

# CD19-dependent B lymphocyte signaling thresholds influence skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/4641">http://hdl.handle.net/2297/4641</a>

## 【総説】

## 第一回 高安賞最優秀賞受賞論文

論文 「CD19-dependent B lymphocyte signaling thresholds influence skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse」

The Journal of Clinical Investigation

Vol.109, No.11, Page 1453-1462

2002年6月掲載

## B細胞のCD19によるシグナル閾値は、tight-skin マウスにおける皮膚の線維化および自己免疫を制御する

齊藤 恵里子 (さいとう えりこ)

## はじめに

全身性強皮症 (systemic sclerosis : SSc) は皮膚や肺などの臓器に線維性変化を生じる膠原病である。SScの発症機序は不明であるが、高率に抗topoisomerase I (topo I) 抗体などの疾患特異的自己抗体が出現することから、それらの病因への関与が示唆されている。しかし、SScにおける自己免疫と皮膚硬化との間の関係は明らかになっていない。今回我々はB細胞特異的なシグナル伝達分子であるCD19の発現およびその機能異常によるB細胞の慢性的な活性化が、自己免疫と症状発現を結びつける可能性を明らかにした。

## Tight-skin (TSK/+) マウス

TSK/+マウスはSScの突然変異モデルマウスとされている<sup>1)</sup>

ホモ (TSK/TSK) は子宮内で死亡し、ヘテロ (TSK/+) のマウスのみ生存する。TSK/+マウスでは皮膚の線維化を認め、抗核抗体や抗topo I抗体が検出される。TSK/+マウスでは弾性線維の構成成分であるfibrillin 1 (Fbn-1) 遺伝子の重複が原因として推定されている。しかし、Fbn-1遺伝子はヒトではマルファン症候群の原因遺伝子であり、Fbn-1遺伝子の異常がTSK/+マウスにおける皮膚の線維化と自己免疫の発生にどの様に関与しているかは未だ不明である。

## CD19の構造と機能

CD19はB細胞に特異的に発現する重要なシグナル伝達分子である<sup>2)</sup>。CD19の細胞内ドメインには9つのチロシン残基があり、そのリン酸化を介してSrc-familyに属するLyn, Fynおよび

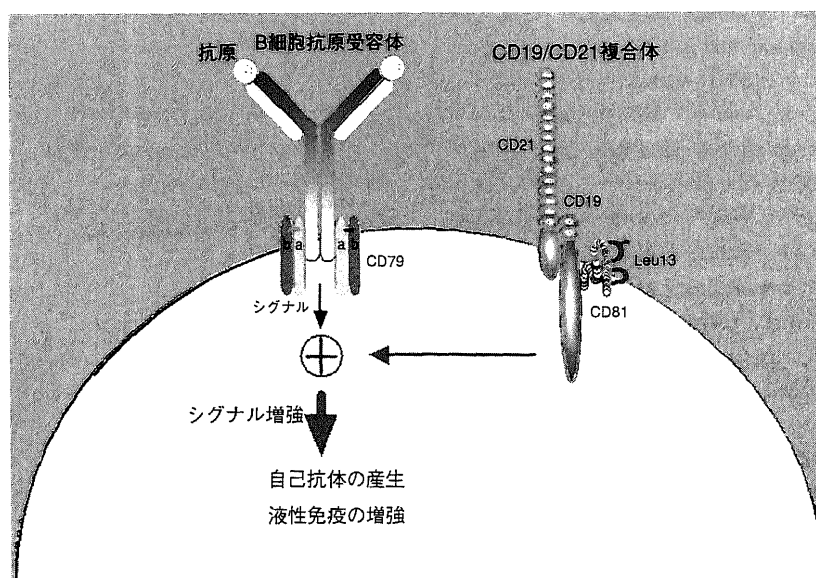


図1. CD19の機能. CD19はB細胞抗原受容体からのシグナルを増強することによって、B細胞の液性免疫反応や自己抗体の産生を制御する。

LckといったチロシンキナーゼやVavを活性化する。また、CD19ノックアウト (CD19<sup>-/-</sup>) マウス由来B細胞では様々な刺激に対する反応が著しく低下し、逆にCD19を3倍多く発現するCD19トランスジェニック (TG) マウス由来B細胞ではこれらの刺激に対する反応が著明に亢進する。つまり、CD19はB細胞抗原受容体からのシグナルを増強する機能を有している (図1)。その結果、CD19TGマウスでは末梢のトレランスが破綻して様々な自己抗体の産生がみられる<sup>3)</sup>。

SScにおけるCD19発現量の異常

SSc患者のB細胞ではCD19の発現量が約20%増加していることが明らかとなっている<sup>4)</sup>。また、同程度のCD19の発現増加を示すTGマウスでも抗topo I抗体を含めた様々な自己抗体の産生がみられる。したがって、B細胞におけるCD19の発現量

の増加が、SSc患者の自己免疫に関与しているという可能性が示唆されている。

TSK/+マウス由来B細胞 (TSK/+B細胞) におけるCD19シグナル異常

TSK/+B細胞では、SScにみられるようなCD19発現量の増加は観察されなかった。しかし、我々はTSK/+B細胞で、恒常的なCD19チロシンリン酸化の亢進を見出した (図2A)。また、CD19シグナルの下流に位置する、主要なシグナル伝達分子であるVavのチロシンリン酸化もTSK/+B細胞で亢進していた (図2B)。

さらに、TSK/+B細胞におけるCD19を介するシグナル異常を解析するために、CD19を介する細胞内Ca<sup>2+</sup>の流入を測定した (図3)。CD19架橋後の細胞内Ca<sup>2+</sup>流入は、野生型B細胞と比

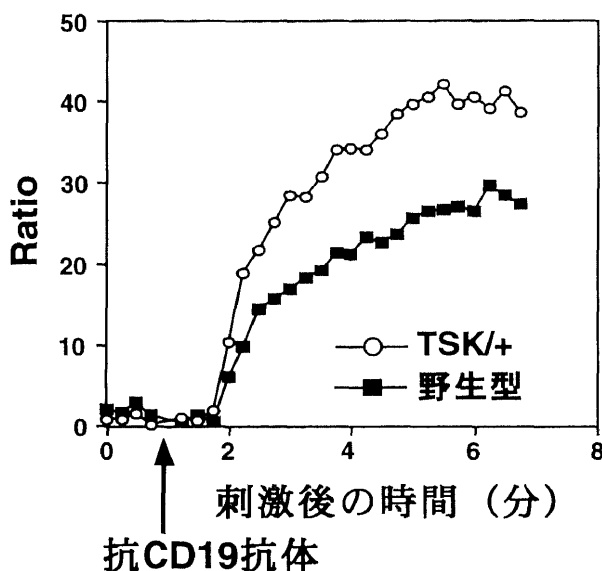
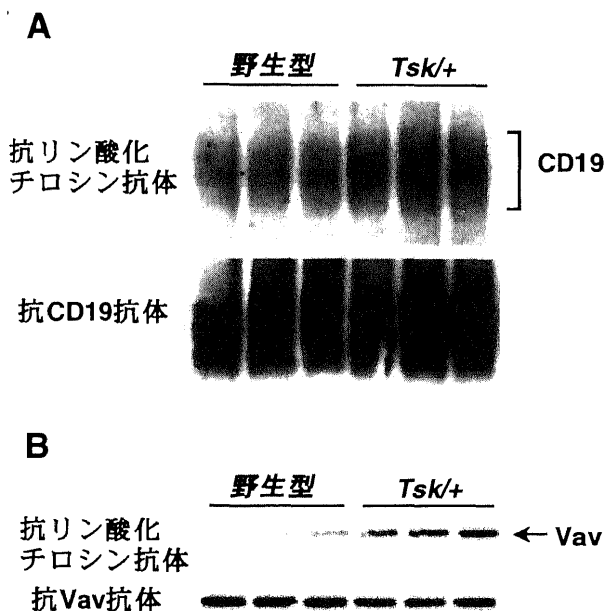


図2. TSK/+B細胞におけるCD19シグナル伝達の亢進。  
(A) CD19のチロシンリン酸化  
(B) Vavのチロシンリン酸化

図3. CD19を介する細胞内Ca<sup>2+</sup>流入反応。

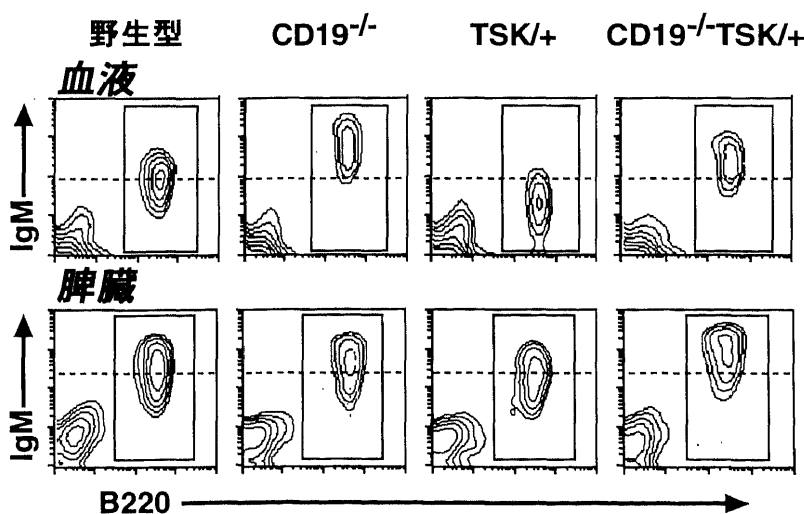


図4. TSK/+B細胞上のIgM発現量の低下。

較して増強していた。つまり、TSK/+B細胞ではCD19を介するシグナル伝達が亢進していた。

TSK/+B細胞の慢性的な活性化

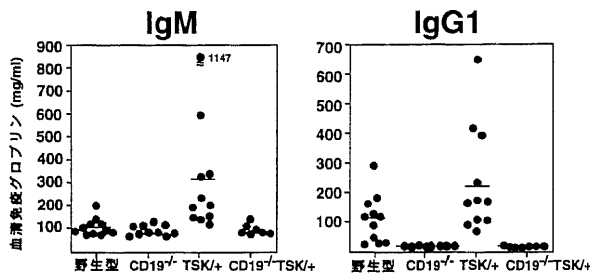
TSK/+B細胞の *in vivo* における活性化状態を検討するために、B細胞抗原受容体であるIgMの発現量を解析した。B細胞上のIgM発現量の低下はCD19TGマウスをはじめとする様々な自己免疫マウスで認められ、B細胞の慢性的な活性化状態を示す指標である。逆にCD19<sup>-/-</sup>マウスではIgMの発現量の増加がみられる。TSK/+B細胞上のIgMの発現量は野生型B細胞に比

べ、著明に低下していた(図4)。さらに、TSK/+マウスとCD19<sup>-/-</sup>マウスを交配して作成したCD19を欠損したTSK/(CD19<sup>-/-</sup>TSK/+)マウスでは、TSK/+B細胞でみられたIgM発現量の低下はみられず、CD19<sup>-/-</sup>マウスと同程度にまで増加した。このように、TSK/+B細胞は慢性的に活性化した状態にあり、それはCD19シグナルの増強によると考えられた。

TSK/+マウスの自己抗体産生に対するCD19欠損の効果

TSK/+マウスでは、前述したB細胞の慢性的な活性化と一致して、血清中IgM、IgG1濃度が野生型マウスに比べて有意に

A. 血清中免疫グロブリン濃度



B. 自己抗体産生

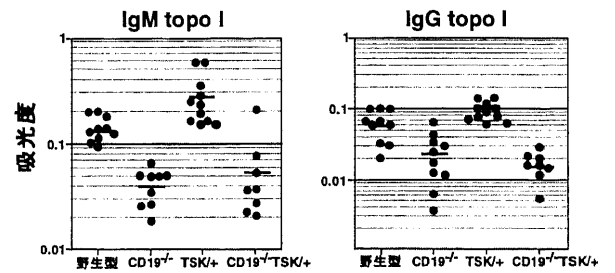


図5. TSK/+マウスにおける免疫グロブリン産生(A)と自己抗体産生(B)に対するCD19欠損の影響。

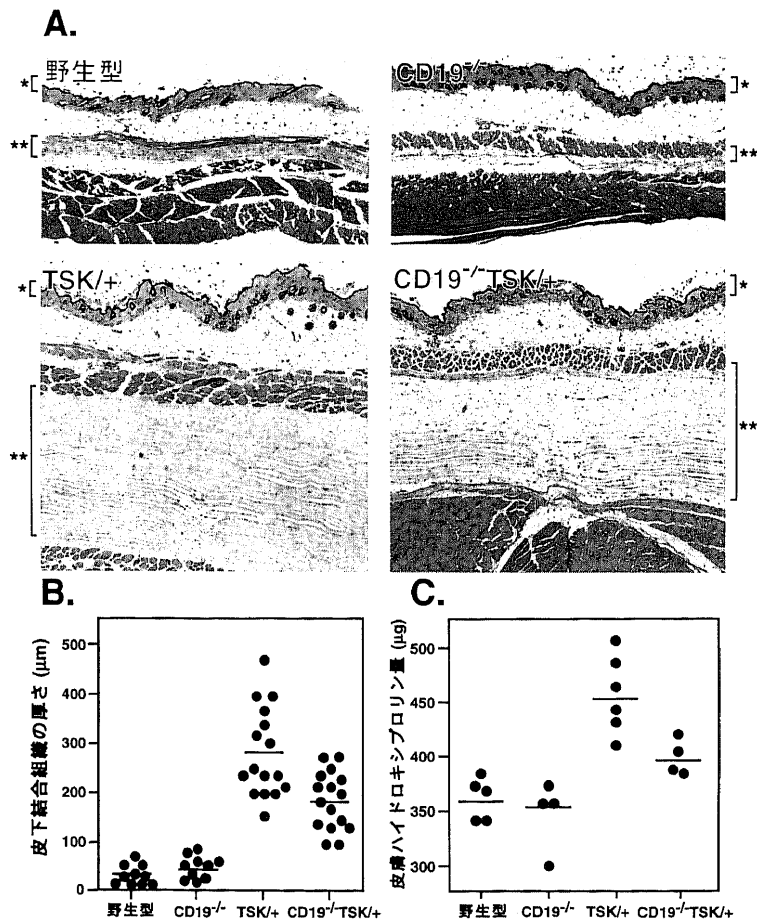


図6. TSK/+マウスにおける皮膚硬化に対するCD19欠損の影響。皮膚のH&E染色像。\*は真皮を、\*\*は皮下結合組織層をそれぞれ示す(A)。各マウスの皮膚硬化の程度を、皮下結合組織の厚さ(B)および皮膚のハイドロキプロリン量(C)を測定することによって定量化した。

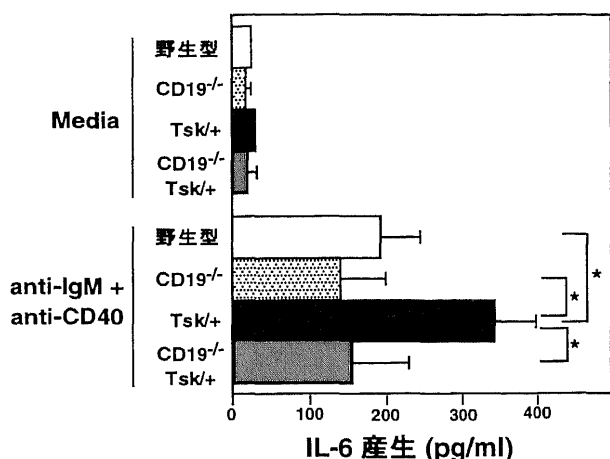


図7. TSK/+B細胞によるIL-6産生能.

\* :  $p < 0.05$

上昇していた(図5A). さらに, SSc特異的な抗topo I抗体力価も増加していた(図5B). CD19<sup>-/-</sup>TSK/+マウスでは, TSK/+マウスで増加していた血清IgM, IgG1濃度はCD19<sup>-/-</sup>マウスと同程度にまで低下した. さらに, CD19<sup>-/-</sup>TSK/+マウスでは, 抗topo I抗体価も完全に陰性化した(図5B). このようにTSK/+マウスでみられた高 $\gamma$ -グロブリン血症および自己抗体産生は, CD19を欠損させることによって完全に除去された.

#### TSK/+マウスの皮膚硬化に対するCD19欠損の効果

TSK/+マウスにおける皮膚の厚さは, SScのように真皮の結合組織層の厚さ(図6Aの\*で示した部位)によるものではなく, 主に皮下の結合組織層の厚さ(図6Aの\*\*で示した部位)によるものであったため, この部位の厚さを測定し比較した. TSK/+マウスでは野生型マウスに比べて著明な皮下結合組織層がみられたが, この肥厚した皮下結合組織層はCD19欠損によって有意に減弱した(図6B). また, 皮膚のヒドロキシプロリン量についても同様の結果が得られた(図6C). したがって, CD19はTSK/+マウスにおいて, その自己免疫誘導とともに皮膚硬化にも関与していることが示された.

#### TSK/+B細胞によるIL-6の産生亢進能

IL-6はB細胞を含めた様々な細胞より産生され, B細胞の分化や, 自己抗体の産生, さらに皮膚の線維芽細胞からコラーゲンの産生を誘導するサイトカインであり, SScの線維化への関与が示唆されている<sup>5)</sup>. そこで, TSK/+B細胞についてIL-6の産生について検討したところ, その産生が有意に増加していた

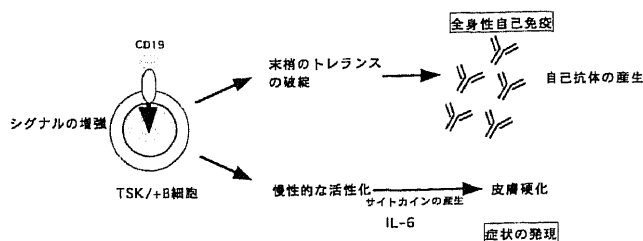


図8. TSK/+マウスにおける自己免疫モデル.

(図7). 一方, CD19<sup>-/-</sup>TSK/+マウスではIL-6産生は正常化した. したがって, TSK/+B細胞からのIL-6産生はCD19のシグナルに依存し, 皮膚硬化に関与している可能性が考えられた.

#### TSK/+マウスにおける自己免疫と線維化の関係

以上の結果から, TSK/+B細胞ではCD19を介するシグナルが亢進し, CD19TGマウスでも観察された様に, 末梢のトレランスの破綻により自己抗体の産生が生じると考えられた. また一方で, CD19シグナルの増強によってB細胞が慢性的に活性化した結果, IL-6などのサイトカインが産生されて皮膚硬化を誘導している可能性が考えられた(図8).

#### 文 献

- 1) Green, M. C., H. O. Sweet, and L. E. Bunker. Tight-skin, a new mutation of the mouse causing excessive growth of connective tissue and skeleton. *Am. J. Pathol* 82: 493-512, 1976
- 2) Tedder, T. F., M. Inaoki, and S. Sato. The CD19/21 complex regulates signal transduction thresholds governing humoral immunity and autoimmunity. *Immunity* 6: 107-118, 1997
- 3) Inaoki, M., S. Sato, B. C. Weintraub, C. C. Goodnow, and T. F. Tedder. CD19-regulated signaling thresholds control peripheral tolerance and autoantibody production in B lymphocytes. *J. Exp. Med* 186: 1923-1931, 1997
- 4) Sato, S., M. Hasegawa, M. Fujimoto, T. F. Tedder, and K. Takehara. Quantitative genetic variation in CD19 expression correlates with autoimmunity. *J. Immunol* 165: 6635-6643, 2000
- 5) Hasegawa, M., S. Sato, H. Ihn, and K. Takehara. Enhanced production of interleukin-6 (IL-6), oncostatin M and soluble IL-6 receptor by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic sclerosis. *Rheumatology*. 38: 612-7, 1999

## Profile

### 所 属

金沢大学医学部皮膚科学教室 (現 市立敦賀病院皮膚科勤務)

1997年 富山医科薬科大学医学部卒業

2003年 金沢大学大学院医学系研究科修了

### 趣 味

旅行, 読書