

平成 30 年 5 月 7 日現在

機関番号：13301
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2015～2017
課題番号：15K09762
研究課題名(和文) 全身性強皮症におけるFcRIIBの役割についての検討

研究課題名(英文) A role of FcγRIIB in systemic sclerosis

研究代表者

濱口 儒人 (Hamaguchi, Yasuhito)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：60420329

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：全身性強皮症患者では健康人に比べna#239;ve B細胞、double negative (DN) memory B細胞上のFcRIIBが上昇しており、DN memory B細胞上のFcRIIBが高発現だった群では正常だった群に比べ間質性肺炎の合併が有意に高頻度だった。一方、ブレオマイシン誘発線維化モデルでは、FcRIIB欠損マウスでは野生型マウスより線維化が増悪していた。以上より、全身性強皮症患者では活性化したB細胞を抑制するためにFcRIIBの発現が代償的に上昇しており、病態形成においてFcRIIBは線維化を抑制する機能を有していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the expression of FcRIIB on B cell subsets in systemic sclerosis (SSc). The expressions of FcRIIB on SSc na#239;ve B cells and double negative (DN) memory B cells were significantly elevated than that on B cells of healthy subjects. Patients with the elevated expression of FcRIIB on DN memory B cells more frequently had interstitial lung disease than those with normal levels. In bleomycin-induced fibrosis model, fibrosis was significantly worsened in FcRIIB-deficient mice compared to wild-type mice. Our results suggest that SSc B cells exhibit compensatory increases in the expression of FcRIIB in order to suppress the abnormal activation of B cells, and the expression of FcRIIB may be an indicator of the clinical severity of SSc.

研究分野：Dermatology

キーワード：全身性強皮症 FcRIIB B細胞

1. 研究開始当初の背景

IgG の Fc 部位に結合する Fc γ レセプター (Fc γ receptor: Fc γ R) は主に白血球の細胞表面に存在し、エフェクター細胞を活性あるいは抑制することで自然免疫と獲得免疫を仲介し、生体防御系を調節している。Fc γ R は抗原抗体反応を介した組織障害だけでなく、自己免疫疾患の病態に関与していることも報告されている。Fc γ R には Fc γ RI (CD64)、Fc γ RII (CD32)、Fc γ RIII (CD16) の3つのサブセットが存在するが、このうち Fc γ RIIB は細胞内に抑制性シグナルを伝達するモチーフを有し、免疫反応を抑制する。それぞれの Fc γ R 発現はエフェクター細胞によって異なっているが、マウスとヒトとも抑制型受容体である Fc γ RIIB は B 細胞にのみ発現している。全身性強皮症 (Systemic sclerosis: SSc) は皮膚および内臓諸臓器に線維化が生じる疾患で、高率に抗核抗体が出現することから自己免疫疾患に分類されている。SSc では免疫学的異常、なかでも B 細胞が活性化し病態に関与していると考えられている。しかし、SSc における Fc γ R の役割は十分に明らかになっていない。本研究では SSc における Fc γ R の役割が明らかになれば、SSc の病態解明の手がかりになるのみならず、Fc γ R を標的とした治療あるいは疾患活動性を評価するバイオマーカーの開発に貢献することが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、SSc における Fc γ R の役割を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 対象患者

76 例の SSc 患者 (女性 68 例、男性 8 例) を対象とした。年齢は 51 歳 (20-77 歳 (中央値: 最小値-最大値) で平均罹病期間は 5.3 年 (0.2-3.4 年)、38 例が dcSSc (女性 35 例、男性 3 例) で 38 例が lcSSc (女性 33 例、男性 5 例) だった。抗セントロメア抗体陽性が 24 例、抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性が 25 例、抗 RNA ポリメラーゼ 抗体陽性が 15 例だった。残りの 18 例は他の自己抗体が陽性だった。初回採血時、76 例中 44 例が経口ステロイド薬を内服しており、そのうち 19 例はシクロフォスファミドパルス療法の既往があった。32 例はいずれの免疫抑制療法も導入されていない。76 例中 6 例でシクロフォスファミドパルス療法前後における Fc γ R 発現の変化を検討した。年齢と性別が一致した 59 例を健常コントロールとした。本研究は金沢大学倫理委員会の承認を得て行い、研究参加前に被検者から文書で同意を取得した。

(2) 検討項目

スキンスコアは MRSS で評価した。スキンスコア以外の皮膚症状として、レイノー現象、

爪上皮出血点、指尖陥凹性瘢痕、指尖潰瘍、手指の屈曲拘縮、びまん性色素沈着、毛細血管拡張、石灰沈着を検討した。臓器病変として、間質性肺炎、逆流性食道炎、心病変、腎クリーゼ、関節炎、筋病変を検討した。

(3) フローサイトメトリー染色

50 μ l の全血を蛍光色素で標識した抗体と 4 で 20 分間反応させ、その後溶血処理してフローサイトメトリーで解析した。CD19⁺B 細胞を CD27 と IgD の発現から次の 5 つの分画に分類した; CD27⁺IgD⁻ naïve B 細胞、CD27⁺IgD⁺ pre-switched memory B 細胞、CD27⁻IgD⁻ double negative (DN) memory B 細胞、CD27^{mid}IgD⁺ switched memory B 細胞、CD27^{high}IgD⁻ plasmablast。

(4) プレオマイシン誘発マウス線維化モデルにおける検討

野生型マウス、Fc γ RIIB を欠損したマウス (Fc γ RIIB^{-/-}マウス) にプレオマイシンを皮下投与して線維化を誘導し、誘導された線維化を評価した。

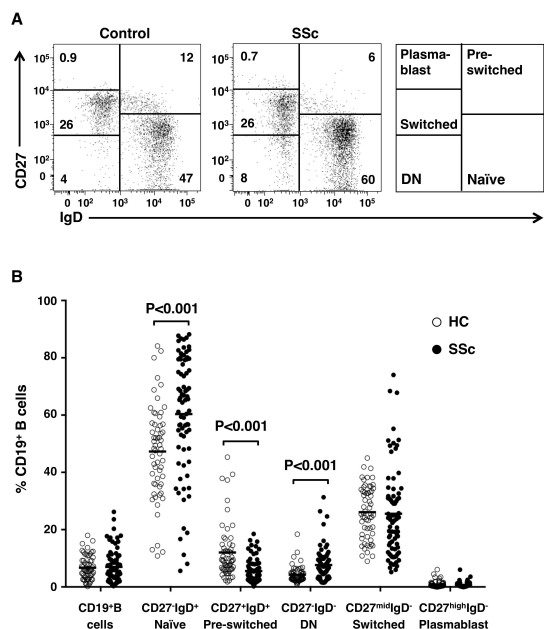
(5) 統計解析

2 群間の比較は Student's t 検定、多群間の比較は Bonferroni 検定により評価した。ペア間の検定には Spearman's rank correlation を用いた。

4. 研究成果

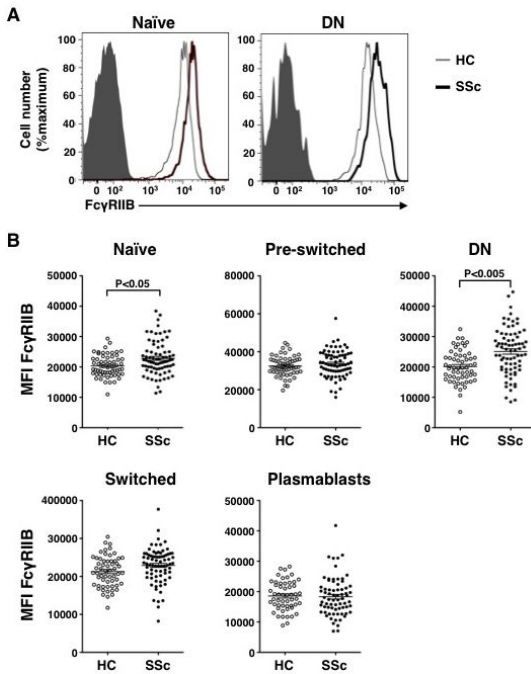
(1) SSc における B 細胞分画の割合

SSc 患者と健常コントロール間で末梢血中における CD19⁺B 細胞数の割合に差はなかったが、naïve B 細胞、pre-switched memory B 細胞、DN memory B 細胞の割合は SSc で有意に高頻度だった。switched memory B 細胞と plasmablast の割合は SSc と健常コントロールで差はなかった。



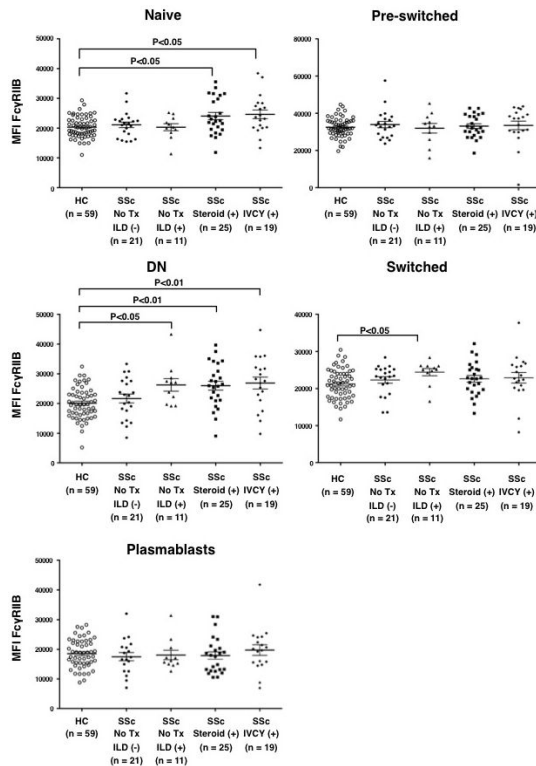
(2) B 細胞上の FcγR 発現

B 細胞分画における FcγR 発現を検討したところ、SSc 患者では naïve B 細胞と DN memory B 細胞上の FcγR 発現が健常コントロールに比べ有意に上昇していた。



(3) SSc 患者サブセットにおける検討

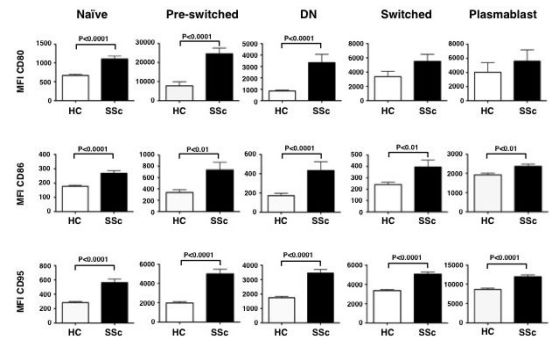
経口ステロイド薬あるいはシクロフォスファミドは免疫抑制作用を有しており、B 細胞上の FcγR 発現に影響を与える可能性がある。そこで、76 例の SSc 患者を採血時の治療により経口ステロイド薬を投与されている群 (25 例)、経口ステロイド薬に加えシクロフォス



ファミドパルス療法の既往がある群 (19 例)、経口ステロイド薬とシクロフォスファミドパルス療法のいずれも導入されていない群 (32 例) に分類して FcγR 発現を検討した。免疫抑制療法が導入されていない 32 例は間質性肺炎の有無よりさらに 2 つの群に分類した (間質性肺炎合併 11 例、非合併 21 例)。経口ステロイド投与群、シクロフォスファミド療法の既往がある群では健常コントロールに比べ免疫抑制療法を受けているかどうかを基準に B 細胞分画における FcγR 発現を検討したところ、naïve B 細胞、DN memory B 細胞上の FcγR 発現が上昇していた。また、いずれの免疫抑制療法を受けていない患者のうち間質性肺炎を合併していた群では健常コントロールに比べ DN memory B 細胞、switched memory B 細胞上の FcγR 発現が上昇していた。

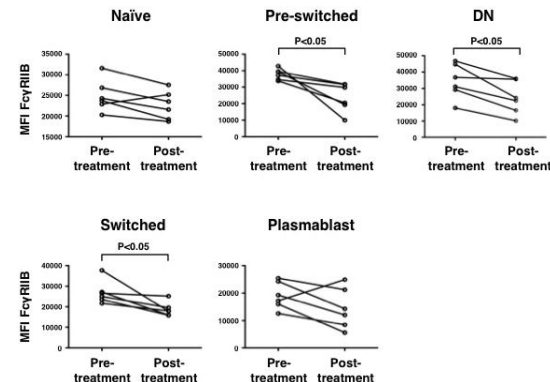
(4) 活性化マーカーの検討

Switched memory B 細胞と plasmablast における CD80 を除きすべての分画で SSc では健常コントロールにくらべ CD80、CD86、CD95 の発現が上昇していた。また、間質性肺炎を合併していた群では非合併群に比べ、pre-switched memory B 細胞上の CD80、DN memory B 細胞上の CD95、switched memory B 細胞上の CD86 の発現が上昇していた。



(5) シクロフォスファミドパルス療法による FcγR 発現の検討

6 例の SSc 患者を対象に、シクロフォスファミドパルス療法前後で FcγR 発現を検討した。Pre-switched memory B 細胞、DN memory B 細胞、switched memory B 細胞における FcγR 発現は低下した。



(6) プレオマイシン誘発マウス線維化モデルにおける検討
FcγRIIB^{-/-}マウスでは野生型マウスに比べプレオマイシンによって誘導された線維化は有意に増悪していた。

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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱口 儒人 (HAMAGUCHI YASUHIITO)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：60420329

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

該当なし