総 説

特集：自己抗体の産生機序とその病原性

膠原病における抗核抗体の産生機序とその病原性

藤 井 隆 夫

The mechanisms of antinuclear antibody production and its pathogenicity in systemic autoimmune diseases

Takao FUJII

Department of Rheumatology, and Clinical Immunology Graduate School of Medicine, Kyoto University

(Received February 13, 2006)

summary

Genesis of antinuclear antibodies is one of the most important immunological abnormalities that are closely associated with clinical manifestations, disease activity, and prognosis of systemic autoimmune diseases. Previous reports indicated that autoreactive T cells have critical roles not only in antinuclear antibody production but also in organ damages. Recently, the possible molecules that are involved in the mechanism of antinuclear antibody production have been determined by using lupus-prone mice. Target treatment against the key molecules associated with autoreactive T cells and B cells may be the useful therapeutic strategy for systemic autoimmune diseases along with the suppression of disease-specific antinuclear antibody production.

Key words——antinuclear antibodies; systemic lupus erythematosus; autoreactive T cells; MRL/*lpr* mice

抄 録

抗核抗体を検出は、膠原病の診断、活動性あるいは予後評価をする上できわめて重要である。その産生には B 細胞のみならず自己反応性 T 細胞が重要で、それらの *cognate interaction* に関与する共刺激分子の調節により抗核抗体産生を制御できることが動物モデルで示されている。また特定の遺伝子をノックアウトすることで一部の抗核抗体の産生抑制が可能で、生体内における抗核抗体の病因的意義も示されてきた。しかしながらヒト全身性エリテマトーデスにおける数多くの抗核抗体の病因的意義はいまだ明確とはいえない。既存の治療法をこえる強力な病態制御には、疾患標識抗核抗体の産生に関与する分子を特異的なターゲットとし、抗核抗体のみならず自己反応性 T 細胞や B 細胞などを含めた包括的な制御がより効果的であると考えられる。

はじめに

自己抗体は、自己免疫疾患においてもっとも重要な免疫異常のひとつである。自己免疫性溶血性貧血や甲状腺自己免疫疾患、重症筋無力症などの臓器特異的自己免疫疾患では、それらの細胞や病態に関与する機能分子に対する自己抗体が検出され、その診断に関してきわめて有用な情報をもたらしているのと同時に、抗 TSH レセプター抗体のように病因的意義が明確になっているものもある。これらは臓器特異的な自己抗体で特徴づけられる臓器特異的自己免疫疾患 (organ-specific autoimmune disease) で

ある。一方、膠原病など全身性自己免疫疾患 (systemic autoimmune disease) では血清中に抗核抗体が高頻度に検出されるが、その抗核抗体発見の端緒となったのは Hargraves による LE 細胞の発見¹⁾である。その後つぎつぎと新しい抗核抗体が報告され²⁾、分子生物学の発展とも相まってその対応抗原が明らかとされた³⁾。抗核抗体が認識する対応抗原の CDNA が次々とクローニングされ、抗原蛋白の精製が容易になったため、現在では検査室で迅速に測定できる抗核抗体も少なくない。一方で高頻度に認められる抗核抗体についてはその臨床的意義も数多く検証され、抗核抗体の測定は膠原病におけるもっとも特異的な検査として世界的に定着した。このような抗核抗体に関する臨床研究の著しい進歩が、

リウマチ・膠原病学の進歩に大きく貢献していることは疑う余地がない。

近年では、その産生機序について患者検体のみならずループスモデルマウスを用いた詳細な検討で多くの知見が得られている。特に自己反応性 T 細胞の重要性や、T-B cognate interaction に関与する共刺激分子を抑制することで抗核抗体の産生が制御できることが示されている。今後同様の治療が患者に対して応用されていくと考えられるが、全身性エリテマトーデス (SLE) 患者における病原性が明確となっている抗核抗体は少なく、いかなる抗核抗体を標的とするかが問題となる。本稿では、膠原病におけるより特異的で強力な免疫抑制療法の開発に向けて、臨床の現場で特に遭遇することが多い抗 DNA 抗体と抗 U1RNP 抗体の病原性に関し、治療標的としての意義を考えてみる。

抗核抗体産生に関する免疫学的特徴

臨床的意義を有する抗核抗体の多くは表 1 にしめす免疫学的特徴を有する。これらの免疫学的特徴は、抗核抗体の産生において B 細胞のみならず T 細胞が密接に関与している可能性を示唆している^{4,5)}。ループスモデルマウスである MRL/Mp-*Fas^{lpr/lpr}* (MRL/*lpr*) マウスにおいて T 細胞を遺伝的に欠損した場合には抗核抗体の産生が認められず、ループス腎炎などの臨床症状が認められなくなる⁶⁾。これは MRL/*lpr* マウスにおいて抗核抗体の産生と病態の形成のために T 細胞が必須であることを示すが、必ずしも $\alpha\beta$ T 細胞が必須というわけではない。それは TCR- $\alpha^{-/-}$ 欠損 MRL/*lpr* マウスにおいても、抗 DNA 抗体の産生が認められ免疫複合体性腎炎 (ループス腎炎) の発症が認められることにより証明されている⁷⁾。すなわち、 $\gamma\delta$ T 細胞も $\alpha\beta$ T 細胞と同様、少なからず B 細胞からの抗核抗体の産生を刺激する機能を有していることを示唆する。なお、 $\gamma\delta$ T 細胞のみを欠損した MRL/*lpr* マウ

ス (TCR $\beta^{+/+}$ TCR $\delta^{-/-}$ MRL/*lpr* マウス) では野生型に比してもより強い病態を発現すること⁶⁾から、 $\gamma\delta$ T 細胞はむしろ抑制性 T 細胞としての機能が優位であると考えられている。一方、pigeon cytochrome *c* (PCC) に特異的に反応する TCR-T 細胞のみを有する MRL/*lpr* マウス (AND TCR transgenic TCR $\alpha^{-/-}$ TCR $\beta^{-/-}$ MRL/*lpr* マウス) では、抗 DNA 抗体の産生は明らかに認められるもののループス腎炎などの臓器病変は認められない⁸⁾。この場合 T 細胞から分泌されたサイトカインを介した bystander help による抗 DNA 抗体産生 B 細胞の非特異的な活性化と考えられている。また MRL/*lpr* マウスや NZB/NZW F1 マウスでは抗 CD40 リガンド (CD40L, CD154) 抗体によって抗 DNA 抗体の産生が抑制され、ループス腎炎が軽症化すること^{9,10)}から、T 細胞と B 細胞の cognate interaction (同一の抗原分子上の抗原決定基を認識する 2 種類の細胞間直接接触を必要とする相互作用) が病態形成に必要で、ループス様症状の発現 (あるいは病因的抗核抗体の産生刺激) には自己反応性 T 細胞が重要な役割を果たしていることが強く示唆される (図 1)。

自己反応性 T 細胞とトレランス

Mamula らは抗 RNP Ig トランスジェニック (2-12 Tg) マウスを作成し、ループスモデルマウスにおける自己反応性 T 細胞の存在を明らかにした¹¹⁾。彼らは正常 B10.A, B6 マウスおよび MRL/*lpr* マウスをバックグラウンドとし、抗 RNP Ig トランスジェニックマウスを作成したが、抗 RNP Ig トランスジェニック B10.A および B6 マウス血清中には抗 U1RNP 抗体は検出されずループス腎炎は発症しなかった。また同マウスから分離した T 細胞は、RNP Ig トランスジェニック B 細胞と反応しなかった。一方、MRL/*lpr* マウスをバックグラウンドとした場合には、血清中に抗 U1RNP 抗体が検出され、糸球体腎炎に加えて間質性病変の増悪を認めた。また彼らは抗 RNP Ig トランスジェニック B 細胞が認識する RNP D 蛋白に反応する T 細胞の存在も確認した。これらの結果から、正常マウスにおける自己反応性 B 細胞は、必ずしも自己反応性 T 細胞 (正常マウスにも存在する) を活性化することではなく、むしろそのトレランスを誘導することが示された。一方で MRL/*lpr* (autoimmune) バックグラウンドでは自己反応性 B 細胞は積極的に自己反

表 1 膠原病の病態と関連する抗核抗体の特徴

Oligoclonality
MHC class II-restricted
Isotype switching
Affinity maturation
High titer
Epitope spreading
Recognition of functional particles

図1 SLEの病態に関連する抗核抗体の産生機序

健常人あるいは正常マウスでは自己反応性 T 細胞はトレランス（免疫寛容）の状態となるのに対し、SLE や MRL/*lpr* マウスなど自己免疫疾患では自己反応性 T 細胞のトレランスが破綻し、B 細胞と *cognate interaction* により B 細胞は成熟分化し、形質細胞となって抗核抗体を産生する。また自己抗原の繰り返し刺激により、抗原親和性は高くなる。その結果、抗 DNA 抗体など疾患あるいは病態と関連する抗核抗体が産生される。抗原提示細胞としての B 細胞や樹状細胞の異常も関連すると考えられる。CD40 リガンド（CD40L, CD154）は B 細胞から分泌される免疫グロブリンのクラススイッチに必須の分子であり、特に SLE 患者では活性化している。

APC, antigen-presenting cells

応性 T 細胞を活性化する。すなわち、自己反応性 B 細胞はそのバックグラウンドにより自己反応性 T 細胞に及ぼす影響が異なるか、正常（non-autoimmune）では自己反応性 T 細胞を抑制する機序が存在する可能性が考えられる。後者に関しては、近年注目されている抑制性 T 細胞（CD4⁺CD25⁺ T 細胞）数が、SLE 患者において減少しているとする報告がある¹²⁾。一方でそれら制御機構を有していても自己反応性 T 細胞の異常によってそのトレランスが破綻してしまうことが知られている。その機序とし、自己反応性 B 細胞の関与¹³⁾、ループス CD4 陽性細胞による low affinity のペプチドに対する反応性亢進¹⁴⁾、また MRL/*lpr* マウスの CD4⁺CD25⁻ T 細胞は抑制性 T 細胞に対する反応性が弱いとする報告¹⁵⁾などがある。このような自己反応性 T 細胞の過剰増殖を制御する機構の再活性化（たとえば抑制性 T 細胞の活性化）により、病態に関連する T 細胞のトレランスを再度誘導することができれば、それは効果的な治療法の一つとなるであろう。

B 細胞トレランス破綻の機序

一方で B 細胞トレランスの破綻に関しても多くの知見がある。免疫グロブリンのクラススイッチに関して必須の分子である CD40L（CD154）を B 細胞表面上に異所性に発現させた正常マウス（B6 マ

ウス）では、抗 DNA 抗体の産生が認められ免疫複合体性腎炎が発症する¹⁶⁾。SLE 患者末梢血においては、T 細胞のみならず B 細胞表面上でも CD40L の発現が亢進していることが知られている^{17,18)}ことから、T-B *cognate interaction* に関与する共刺激分子の活性化はループス発症の引き金となる。また B 細胞にはエストロゲンレセプターが発現しているが、エストロゲンと反応することによって CD22 や SHP-1 の発現が亢進し、B 細胞のアポトーシスが抑制され、自己免疫疾患が発症する¹⁹⁾。この成績は、SLE 患者のほとんどが女性であることを支持する成績であり、B 細胞の異常増殖が自己免疫を誘導する可能性を示唆している。

近年ヒト SLE ではリツキシマブ（抗 CD20 モノクローナル抗体）を用いた B 細胞の特異的な除去によって症状が改善することが示されている²⁰⁾。興味深いのは、リツキシマブが B 細胞の除去とともに、SLE における活性化 T 細胞表面の CD40L 発現を制御している可能性がある点であろう。また CD20 は形質細胞には発現していないことから、リツキシマブは免疫グロブリン産生細胞を直接的に傷害するわけではない。むしろリツキシマブ使用により患者血清中の IgD⁺CD27⁻ B 細胞が再構築され²¹⁾、ヒト SLE においてトレランスが破綻しているとされる mature naïve B 細胞以降²²⁾が“リセッ

ト”される結果, 病態抑制に至った可能性が高い. このモノクローナル抗体による治療は, 抗核抗体や自己抗体の抑制というより, その産生に関与する細胞を包括的に抑制した治療といえるであろう. 今後さらに臨床治験が進むと考えられるが, リツキシマブにより抑制される症状・検査所見と, 抑制されない所見, あるいは抗核抗体のプロファイルを明らかにすることで SLE における免疫異常がより明確になると考えられる.

抗 DNA 抗体の病原性

比較的高頻度に認められ, かつ病原性を有する抗核抗体のひとつに抗 DNA 抗体がある. 高力価の抗 DNA 抗体は SLE, 特にループス腎炎に特異性が高くその抗体価は活動性と平行することが知られている. また SLE 患者の糸球体など傷害臓器から抗 DNA 抗体を溶出することが可能であり, 正常マウスに抗 DNA 抗体を投与することによってループス腎炎の誘導が可能であると考えられている²³⁾. しかしながら, 昨年 TLR (Toll-like receptor)-9 欠損マウスを用いた興味深いデータが報告された^{24,25)} (表 2). TLR は自然免疫に必須の分子で, 特に TLR-9 は B 細胞上に発現して CpG-DNA モチーフを認識し核酸に対するトレランスの破綻に関与する. CpG-DNA オリゴヌクレオチドを MRL/*lpr* マウスに投与すると, 抗 DNA 抗体の産生がより刺激され, ループス腎炎が増悪する²⁶⁾. 一方で TLR-9 を遺伝的に欠損した MRL/*lpr* マウスでは抗 U1RNP/Sm 抗体は産生されるが, 抗 DNA 抗体の産生は認められず, にもかかわらず免疫複合体性腎炎であるループス腎炎は野生型 MRL/*lpr* マウスと同様に発症した²⁴⁾. この結果は TLR-9 が抗 DNA 抗体の産生に必要であることと同時に, 抗 DNA 抗体がループス腎炎発症の必要条件ではないことを示唆してい

る. もちろんこの成績は必ずしも抗 DNA 抗体の病原性を否定するものではなく, 抗 U1RNP/Sm 抗体であってもその免疫複合体が腎障害を引き起こす可能性を示しているといえることができるであろう. 一方で, B 細胞表面のみに Ig が発現し, 分泌型 Ig を欠損させた MRL/*lpr* マウス (mIgM MRL/*lpr* マウス) では, 血清中の IgG は著しく低下し, 抗核抗体およびループス腎炎 (免疫複合体性腎炎) は抑制された²⁷⁾. しかし間質性腎炎や腎血管炎は認められ, これらにおいては T 細胞がより重要な役割を果たしている可能性が示唆された. また CD40L を遺伝的に欠損した MRL/*lpr* マウスでは抗 U1RNP/Sm 抗体の産生は認められるが, 抗 DNA 抗体の産生は全く認められずループス腎炎は抑制される⁹⁾. TLR-9 欠損マウスと同様の抗体プロファイルであるが, 表現型として認められる病態が異なることは興味深い. これらの成績は, 抗 DNA 抗体と抗 U1RNP/Sm 抗体の産生機序が明らかに異なり, 免疫複合体性腎炎の発症に CD40L 発現自己反応性 T 細胞が必要であることを示している. 前述したように, PCC-トランスジェニック MRL/*lpr* マウス (AND TCR transgenic TCR $\alpha^{-/-}$ TCR $\beta^{-/-}$ MRL/*lpr* マウス) では抗 DNA 抗体は陽性となるもののループス腎炎は発症しなかった⁸⁾. また C3H-*lpr* マウスでも抗 DNA 抗体の産生は認められるが, ループス腎炎の発症はない²⁸⁾. これらは, 抗体価やアフィニティーの問題はあるが, 抗 DNA 抗体単独の病原性に関して疑問を投げかける成績である. ヒト SLE では一部のサブクラスがより特異的な病態と関連するという報告がある²⁹⁾. これらは抗体機能の差異のみでなく, それらのサブクラスを誘導する自己反応性 Th1/Th2 細胞の差異により病態が規定されている可能性を示すデータともいえるであろう.

表 2 MRL/*lpr* マウスにおける抗核抗体とループス腎炎の関係

マウス*	抗 U1RNP/Sm 抗体	抗 DNA 抗体	ループス腎炎 (免疫複合体性腎炎)	報告/年
mIgM	—	—	±**	Chan OTM, <i>et al</i> /1999
CD40L $-/-$	+	—	—	Ma J, <i>et al</i> /1996
TLR9 $-/-$ ***	+	—	+	Christensen SR, <i>et al</i> /2005
AND TCR transgenic TCR $\alpha^{-/-}$ TCR $\beta^{-/-}$	±	+	—	Peng S, <i>et al</i> /1996

* 詳細は本文参照

** 間質性腎炎や血管炎の発症は認めたが, 糸球体病変は乏しかった.

*** TLR9 は, MRL/*lpr* マウスにおける抗 DNA 抗体やループス腎炎に対し, 抑制的に働くという報告²⁵⁾もある.

抗 DNA 抗体を標的とした治療の報告

抗 DNA 抗体は病因的な抗核抗体であると考え、抗 DNA 抗体の産生の抑制を目的とした治療法が古くから提案されてきた（表 3）^{30~38)}。抗 DNA 抗体それ自身を標的としたものもあるが、その産生に関わる T 細胞や B 細胞を制御するものも多い。このように抗 DNA 抗体の産生に関与する細胞を特異的に制御し、その産生機序に関わるプロセスを包括的に抑制することが最も有効性の高い治療と考えられる。使用する製剤とし、特異的な配列を有したペプチドの報告も多く、実用化が期待される³⁹⁾。EAE（実験的自己免疫性脳脊髄膜炎）で示された T 細胞ワクチネーションからヒト多発性硬化症におけるペプチド療法へと応用されているように、近い将来ヒト SLE においても新たな治療 strategy が生まれることを期待したい。

抗 U1RNP/Sm 抗体が関連する病態とその関与

抗 U1RNP 抗体は、SLE や混合性結合組織病（MCTD）をはじめ、強皮症、多発性筋炎・皮膚筋炎、関節リウマチ、シェーグレン症候群など数多くの疾患で検出される抗核抗体である。レイノー現象や白血球減少、無菌性髄膜炎、肺高血圧症などの臨床症状との関連が古くから示唆されてはいるが、血

清中抗 U1RNP 抗体そのものの病因的意義は乏しいと考えられている。一方、抗 Sm 抗体は、抗 DNA 抗体と同様 SLE の疾患標識抗核抗体であり、SLE にきわめて特異性が高く、遅発性腎症との関連⁴⁰⁾や中枢神経症状との関連⁴¹⁾が指摘されてきた。われわれは MCTD や SLE 患者において無菌性髄膜炎をはじめとした中枢神経症状（neuropsychiatric lupus）を呈する患者では血清中に抗 U1RNP 抗体が高頻度に見いだされること⁴²⁾に注目し、脳脊髄液（CSF）中の抗 U1RNP 抗体を測定した。興味深いことに、原病に関連した中枢神経症状の場合にのみ、CSF 中の抗 U1RNP 抗体が陽性となり、血清中に比し濃縮されていた。血清中の抗 U1RNP 抗体が強陽性であっても、薬剤性髄膜炎や、ステロイドや免疫抑制薬を増量することなく抗精神病薬のみでコントロールできた症例では陰性であった。さらに抗 U1RNP 抗体を U1RNP を構成する蛋白成分に対する抗体に分けて検討したところ、CSF においては、抗 A/C 抗体に比し抗 70 K 抗体の濃縮が著明であった。図 2 に、MCTD の再燃と同時に無菌性髄膜炎を発症し、IgG で補正した髄液中の抗 U1RNP 抗体が血清中に比し高値であり、その値が IgG index よりもよく中枢神経症状の活動性と平行した症例を示す。これらの臨床所見は、CSF 中の抗 U1RNP 抗体が neuropsychiatric lupus の診断あるいは活動性のよ

表 3 抗 DNA 抗体を標的としたループスモデルマウスの治療実験

モデルマウス	使用したペプチド・細胞	効 果	報告者/年
NZB/NZW F1	3 種類の V _H ペプチド混合（A6.1 V _H p34, p58, p84）	発症前投与で抗 DNA 抗体と腎症の抑制、生存率の向上 発症後投与は効果なし	Singh, <i>et al</i> /1995
抗 DNA 抗体（16/6Id）誘導ループス	pCDR1, pCDR3	抗 DNA 抗体の抑制	Waisman, <i>et al</i> /1997
SCID マウス	抗 DNA 抗体に結合するペプチド	Ig の腎沈着抑制	Gaynor, <i>et al</i> /1997
SWR/NZR F1	H2B ₁₀₋₃₃ , H4 ₁₆₋₃₉ , H4 ₇₁₋₉₄	発症前投与で腎症の抑制 発症後投与で生存率向上と腎症の悪化抑制	Kaliyaperumal, <i>et al</i> /1999
NZB/NZW F1	自然自己抗体の V _H CDR3	蛋白尿の抑制と生存率向上	Jouanne, <i>et al</i> /1999
NZB/NZW F1	抗 DNA 抗体投与により誘導される pCDR3	疾患の抑制	Eilat, <i>et al</i> /2000
NZB/NZW F1	Consensus V _H	抗 DNA 抗体と腎症の抑制 生存率向上	Hahn, <i>et al</i> /2000
MRL/ <i>lpr</i>	Ig に結合するペプチド（TG19320）	抗 DNA 抗体と腎症の抑制 生存率向上	Marino, <i>et al</i> /2000
NZB/NZW F1	ヌクレオゾーム特異的 TCR/CTLA4Ig 発現 T 細胞	抗ヌクレオゾーム/dsDNA/ヒストン抗体と腎症の抑制	Fujio, <i>et al</i> /2004

図2 脳脊髄液中に抗U1RNP抗体が検出され、IgGで補正した抗U1RNP抗体比（脳脊髄液と血清の比）が無菌性髄膜炎の活動性指標となった1例

2002年5月から頭痛と発熱が出現、当院受診時項部硬直をみとめた。D-Dimer高値をとともう血小板数の低下があり、MCTDの活動性に伴う無菌性髄膜炎とDICの合併と考え、ステロイドを増量した。脳脊髄液（CSF）中の蛋白および細胞数も上昇していたが、培養は陰性であった。非ステロイド抗炎症薬による無菌性髄膜炎も疑ったが被疑薬剤のリンパ球刺激試験はすべて陰性であった。プレドニゾロン（PSL）増量後、発熱と頭痛は速やかに消失し、血小板数も増加した。経過中2回CSFの採取を行ったが、急性期に（CSF/血清）-抗U1RNP抗体比が高く、CSF中で抗U1RNP抗体が濃縮されている可能性が考えられた。また治療後、同比は低下したが、本例ではIgG indexよりもよりよい指標であった。

い指標であること、かつ限られた病変局所において抗U1RNP抗体が病因的意義を持ちうる可能性を示唆している。

最近、アメリカ陸軍の保存血清をもちいて経時的に抗核抗体を検出した成績が報告された⁴³⁾。興味深いことに抗U1RNP抗体と抗Sm抗体は、他の抗核抗体あるいは自己抗体（抗DNA抗体、抗SSA/Ro抗体、抗SSB/La抗体、抗リン脂質抗体）に比べ、より臨床症状出現の直近（半年以内）で抗体が陽転化していた。この現象は抗核抗体の病原性を直接的に示すものではないが、他の抗核抗体が1～2年以上前から出現していることを考えると、抗U1RNP抗体や抗Sm抗体は疾患の発症を予測するマーカーとしては重要であると考えられる。

おわりに

TNF阻害療法をはじめとし、関節リウマチの治療は著しく進歩した。一方でSLEなど膠原病の治療は未だ非特異的な免疫抑制療法であり、感染症などの副反応が大きな問題になっている。SLE治療としてリツキシマブの有効性が示唆されているように、B細胞や活性化T細胞を標的としたより特異的な細胞レベルでの治療が今後考慮されるべきであ

ろう。そのためにも、いかなる抗核抗体を標的あるいはマーカーとするかが大切であり、抗核抗体のより詳細な産生機序や病原性を明らかにすることは膠原病診療において解決しなければいけない問題であると考えられる。

文 献

- 1) Hargraves MM, Richmond BS, Morton R: Presentation of two bone marrow elements: The "tart" cell and the "L.E." cell. *Proc Mayo Clin* 23: 25-28, 1948.
- 2) Tan EM: Antinuclear antibodies: Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol* 44: 93-151, 1989.
- 3) 三森経世: 抗核抗体研究の進歩—自己抗体が認識する核および細胞質蛋白の構造と機能—。リウマチ 32: 366-378, 1992.
- 4) Sclomchik, MJ, Craft J, Mamula MJ: From T to B and back again: Positive feedback in systemic autoimmune disease. *Nat Rev Immunol* 1: 147-153, 2001.
- 5) Craft J, Peng S, Fujii T, et al.: Autoreactive T cells in murine lupus. *Immunological Res* 19: 245-257, 1999.

- 6) Peng SL, Madaio MP, Hayday AC, et al. : Propagation and regulation of systemic autoimmunity by $\gamma\delta$ T cells. *J Immunol* **157** : 5689–5698, 1996.
- 7) Peng SL, Madaio MP, Hughes DPM, et al. : Murine lupus in the absence of $\alpha\beta$ T cells. *J Immunol* **156** : 4041–4049, 1996.
- 8) Peng SL, Fatenejad S, Craft J : Induction of nonpathogenic, humoral autoimmunity in lupus-prone mice by a class II-restricted, transgenic $\alpha\beta$ T cell. Separation of autoantigen-specific and -nonspecific help. *J Immunol* **157** : 5225–5230, 1996.
- 9) Ma J, Xu J, Madaio MP, et al. : Autoimmune *lpr/lpr* mice deficient in CD40 ligand. Spontaneous Ig class switching with dichotomy of autoantibody responses. *J Immunol* **157** : 417–426, 1996.
- 10) Early GS, Zhao W, Burns CM : Anti-CD40 ligand antibody treatment prevents the development of lupus-like nephritis in a subset of New Zealand Black x New Zealand White mice. Response correlates with the absence of an anti-antibody response. *J Immunol* **157** : 3159–3164, 1996.
- 11) Yan J, Mamula MJ : B and T cell tolerance and autoimmunity in autoantibody transgenic mice. *Int Immunol* **14** : 963–971, 2002.
- 12) Crispin JC, Martinez A, Alcocer-Varela, J : Quantification of regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* **21** : 273–276, 2003.
- 13) Lin R-H, Mamula MJ, Hardin JA, et al. : Induction of autoreactive B cells allows priming of autoreactive T cells. *J Exp Med* **173** : 1433–1439, 1991.
- 14) Vratsanos GS, Jung S, Park Y-M, et al. : CD4⁺ T cells from lupus-prone mice are hypertensive to T cell receptor engagement with low and high affinity peptide antigens : A model to explain spontaneous T cell activation in lupus. *J Exp Med* **193** : 329–337, 2001.
- 15) Monk CR, Spachidou M, Rovis F, et al. : MRL/Mp CD4⁺, CD25[−] T cells show reduced sensitivity to suppression by CD4⁺, CD25⁺ regulatory T cells in vitro. A novel defect of T cell regulation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **52** : 1180–1184, 2005.
- 16) Higuchi T, Aiba Y, Nomura T, et al. : Cutting edge : Ectopic expression of CD40 ligand on B cells induces lupus-like autoimmune disease. *J Immunol* **168** : 9–12, 2002.
- 17) Dasai-Mehta A, Lu L, Ramsey-Goldman, R, et al. : Hyperexpression of CD40 ligand by B and T cells in human lupus and its role in pathogenic autoantibody production. *J Clin Invest* **97** : 2063–2073, 1996.
- 18) Koshy M, Crow MK : Increased expression of CD40 ligand on systemic lupus erythematosus lymphocytes. *J Clin Invest* **98** : 826–837, 1996.
- 19) Grimaldi CM, Hicks R, Diamond B : B cell selection and susceptibility to autoimmunity. *J Immunol* **174** : 1775–1781, 2005.
- 20) Sfikakis PP, Boletis JN, Lionaki S, et al. : Remission of proliferative lupus nephritis following B cell depletion therapy is preceded by down-regulation of T cell costimulatory molecule CD40 ligand. An open-labeled trial. *Arthritis Rheum* **52** : 501–513, 2005.
- 21) Anolik JH, Barnard J, Cappione A, et al. : Rituximab improves peripheral B cell abnormalities in human systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **50** : 3580–3590, 2004.
- 22) Yurasov S, Wardemann H, Hammersen J, et al. : Defective B cell tolerance checkpoints in systemic lupus erythematosus. *J Exp Med* **201** : 703–711, 2005.
- 23) Harn BH : Antibodies to DNA. *N Engl J Med* **338** : 1359–1368, 1998.
- 24) Christensen SR, Kashgarian M, Alexopoulou L, et al. : Toll-like receptor 9 controls anti-DNA autoantibody production in murine lupus. *J Exp Med* **202** : 321–331, 2005.
- 25) Wu X, Peng SL : Toll-like receptor 9 signaling protects against murine lupus. *Arthritis Rheum* **54** : 336–342, 2006.
- 26) Anders H-J, Vielhauer V, Eis V, et al. : Activation of toll-like receptor-9 induces progression of renal disease in MRL-Fas (*lpr*) mice. *FASEB J* **18** : 534–536, 2004.
- 27) Chan OTM, Hannum LG, Haberman AM, et al. : A novel mouse with B cells but lacking serum antibody reveals an antibody-independent role for B cells in murine lupus. *J Exp Med* **189** : 1639–1647, 1999.
- 28) Izui S, Kelly VE, Masuda K, et al. : Induction of various autoantibodies by mutant gene *lpr* in several strains of mice. *J Immunol* **133** : 227–233, 1984.
- 29) Bijl N, Dijkstra-Hoogstraaten HM, Oost WW, et al. : IgG subclass distribution of autoantibodies differs between renal and extra-renal relapses in

- patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* **41** : 62–67, 2002.
- 30) Singh RR, Ebling FM, Sercarz EE, et al. : Immune tolerance to autoantibody-derived peptides delays development of autoimmunity in murine lupus. *J Clin Invest* **96** : 2990–2996, 1995.
- 31) Waisman A, Ruiz PJ, Israeli E, et al. : Modulation of murine systemic lupus erythematosus with peptides based on complementarity determining regions of a pathogenic anti-DNA monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* **94** : 4620–4625, 1997.
- 32) Gaynor B, Putterman C, Valadon P, et al. : peptide inhibition of glomerular deposition of an anti-DNA antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* **94** : 1955–1960, 1997.
- 33) Kaliyaperumal A, Michaeles MA, Datta SK : Antigen-specific therapy of murine lupus nephritis using nucleosomal peptides : Tolerance spreading impairs pathogenic function of autoimmune T and B cells. *J Immunol* **162** : 5775–5783, 1999.
- 34) Jouanne C, Avrameas S, Payelle-Brogard B : A peptide derived from a polyreactive monoclonal anti-DNA natural antibody can modulate lupus development in (NZB x NZW) F1 mice. *Immunology* **96** : 333–339, 1999.
- 35) Eilat E, Dayan M, Zinger H, et al. : The mechanism by which a peptide based on complementarity-determining region-1 of a pathogenic anti-DNA auto-Ab ameliorates experimental systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA* **98** : 1148–1153, 2001.
- 36) Harn BH, Singh RR, Wong WK, et al. : Treatment with a consensus peptide based on amino acid sequences in autoantibodies prevents T cell activation by autoantigens and delays disease onset in murine lupus. *Arthritis Rheum* **44** : 432–441, 2001.
- 37) Marino M, Ruvo M, De Falco S, et al. : Prevention of systemic lupus erythematosus in MRL/lpr mice by administration of an immunoglobulin-binding peptide. *Nat Biotechnol* **18** : 735–739, 2000.
- 38) Fujio K, Okamoto A, Tahara H, et al. : Nucleosome-specific regulatory T cells engineered by triple gene transfer suppress a systemic autoimmune disease. *J Immunol* **173** : 2118–2125, 2004.
- 39) Singh RR : The potential use of peptides and vaccination to treat systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* **12** : 399–406, 2000.
- 40) Homma M, Mimori T, Takeda Y, et al. : Autoantibodies to the Sm antigen : Immunological approach to clinical aspects of systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* **14** : 188–193, 1987.
- 41) Yasuma M, Takasaki Y, Matsumoto K, et al. : Clinical significance of IgG anti-Sm antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* **17** : 469–475, 1990.
- 42) Okada J, Hamana T, Kondo H : Anti-U1RNP antibody and aseptic meningitis in connective tissue diseases. *Scand J Rheumatol* **32** : 247–252, 2003.
- 43) Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, et al. : Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* **349** : 1526–1533, 2003.