

新任教員紹介

生命化学科・講師 黒田泰弘

略歴

1997.3 東海大学工学部工業化学科 卒業
1999.3 東海大学大学院工学研究科工業化学専攻博士課程前期 修了
2002.3 東海大学大学院工学研究科工業化学専攻博士課程後期 修了
2002.4 東海大学糖鎖工学研究施設 特定研究員
2005.4 独立行政法人 科学技術振興機構 研究員
2007.4 東海大学糖鎖科学研究所 特定研究員
2009.10 現職



担当科目

基礎化学，分析化学，入門ゼミナール，生化学実験，基礎化学実験，分析化学実験

研究活動内容

1. まえがき

近年，糖鎖研究の進展に伴い，糖鎖に着目した疾患研究が疾患の病因解明の有効な手段の一つとなりつつある。私は学生時代に糖鎖という視点から慢性関節リウマチ（rheumatoid arthritis, RA）を理解しようと試みた。学位を取得後も、免疫グロブリン G (IgG) の糖鎖構造異常という現象に着目し、シェーグレン症候群やウェルナー症候群など種々の疾患における糖鎖異常現象の病因的意義を検討してきた。本稿では、RA の発症や病態形成におけるガラクトース欠損 IgG の生理的意義について、これまでに得られた生化学的知見をもとにガラクトース欠損 IgG の病因的意義を概説する。

2. 研究概要

RA は、自己の免疫グロブリン G (IgG) の定常部位 (Fc) を認識する自己抗体であるリウマトイド因子 (RF) を産生し、慢性多発性関節炎を主な病状とする自己免疫疾患である。RF の抗原となる IgG は 2 本の重鎖と 2 本の軽鎖および Fc 部位に存在する二つの CH2 ドメインの Asn297 に結合した 2 本の N-グリコシド型糖鎖で構成される糖タンパク質である(図 1A)。これまでの研究から、IgG の糖鎖は図 1B に示すような一連の 2 本鎖複合型糖鎖を有していることが明らかになっている。この IgG の糖鎖は、IgG 分子の立体構造の維持や抗体がもつエフェクター機能の発現に重要な役割を果たしている。

一方、IgG 分子は RA 患者が産生する RF の反応相手であるので、RA 患者においては IgG 分子に何らかの構造異常が起きている可能性が考えられ、RA 患者 IgG の糖鎖構造の詳細な検討が行われた。その結果、RA 患者 IgG の糖鎖では健康人のそれと比べ構造的には変わらないものの、健康人 IgG 糖鎖に比べ非還元末端のガラクトースを欠損した糖鎖の割合が顕著に増加するという糖鎖構

造異常を起していることが明らかとなっている。さらに、RF を産生し RA 様の関節炎を発症する自己免疫疾患モデルマウスである MRL/lpr マウスの血清 IgG においてもガラクトースを欠損するというヒト RA 患者の IgG と同じ糖鎖構造異常が起きていることが示されている。これらの知見は、ガラクトースを欠損するという IgG の糖鎖構造異常が RA の発症と極めて密接に関連していることを示しており、RA の新たな診断基準としての有用性が認められている。しかし、この糖鎖構造異常が疾患の発症にどのように関係しているかという病因的意義については未だはっきりとしていない。そこで私は疾患モデルマウスを用いて IgG のガラクトース欠損と RA 様関節炎の発症の関係を検討した。

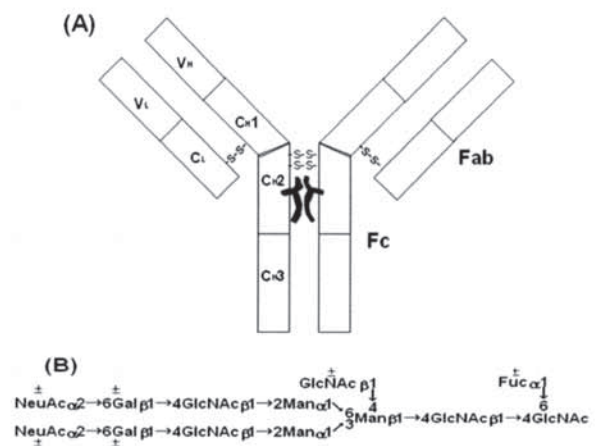


図 1 ヒト IgG の分子構造とその糖鎖構造
(A) ヒト IgG の分子構造、V:可変部位、C:定常部位
(B) ヒト IgG の糖鎖構造

本研究で用いた MRL/lpr マウスは、RA 患者と同様に RF を産生し RA 様の多発性関節炎を発症する自己免疫疾患モデルマウスである。更に関節炎を発症した MRL/lpr マウス

の血清 IgG の糖鎖は、RA 患者血清 IgG と同様の構造異常を起こしていることから、MRL/lpr マウスはヒト RA の発症および病態形成と IgG の糖鎖構造異常との関係を明らかにするために非常に優れたモデル動物といえる。MRL/lpr マウスにおける疾患発症の原因遺伝子と考えられている *lpr* 遺伝子は、Fas 抗原 (Fas) と Fas リガンド (FasL) を介したアポトーシスを仲介する Fas の欠損変異を誘導することが知られており、MRL マウスにおける関節炎発症は *lpr* 遺伝子によって著しく促進される。一方、FasL の点突然変異を誘導する *gld* 遺伝子を導入した MRL-*gld/gld* (MRL/*gld*) マウスも MRL/*lpr* マウスと同様に、RA 様関節炎を発症することが知られている。しかし生後まもない MRL/*lpr* マウスが *lpr* 遺伝子を持っているにも関わらず関節炎を発症しないことや、MRL マウスとは遺伝的背景の異なる C3H マウスや C57BL/6 マウスは *lpr* 遺伝子や *gld* 遺伝子を導入しても関節炎を発症しない。そこで私は、MRL/*lpr* マウスをはじめ、*lpr* 遺伝子や *gld* 遺伝子を導入した種々のマウスや抗 CD4 モノクローナル抗体を MRL/*lpr* マウスに投与することで関節炎の発症を抑制したマウスの血清 IgG の糖鎖構造を解析し、関節炎発症とガラクトース欠損 IgG との関係を検討した。その結果、血清 IgG の糖鎖構造異常は、関節炎を発症していない C3H-*lpr/lpr*, C3H-*gld/gld*, C57BL/6-*lpr/lpr* マウスでは起きておらず、また、関節炎をまだ発症していない 6 週齢の MRL/*lpr* マウスにおいても糖鎖構造異常は認められなかった。それに対し、関節炎を発症した MRL/*lpr* や MRL/*gld* マウスでは IgG の糖鎖構造異常が起きていた。この結果は、ガラクトース欠損という IgG の糖鎖構造異常と RA 様関節炎の発症が Fas-FasL を介するアポトーシスの抑制という現象を介して強く相関していることを示している。非常に興味深いことに、抗 CD4 モノクローナル抗体を投与し関節炎の発症を抑制した MRL/*lpr* マウスでは、関節炎を発症した MRL/*lpr* マウスと同様に IgG の糖鎖構造異常を起こしていることが明らかになった。この事実は極めて重要であり、IgG 糖鎖のガラクトース欠損という糖鎖構造異常は関節炎の発症の結果として起きるのではないことを明確に物語っている。

さらに私は、関節炎を発症したマウスでは血清中の IgG 量が 2-10 倍増加しているという事実に着目してみた。関節炎を発症したマウスでは IgG のガラクトース欠損度が著しく高いため、血清中ではガラクトース欠損糖鎖をもつ IgG (ガラクトース欠損 IgG) の濃度も高いと考えられる。一方、関節炎の発症を抑制した抗 CD4 抗体処理 MRL/*lpr* マウスのガラクトース欠損 IgG の割合は関節炎を起こすマウスと同様に高い値を示すが、血清中 IgG の量は健常マウスと同程度あるいは低い値を示すため、血清中のガラクトース欠損 IgG の濃度は、健常マウスと同程度もしくは低いと考えられる。そこで、糖鎖のガラクトース欠損率に血清中 IgG 濃度を乗算した値をガラクトース欠損 IgG の血清中濃度のインデックスとして表し、関節炎の発症との関連性をみてみると、血清中のガラクトース欠損 IgG のインデックスは関節炎を発症するマウスだけで異常に高い値を示した (図 2)。すなわち、関節炎の発症が IgG 糖鎖のガラクトース欠損という糖鎖構造

異常に直接関連しているのではなく、血清中のガラクトース欠損 IgG の濃度に強く相関していることを示している。これらの RA 様関節炎を発症したマウスの血清中には RF が存在しており、ガラクトースを欠損した RF 活性の強い IgGRF が多量に存在していると考えられる。その結果、血清中に非常に強固な IgGRF-IgG 免疫複合体が多量に形成されると考えられる。一方、ガラクトース欠損 IgG は血清中に存在するマンノース結合レクチンと結合することができ、このレクチンとの結合を介して補体系を活性化することが可能であることが既に示されている。これらの知見を総合すれば、MRL/*lpr* や MRL/*gld* マウスでは過剰のガラクトース欠損 IgG およびその免疫複合体の存在が、レクチンを介した過剰の免疫反応を誘導し、これが原因となり関節炎の発症に至るというスキームを考えることが可能である。また、ヒト RA 患者においても関節炎を発症するこれらのモデルマウスと同様に血清中 IgG 濃度の増加と IgG のガラクトース欠損率の増大がみられることから、RA の発症や病態形成にも血清中のガラクトース欠損 IgG 濃度が重要であるかもしれない。

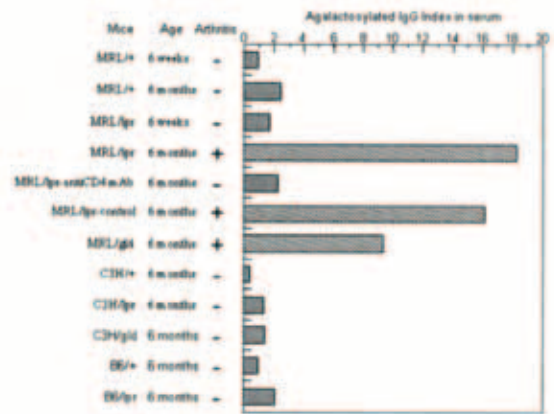


図 2 各マウス血清中における血清 IgG のガラクトース欠損糖鎖の割合と関節炎発症の有無

3. おわりに

RA の疾患活動性や病態形成に関与していると考えられているガラクトース欠損 IgG について RA 様の多発性関節炎を発症する自己免疫疾患マウスを用いて得られた生化学的知見から述べた。RA の疾患活動性や病態形成においてガラクトース欠損 IgG の存在がその原因の一つであると示唆されていたため、これまでではむしろガラクトースの欠損率が注目されてきた。しかし、モデルマウスから得られた結果は、血清中のガラクトース欠損 IgG の濃度が疾患の発症には重要であることを示していた。この点については、自己免疫疾患マウスで得られたものでありヒトに対して適用できるかどうかの検証が今後必要であろう。本稿で示したような指標、すなわちガラクトース欠損 IgG の血清中濃度や IgGRF のガラクトース欠損度およびその血清中濃度を測定することが RA の発症や病態形成を予測する糸口になるものと期待される。