生と激しいSLE様の自己免疫疾患を呈するが、C57BL/6-lprでは、自己抗体産生も軽度で、あまり顕著な自己免疫疾患をおこさない。今回の我々の結果は、lpr変異があってもC57BL/6バックグラウンドでは抗原受容体架橋によるB細胞の細胞死がおこるが、MRLバックグラウンドではこの細胞死誘導に異常があることを示している。このような異常のために、MRL/lprマウスでは、自己反応性成熟B細胞が自己抗原と反応しても細胞死をおこさず、C57BL/6-lprマウスに比べて顕著な自己抗体免疫疾患をおこすことが示唆される。

チロシンフォスファターゼSHP-1と抗原受容体を介する細胞死

我々は、抗CD72抗体で成熟B細胞を処理すると抗原受容体架橋によるアポトーシスがおこらなくなることを示した(2)。CD72にはITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif) が存在し、このモチーフはCD22や2型Fcγレセプターなどの抑制性レセプターに認められ、SHIPやSHP-1などのフォスファターゼとの会合に関与する。そこで、われわれはCD72がこれらのフォスファターゼと会合するか検索した。無処理または抗IgM抗体で処理したWEHI-231細胞をlysis bufferで処理した後に、抗CD72抗体で免疫沈降し、沈降物を抗フォスフォチロシン抗体、抗SHIP抗体および抗SHP-1抗体を用いてウエスタンブロッティングを行ったところ、抗IgM抗体処理によりCD72のリン酸化の程度が有意に増強した。また、CD72とSHP-1の会合を認め、この会合は抗原受容体架橋により増強した。しかし、CD72とSHIPとの会合は認めなかった。したがって、CD72は抗原受容体と

少なくとも機能的に会合し、抗原受容体架橋によりリン酸化され、SHP-1を抗原受容体の近傍にリクルートすることが明かとなった(4)。

me マウスはSHP-1を欠損し、B細胞の分化の亢進、自己抗体の産生、SLE様の自己免疫疾患の発症を認める。SHP-1は抗原受容体シグナルを負に制御し、me マウスB細胞ではその欠損により抗原受容体刺激に対し過剰に反応することが示され、その結果、B細胞の分化が亢進するものと考えられている。SHP-1を抗原受容体近傍にリクルートする分子としてこれまでCD22が知られ、CD22欠損マウスのB細胞も抗原受容体刺激に対し過剰に反応するが、その程度はmeマウスに比べて極く軽度であり、また、自己免疫疾患の発症もほとんど見られない(5)。今回、我々はCD72もSHP-1を抗原受容体近傍にリクルートすることを明かにした。CD72がCD22と一部重複する機能を持つために、CD22欠損マウスではmeマウスに比べて、抗原受容体刺激に対し過剰反応があまり強くないと考えられる。また、CD72が抗原受容体を介するB細胞アポトーシスを制御することから、me マウスにおいて抗原受容体を介する細胞死に何らかの異常があり、自己免疫疾患の発症に関与することが示唆される。

【結論】 全身性自己免疫疾患モデルマウスNZBや(NZB x NZW)F1以外にも、MRL/lprマウスにも抗原受容体を介するB細胞アポトーシスの異常を認めた。また、抗原受容体を介するB細胞アポトーシスを制御するCD72分子が、SHP-1による抗原受容体シグナルの制御に関与することを明かにした。MRL/lprやSHP-1変異を伴いme マウスにおける全身性自己免疫疾患の発症にも、抗原受容体を介するB細胞アポトーシスの異常が関与することが示唆された。

【参考文献】

1. Tsubata, T., Murakami, M. and Honjo, T.: Antigen-receptor cross-linking induces peritoneal B-cell apoptosis in normal but not autoimmunity-prone mice. *Curr. Biol.* 4: 8-17, 1994
2. Nomura, T., Han, H., Howard, M. C., Yagita, H., Yakura, H., Honjo, T., and Tsubata, T.: Antigen receptor-mediated B cell death is blocked by signaling via CD72 or treatment with dextran sulfate and is defective in autoimmunity-prone mice. *Int. Immunol.* 8: 867-875, 1996.
3. Watanabe N., Nomura, T., Takai, T., Chiba, T., Honjo, T. and Tsubata, T.: Antigen receptor cross-linking by anti-immunoglobulin antibodies coupled to cell surface membrane induces rapid apoptosis of normal spleen B cells. *Scand. J. Immunol.* 47: 541-547, 1998
4. Adachi, T., Flaswinkel, H., Yakura, H., Reth, M., and Tsubata, T.: The B cell surface protein CD72 recruits the tyrosine phosphatase SHP-1 upon tyrosine phosphorylation. *J. Immunol.* 160: 4662-4665, 1998.
5. Tsubata, T.: Co-receptors on B lymphocytes. *Curr. Opin. Immunol.* (in press).