

	かねこ うたこ
氏 名	金子 詩子
学 位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博(医)第200号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Increased mutations of CD72 transcript in B-lymphocytes from adolescent patients with systemic lupus erythematosus (全身性エリテマトーデス患児 B 細胞における CD72 発現異常)
論文審査委員	主査 教授 安保 徹 副査 教授 内山 聖 副査 教授 下條 文武

博士論文の要旨

<目的>全身性エリテマトーデス (SLE) は多彩な自己抗体産生を特徴とする疾患で、遺伝および環境要因によって広範な免疫担当細胞に異常が生じる結果、炎症や臓器障害を起こすと考えられている。B 細胞の異常活性化は、自己反応性 T 細胞によって起こるだけでなく、B 細胞自体に内因性の異常 (B 細胞抗原受容体 (BCR) シグナル伝達異常) が存在することが近年報告されている。B 細胞活性化に関与する分子のうち、CD72 は C 型レクチンファミリーに属する 45kDa の II 型膜蛋白質で、形質細胞を除くほとんどの B 細胞に特異的に発現している。細胞内領域に存在する抑制性レセプターである immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif (ITIM) が BCR の架橋によりリン酸化され、SHP-1 を介して B 細胞の活性化を負に制御している。こうして B 細胞の活性化の閾値が設定され、異常活性化や自己抗体産生が阻害されている。したがって、CD72 の異常は B 細胞の異常活性化につながると推測される。

本研究では SLE における B 細胞異常活性化と CD72 の関連を明らかにするために、SLE における CD72 分子の発現について解析した。

<方法> SLE 患児 9 人と健常児 10 人の末梢血リンパ球を分離し、フローサイトメトリーを用いて B 細胞における CD72 の発現を検討した。また CD72cDNA をクローニングし、一人につき約 10 クローンの遺伝子配列を解析し、点変異、欠失、挿入等の遺伝子異常の有無とその頻度を検討した。また、これらの遺伝子異常がゲノムのレベルで生じたものか、転写レベルで生じたものかを解析するために、CD72 ゲノムについても遺伝子配列を調べた。

<結果> B 細胞上の CD72 の発現は健常児に比し SLE 患児で低下していた。また、SLE 患児の CD72 mRNA では 95.6%のクローンに変異を認め、中でも欠失と一塩基置換が増加していた。最も多く (40.0%) みられたクローンは 4 箇所の一塩基置換と exon4 に 17 塩基の欠失を認めた。4 箇所の一塩基置換のうち 3 箇所がアデニンからグアニンへの置換で、そのうちの一つは ITIM 近傍に位置していた。このクローンは異なる複数の SLE 患児から得られ、健常児では存在しなかった。さらにこれらの一塩基置換はゲノムには存在せず、転写以降の異常によるものと考えられた。また、SLE 患児に認めた全ての一塩基置換の中で、アデニンからグアニンへの置換が 68.1%と著明に多くみられた。

<考察>SLE 患児において CD72 mRNA の変異が多く、蛋白の発現低下を認めたことから、SLE の B 細胞活性化の機序に CD72 の発現異常が関与していることが示唆された。さらに複数の患児に共通した異常クローンにおいて、ITIM の近傍に位置する一塩基置換が共通して存在したことより、BCR の負の制御の破綻との関連が疑われた。これまで、SLE 患児の NK 細胞におけるシグナル伝達分子 DAP-12 の発現低下と mRNA 発現異常を報告しており、さらに SLE の T 細胞においても数種類の分子に mRNA 発現異常が報告されている。今回の結果から、SLE 患児における mRNA 発現異常は T 細胞、NK 細胞と同様に B 細胞にも存在すると考えられた。SLE においてこのような広範な免疫担当分子の発現異常が起こる原因として、RNA editing の異常が考えられており、とくにアデニンからグアニンへの変換に関わる酵素 ADAR-1 (adenosine deaminases acting on RNA) の発現亢進が注目されている。これまでに SLE 患児の NK 細胞での ADAR-1 の発現亢進を報告しており、T 細胞でも同様の現象が報告されている。今回、SLE 患児の CD72 mRNA にアデニンからグアニンへの一塩基置換が際立って多くみられたことより、ADAR-1 の発現異常は B 細胞にも存在することが疑われた。SLE は広範な免疫担当細胞に異常を来す疾患だが、今回の研究から、その背後に RNA editing の異常という共通点があることが示唆され、複雑な病態解明に繋がることが期待される。

(論文審査の要旨)

本研究は、全身性エリテマトーデス(SLE)における B 細胞異常活性化と CD72 の関連を明らかにすることを目的とした。SLE 患児 9 人と健常児 10 人で検討した結果、B 細胞上の CD72 の発現は SLE 患児で低下していた。また、SLE 患児の CD72 mRNA は 95.6% のクローンに変異を認め、なかでも欠失と一塩基置換が増加していた。最も多く(40.0%)みられたクローンは 4 箇所の一塩基置換と exon4 に 17 塩基の欠失を認めた。4 箇所の一塩基置換のうち 3 箇所がアデニンからグアニンへの置換で、そのうちの一つは immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif (ITIM) 近傍に位置していた。このクローンは異なる複数の SLE 患児から得られ、健常児では存在しなかった。さらにこれらの一塩基置換はゲノムには存在せず、転写以降の異常によるものと考えられた。また、SLE 患児に認めた全ての一塩基置換の中で、アデニンからグアニンへの置換が 68.1% と著明に多かった。

以上、本研究は、SLE において CD72 の発現異常が B 細胞異常活性化に関与し、アデニンからグアニンへの変換に関わる酵素の発現異常が B 細胞にも存在することを明らかにした点に本論文の学位論文としての価値を認める。