

最新の免疫異常からみた関節リウマチの発症機序

九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科

塚本 浩

(2016年 第17回博多リウマチセミナー)

はじめに

関節リウマチ(Rheumatoid arthritis: RA)は代表的な自己免疫疾患であり、遺伝要因と環境要因が複雑に関与する。RAの発症機序については未だ十分には解明されていないが、近年多くの知見が得られた。抗シトルリン化蛋白抗体(anti-citrullinated protein antibody: ACPA)は様々なシトルリン化蛋白に対する自己抗体の総称であり、臨床で用いられているのは抗cyclic citrullinated peptide(CCP)抗体である。抗CCP抗体はRAの診断において有用で、2010年に改訂されたACR/EULARのRA分類基準にも取り入れられている¹⁾。一方、関節炎の発症に先立って数年前から血清中にACPAが出現する事が明らかになり²⁾、RA発症におけるACPAの関与が示唆されている。また近年、抗peptidyl arginine deiminase (PAD)4抗体、抗カルバミル化蛋白抗体(anti-carbamylated protein antibody: 抗CarP抗体)などの新たな自己抗体も同定され注目されている。今回、自己抗体を中心に免疫学的に見た最新のRAの発症機序について概説する。

1. RAの発症、病態形成におけるACPAの役割

ACPAの炎症滑膜における対応抗原としてはシトルリン化されたビメンチン、II型コラーゲン、フィブリノーゲン、プラスミノゲン、BiP (immunoglobulin binding protein)、 α -エノラーゼなどが報告されている³⁻⁵⁾。それぞれのシトルリン化蛋白に反応する抗体はRAの30-60%に出現する事がわかっており、また一部に交差反応性が認められる⁶⁾。ACPAのアイソタイプとしては通常測定されるIgGの他にIgM、IgA、IgEが存在し、IgGと同様高い特異度が報告されている⁷⁾。このように実際に存在するACPAには多様な抗体が含まれている。ACPAはRAの発症の約5年前より出現するが、発症の時期が近づくにつれ抗体価や対応抗原、アイソタイプの種類が増加する⁸⁾。最近、発症の時期が近づくにつれFc部分糖鎖内のガラクトースの含有量が減少し、Fコースの含有量が増加することが報告された⁹⁾。

RAにおける遺伝要因については、近年ゲノムワイド関連解析の手法が導入され、数多くの疾患感受性遺伝子が報告された¹⁰⁾。その多くはリンパ球機能や抗原提示能に関連する遺伝子等で免疫が発症において重要な役割を果たしていることを示している。特にRAに関して強い関連を示しているのはHLA-DR抗原の β 鎖をコードするHLA-DRB1の対立遺伝子*0101、0401、0404、0405等であり、これらでは超可変領域に相当する第70~74残基がQ/KRRAAという共通のアミノ酸配列(shared epitope: SE)であることが示された¹¹⁾。この部分はHLA-DR分子の抗原提示における抗原と結合するポケット形成に関する部分である。興味深い事にRAをACPA陽性群と陰性群に分けるとSEとの関連を示すのはACPA陽性群のみである¹²⁾。また、RAの代表的リスク因子である喫煙についても関連があるのは、ACPA陽性群のみである¹³⁾。喫煙者の気管支洗浄液中にシトルリン化蛋白が存在する事などより、喫煙はPADによる気道粘膜蛋白のシトルリン化を促進することが示された¹⁴⁾。また、歯周病の原因菌である*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)はPADを発現し、ヒト由来の α -エノラーゼやフィブリノーゲンをシトルリン化すると報告されている¹⁵⁾。シトルリン化された自己抗原はSEを含むHLA-DR分子によって抗原提示され、ACPA産生に関与していると考えられる。ビメンチン由来のペプチドはシトルリン化によりSEを有するHLA-DR分子との親和性が高くなり、T細胞により強いシグナルが誘導されることが報告されている¹⁶⁾。

ACPAの病原性について、動物モデルにおいてACPAとしてシトルリン化フィブリノーゲンに対するモノクローナル抗体をマウスに投与した実験では、ACPA投与によりコラーゲン関節炎の増悪が認められた。しかし、ACPA投与のみでは関節炎の誘導能はなく関節炎誘導後においてのみ増強効果が現れる事より、関節炎の発症にはACPAの存在に加えて、関節内でのシトルリン化蛋白の誘導が必要である事が示唆された¹⁷⁾。

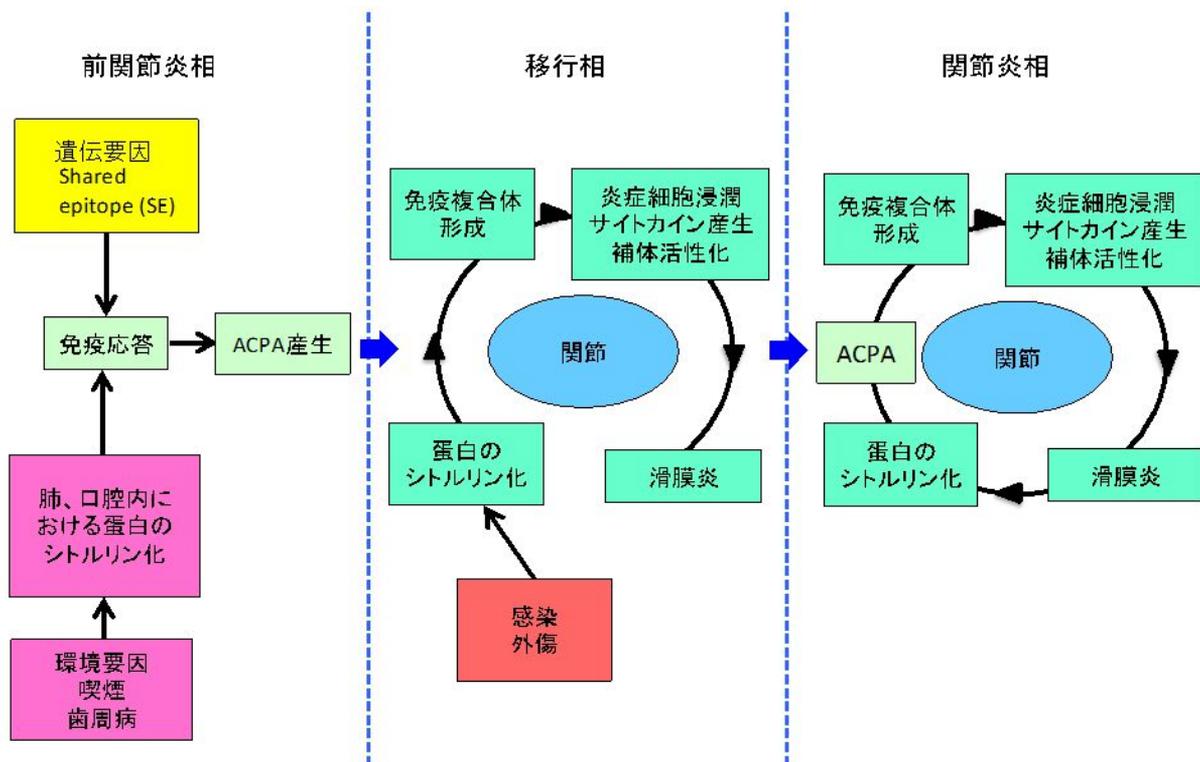


図. ACPAによるRA発症仮説

ACPAがRAの発症前より認められることから、免疫異常はRAの発症前より起こっていると考えられる。このようなことから病態形成において、RA発症前の免疫異常を示す“前関節炎相”、病態が関節に移行する“移行相”、関節炎が慢性化する“関節炎相”のように推移する可能性がある(図)。“前関節炎相”では喫煙や歯周病によりシトルリン化された蛋白に対して、SEを有する個人が免疫応答を起こしてACPAを産生する。正常の滑膜ではシトルリン化蛋白は存在しないが、感染や外傷等により関節内滑膜組織でPADの発現が亢進し蛋白のシトルリン化が誘導されると、ACPAが結合して免疫複合体を形成し、補体系の活性化やFc受容体を介したマクロファージからのTNF- α 産生などにより関節炎が惹起される(移行相)。一度関節炎が起こると関節炎自体で蛋白のシトルリン化が誘導されるため、シトルリン化蛋白が関節内に蓄積し、炎症が持続する(関節炎相)。ACPAはさらに破骨細胞前駆細胞上に発現するシトルリン化ビメンチンに結合し、破骨細胞への分化を誘導することにより関節破壊に関与する¹⁸⁾。

2. リウマトイド因子

ACPAとリウマトイド因子(rheumatoid factor: RF)がともに陽性の患者はともに陰性、あるいは単独陽性の患者に比較し、関節破壊が進行しやすいと報告されている¹⁹⁾。RFは免疫グロブリンのFc部分に対する自己抗体であるため、ACPAと免疫複合体を形成することが想定される。ヒトマクロファージを用いた実験系では、IgM RFはACPAによるマクロファージからのTNF- α などの炎症性サイトカインの産生を増強すると報告されている²⁰⁾。

3. Neutrophil extracellular traps (NETs)とACPA

NETsとは細菌感染等によって活性化した好中球が殺菌を目的に放出するDNA、顆粒蛋白を含む網目状の構造物のことである。NETsが放出される現象はNETosisと呼ばれ、この過程にはPAD4によるヒストンのシトルリン化が重要であることが示されている²¹⁾。NETsはさまざまな物質で構成されているが、この中には豊富なシトルリン化抗原(ヒストン、ビメンチン、 α エノラーゼ等)が含まれる²²⁾。一方、ACPAやRF、炎症性サイトカイン(TNF- α 等)はNETosisを誘導する²³⁾。さらにRA患者のACPAがNETs由来のシトルリン化ヒストンやビメンチンを対応抗原と

していることやRA患者血液や滑液由来の好中球におけるNETosisの亢進とACPAの抗体価が相関することが報告されている^{22,23)}。以上よりRAにおいてACPAにより誘導されたNETosisによりシトルリン化抗原が供給され、ACPA産生及び関節炎の促進と維持に役割を果たしていると考えられる。

4. 抗PAD4抗体

*PADI4*はPAD4蛋白をコードする遺伝子で本邦よりRAのnon-MHC遺伝子の疾患感受性遺伝子として初めて報告された²⁴⁾。*PADI4*のRA感受性ハプロタイプでは非感受性ハプロタイプに比してmRNAの安定性が増していることから、RA感受性ハプロタイプを有する群ではPAD4の発現が増加することによりシトルリン化の促進につながる。抗PAD4抗体は新しい自己抗体で、RAにおける陽性率は約26%であり、18%はRA発症前から陽性となっている²⁵⁾。抗PAD4抗体の中にはPAD3と交差反応性を有するサブセットがあり(抗PAD3/4抗体)、この抗PAD3/4抗体はPAD4の活性を高める作用を有することが明らかになった²⁶⁾。また、抗PAD3/4抗体陽性のRA患者は関節破壊が進行しやすいことも報告された。以上のように、抗PAD3/4抗体は蛋白のシトルリン化を促進することにより、RAの病態形成に関わっている可能性がある。

5. 抗カルバミル化蛋白抗体(anti-carbamylated protein antibody: 抗CarP抗体)

カルバミル化はタンパク質の翻訳後修飾の一つで、シアン酸塩によりリジン残基がホモシトルリン残基に変換される²⁸⁾。生理的条件下ではシアン酸塩は少量しか存在しないためカルバミル化は起こらないが、炎症部位では過酸化水素の存在下、ミエロペルオキシダーゼによりチオシアン酸塩がシアン酸塩に変換されることにより、カルバミル化が促進される。抗CarP抗体は新しい自己抗体で、RAにおける陽性率は約45%であるが、特にACPA陰性RAで16%陽性となるため注目されている²⁷⁾。ホモシトルリン残基はシトルリン残基と構造が類似しているがACPAはカルバミル化蛋白に結合しない。ACPA陰性RAの中で抗CarP抗体陽性患者は抗CarP抗体陰性患者に比べ、関節破壊が進行しやすいと報告されている²⁸⁾。RAの病態形成における抗CarP抗体の役割はまだ明らかになっていないが、ACPAと同様の役割を果たしている可能性がある。

おわりに

免疫学的な観点から、ACPAを中心としたRAの発症機序について述べた。RF、NETsや抗PAD4抗体は促進因子である。新しく同定された抗CarP抗体の研究が進み、抗CarP抗体のRAの病態形成における役割が明らかになることが期待される。また、発症機序が明らかになることにより、これを踏まえた治療法の開発が望まれる。

文献

- 1) Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010;62:2569-81.
- 2) Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004;50:380-6.
- 3) Vossenaar ER, Despres N, Lapointe E, et al. Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. *Arthritis Res Ther* 2004;6:R142-50.
- 4) Kinloch A, Tatzler V, Wait R, et al. Identification of citrullinated alpha-enolase as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R1421-9.
- 5) Shoda H, Fujio K, Shibuya M, et al. Detection of autoantibodies to citrullinated BiP in rheumatoid arthritis patients and pro-inflammatory role of citrullinated BiP in collagen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther* 2011;13:R191.
- 6) Willemze A, Bohringer S, Knevel R, et al. The ACPA recognition profile and subgrouping of ACPA-positive RA patients. *Ann Rheum Dis* 2012;71:268-74.
- 7) Ioan-Facsinay A, Willemze A, Robinson DB, et al. Marked differences in fine specificity and isotype usage of the anti-citrullinated protein antibody in health and disease. *Arthritis Rheum* 2008;58:3000-8.
- 8) Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48:2741-9.

- 9) Rombouts Y, Willemze A, van Beers JJ, et al: Extensive glycosylation of ACPA-IgG variable domains modulates binding to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2015. (epub)
- 10) Yamamoto K, Okada Y, Suzuki A, et al: Genetics of rheumatoid arthritis in Asia--present and future. *Nat Rev Rheumatol* 2015; 11:375-9.
- 11) Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987;30:1205-13.
- 12) Huizinga TW, Amos CI, van der Helm-van Mil AH, et al. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum* 2005;52:3433-8.
- 13) Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006;54:38-46.
- 14) Willis VC, Demoruelle MK, Derber LA, et al. Sputum autoantibodies in patients with established rheumatoid arthritis and subjects at risk of future clinically apparent disease. *Arthritis Rheum* 2013;65:2545-54.
- 15) Kinloch AJ, Alzabin S, Brintnell W, et al. Immunization with *Porphyromonas gingivalis* enolase induces autoimmunity to mammalian alpha-enolase and arthritis in DR4-IE-transgenic mice. *Arthritis Rheum* 2011;63:3818-23.
- 16) Hill JA, Southwood S, Sette A, et al. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1*0401 MHC class II molecule. *J Immunol* 2003;171:538-41.
- 17) Kuhn KA, Kulik L, Tomooka B, et al. Antibodies against citrullinated proteins enhance tissue injury in experimental autoimmune arthritis. *J Clin Invest* 2006;116:961-73.
- 18) Harre U, Georgess D, Bang H, et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest* 2012;122:1791-802.
- 19) Hecht C, Englbrecht M, Rech J, et al. Additive effect of anti-citrullinated protein antibodies and rheumatoid factor on bone erosions in patients with RA. *Ann Rheum Dis* 2015;74:2151-6.
- 20) Laurent L, Anquetil F, Clavel C, et al. IgM rheumatoid factor amplifies the inflammatory response of macrophages induced by the rheumatoid arthritis-specific immune complexes containing anticitrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1425-31.
- 21) Li P, Li M, Lindberg MR, et al. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *J Exp Med* 2010;207:1853-62.
- 22) Pratesi F, Dioni I, Tommasi C, et al. Antibodies from patients with rheumatoid arthritis target citrullinated histone 4 contained in neutrophils extracellular traps. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1414-22.
- 23) Khandpur R, Carmona-Rivera C, Vivekanandan-Giri A, et al. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med* 2013;5:178ra40.
- 24) Suzuki A, Yamada R, Chang X, et al. Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2003;34:395-402.
- 25) Kolfenbach JR, Deane KD, Derber LA, et al. Autoimmunity to peptidyl arginine deiminase type 4 precedes clinical onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2010;62:2633-9.
- 26) Darrah E, Giles JT, Ols ML, et al. Erosive rheumatoid arthritis is associated with antibodies that activate PAD4 by increasing calcium sensitivity. *Sci Transl Med* 2013;5:186ra65.
- 27) Shi J, Knevel R, Suwannalai P, et al. Autoantibodies recognizing carbamylated proteins are present in sera of patients with rheumatoid arthritis and predict joint damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:17372-7.