総 説

関節リウマチにおける ACPA の病原性について

梅田直人^{*1,2}, 松本 功^{*2}, 住田孝之^{*2}

The pathogenic role of ACPA in rheumatoid arthritis

Naoto UMEDA^{*1,2}, Isao MATSUMOTO^{*2} and Takayuki SUMIDA^{*2}^{*1}Department of Rheumatology, Tsuchiura Kyodo General Hospital^{*2}Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

(Accepted October 2, 2017)

summary

In rheumatoid arthritis (RA), ACPA (anti-citrullinated protein/peptide antibody) is elevated with high specificity, and clinically, anti-CCP (cyclic citrullinated peptide) antibody is widely used for diagnosis of RA. It is thought ACPAs are produced with genetic background such as HLA-DR, environmental factors such as periodontal disease and smoking, however, the pathogenic role of ACPA in RA has not been elucidated. These were showed immune complexes including ACPA or ACPA itself promoted inflammatory cytokine production such as TNF. PADs (peptidylarginine deiminases) were expressed and citrullinated proteins existed in RA synovium. ACPAs were deposited on the site of citrulline in CD68 positive cells of RA synovium. The damage of bone and cartilage is observed in RA. It was also suggested that deposition of ACPAs caused osteoclastogenesis and bone loss. We introduce several findings about the pathogenic role of ACPA in RA.

Key words——rheumatoid arthritis; anti-citrullinated protein/peptide antibody (ACPA); peptidylarginine deiminase (PAD); synovium

抄 録

関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA) では ACPA (anti-citrullinated protein/peptide antibody) が特異度高く上昇しており、臨床では抗 CCP (cyclic citrullinated peptides) 抗体が RA の診断において汎用されている。ACPA は HLA-DR などの遺伝的背景に、歯周病や喫煙などの環境要因が重なり産生されることが考えられているが、産生された ACPA が RA の病態にどのように関わるかはまだ十分に解明されていない。近年、ACPA または ACPA を含む免疫複合体が TNF などの炎症性サイトカイン産生を促進することが示された。また、RA 滑膜では PAD (peptidylarginine deiminase) が発現しており、シトルリン化蛋白が存在し、ACPA が RA 滑膜の CD68 陽性細胞のシトルリン発現部位に沈着することから、関節局所での炎症反応に ACPA が関与していることが示唆された。さらに RA では骨・軟骨の破壊を認めるが、ACPA の沈着により破骨細胞形成が促進され骨量低下を引き起こすことも示されている。本稿ではこれまでに報告されてきた ACPA の病原性について概説する。

1. はじめに

関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA) は滑膜を炎症の首座とする自己免疫疾患で、臨床で汎用されている抗 CCP (cyclic citrullinated peptides) 抗体などの“ACPA (anti-citrullinated protein/peptide antibody)”が特異度高く上昇することが知られている¹⁾。ACPA は遺伝的背景に歯周病や喫煙などの環境要因が重なり産生されることが考えられ、ACPA が関節局所

で滑膜炎を誘導し悪化させるモデルが提唱されている (図 1)²⁾。ACPA の抗原としてはシトルリン化したフィラグリン、フィブリノーゲン、タイプ II コラーゲン、ビメンチン、 α エノラーゼ、グルコース 6 リン酸イソメラーゼ (GPI) など多くのものが知られており、多種類の ACPA が産生されているが、RA のプレクリニカルステージにおいて、ACPA が血清中から検出されるにも関わらず関節炎はまだ発症していないことが知られており^{3,4)}、産生された全ての ACPA が関節炎に関与しているとは考えにくい。一方で、多くの ACPA の中の一部が病原性に関与しているという報告が近年なされてきている。本稿

^{*1} 土浦協同病院リウマチ・膠原病内科^{*2} 筑波大学医学医療系内科 (膠原病・リウマチ・アレルギー)

図1 ACPA 産生と関節炎のモデル
von Venrooij WJ., et al. Arthritis Res Ther. 2014 より引用改変.

では関節リウマチにおける ACPA の産生とその病原性について概説したい。

2. ACPA の産生

ACPA については遺伝的背景と環境要因により自己免疫反応が起こり産生されることが想定されている。PAD はタンパク質のアミノ酸配列中のアルギニンをシトルリンに変換する酵素で、ヒトでは PAD1, 2, 3, 4, 6 の5つのアイソフォームがある。タンパク質のアミノ酸配列中のアルギニンがシトルリンに変わるシトルリン化により、アミノ酸のチャージが変わって立体構造が変化する。

RA の関節炎と歯周病や喫煙は以前から関連が指摘されていたが、PAD によるシトルリン化と ACPA 産生を通してこれらの関連が裏付けられてきている。歯周病原菌のひとつ *Porphyromonas gingivalis* は PAD (PPAD) を有する細菌で、この *P. gingivalis* の感染した歯周組織においては細胞死に伴い細胞外に放出されたヒトの PAD と PPAD がカルシウムイオン濃度の高い環境で活性化し、細胞外蛋白のシトルリン化が起こると考えられている⁵⁾。また、感染などに対して neutrophil extracellular traps (NETs) が形成される際に、PAD4 によりシトルリン化されたヒストンなどの細胞外への放出が起こる⁶⁾。これらにより歯周組織ではシトルリン化蛋白が細胞外に多量に

存在するようになる。一方、肺組織でも同様に喫煙などの影響によりシトルリン化蛋白が多く生成されることが報告されている^{7,8)}。

細胞外のシトルリン化蛋白が抗原提示細胞に取り込まれ HLA クラス II を介して T 細胞に提示されるが、その際に HLA-DRB1 shared epitope と呼ばれる 70-74 番の共通アミノ酸配列 (⁷⁰QRRAA⁷⁴, ⁷⁰RRRAA⁷⁴ または ⁷⁰QKRAA⁷⁴) をもつ場合はシトルリン化ペプチドが結合ポケットに入りやすくなる⁹⁾。抗原として提示された HLA シトルリン化ペプチド複合体に反応する T 細胞が活性化すると、B 細胞から ACPA の産生が誘導される。ACPA は epitope spreading により次第に種類が増え¹⁰⁾、さらにシトルリン化抗原への avidity が増していくと考えられている¹¹⁾。

3. ACPA によるサイトカイン産生の促進

産生された ACPA はどのように炎症と関わるのだろうか。RA の関節炎では炎症性サイトカインが重要なファクターと考えられているが、ACPA そのもの、または ACPA を含む免疫複合体が炎症性サイトカイン産生を促進させるという報告がなされている。

配列が公表されている第1世代の CCP (ペプチド) をアフィニティーカラムに吸着させ、RA 患者血清を流して精製してきた抗 CCP 抗体と、健康人

図2 ACPA による PBMC からの TNF α 産生の促進
Lu MC., et al. Arthritis Rheum. 2010 から引用.

由来 PBMC を共培養したところ、TNF α 産生が促進された (図 2)¹²⁾。このメカニズムは細胞表面のシトルリン化 Grp78 に ACPA が結合し、ERK1/2 と JNK を介したシグナル伝達で NF- κ B が活性化されることによると報告されている¹³⁾。これは ACPA が直接単球・マクロファージの細胞表面に結合してサイトカイン産生を誘導するというものである。

一方、ACPA はシトルリン化抗原と免疫複合体を形成し、Fc レセプターを通して炎症性サイトカイン産生を促進するという報告もある。これは ACPA を含む免疫複合体と健常人由来マクロファージとの共培養で TNF α 産生が亢進するというもので、Fc γ レセプター IIa が主に関与している¹⁴⁾。さらに、同様に ACPA を含む免疫複合体と RA 患者由来または健常人由来単球・マクロファージを共培養した場合、TNF α 産生は両者で差がなかったという報告がある¹⁵⁾。これは単球・マクロファージといった細胞における RA と健常人の違いよりも、ACPA を含む免疫複合体の形成自体が TNF α 産生に影響を与えていることを示唆しており、ACPA が特異的に存在している RA ならではの反応と考えられる。リンパ組織などで産生された ACPA は関節内に移行し、そこでシトルリン化蛋白と結合して免疫複合体が形成されると単球・マクロファージ系の細胞から炎症性サイトカイン産生が誘導されるのかもしれない。

4. 滑膜への沈着

RA の関節炎の炎症の首座は滑膜であり、滑膜において ACPA がどのように炎症に関与しているのが重要となる。ACPA は血流によって滑膜組織に到達する他、滑液においても血中と同様に多量類

の ACPA が検出されており¹⁶⁾、滑液中に含まれる ACPA が滑膜表層部の細胞に直接作用している可能性がある。

関節滑膜に ACPA が沈着する場合、そこにシトルリン化蛋白が発現していると考えられるが、RA の滑膜組織切片を免疫染色で観察するとシトルリンの存在が示されている¹⁷⁾。また、RA 滑膜では PAD2, PAD4 の発現も確認されている¹⁸⁾。さらに、RA 滑膜のシトルリン発現部位に ACPA のひとつである抗 CCG-7 (citrullinated glucose-6-phosphate isomerase peptide-7) 抗体が co-incubation により沈着すること、沈着する細胞は主に CD68 陽性のマクロファージ系細胞であることが示された (図 3)¹⁹⁾。

5. 骨への影響

RA では骨と軟骨の破壊も生じるが、滑膜炎が波及して骨・軟骨が侵食されるだけでなく、早期から骨髄浮腫や骨びらん、骨粗鬆性変化が生じることが知られており、ACPA は骨の変化に影響を与えている可能性が示されている。

抗変異シトルリン化ビメンチン (MCV) 抗体は破骨細胞形成を促し、骨吸収を促進するという報告がされた。健常人の PBMC から単球を分離して破骨細胞条件で培養してできた破骨細胞に抗 MCV 抗体と共培養したところ、抗 MCV 抗体は破骨細胞表面に沈着し、破骨細胞の形成が促され、実験的な骨吸収が促進した (図 4)²⁰⁾。ACPA が直接的に骨破壊に関わっている可能性が示唆された。

6. おわりに

ACPA の病原性についてはまだ十分に解明されていないが、いくつかの知見が得られてきた。関節炎原性の強い ACPA が存在し炎症を引き起こすと考えられるが、どのような抗原に強く反応するのか、その抗原はどの細胞のどこに存在するのか分かれば、RA の関節炎メカニズムの理解につながると思われる。しかし、ACPA は多種類のシトルリン化抗原に cross reaction することも示されており²¹⁾、これはシトルリンを含む共通の構造を抗体が認識していることが想定されるが、この興味深い現象が ACPA の関節炎原性の解明を難しくしているともいえる。ACPA は単球・マクロファージ系の細胞に結合することが共培養や免疫染色で示されており、RA の関節炎や骨破壊に関与していると考えられる。さらなる病態解明の進展に期待したい。

図3 RA 滑膜への ACPA の沈着

A. 抗 CCG-7 抗体が RA 滑膜のシトルリンに一致して沈着する. B. 抗 CCG-7 抗体は主に CD68 陽性細胞に沈着する. Umeda N., et al. Mod Rheumatol. 2017 より引用.

図4 抗シトルリン化ピメンチン抗体による破骨細胞形成と骨吸収の促進
Harre U., et al. J Clin Invest. 2012 より引用.

文 献

- 1) Gerard, A., et al.: The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum.* **43**: 155–163, 2000.
- 2) von Venrooij W.J., et al.: How citrullination invaded rheumatoid arthritis research. *Arthritis Res Ther.* **16**: 103, 2014.
- 3) van de Stadt, L.A., et al.: Development of the anti-citrullinated protein antibody repertoire prior to the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* **63**: 3226–3233, 2011.
- 4) Brink, M., et al.: Multiplex analyses of antibodies against citrullinated peptides in individuals prior to development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* **65**: 899–910, 2013.
- 5) Koziel, J., et al.: The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: an updated review. *Curr Rheumatol Rep.* **16**: 408, 2014.
- 6) Li, P., et al.: PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *J Exp Med.* **207**: 1853–1862, 2010.
- 7) Klareskog, L., et al.: Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Semin Immunol.* **23**: 92–98, 2011.
- 8) Reynisdottir, G., et al.: Signs of immune activation and local inflammation are present in the bronchial tissue of patients with untreated early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* **75**: 1722–1727, 2016.
- 9) James, E.A., et al.: HLA-DR1001 presents “altered-self” peptides derived from joint-associated proteins by accepting citrulline in three of its binding pockets. *Arthritis Rheum.* **62**: 2909–2918, 2010.
- 10) van der Woude, D., et al.: Epitope spreading of the anti-citrullinated protein antibody response occurs before disease onset and is associated with the disease course of early arthritis. *Ann Rheum Dis.* **69**: 1554–1561, 2010.
- 11) Suwannalai, P., et al.: Avidity maturation of anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* **64**: 1323–1328, 2012.
- 12) Lu, M.C., et al.: Anti-citrullinated protein antibodies bind surface-expressed citrullinated Grp78 on monocyte/macrophages and stimulate tumor necrosis factor production. *Arthritis Rheum.* **62**: 1213–1223, 2010.
- 13) Lu, M.C., et al.: Anti-citrullinated protein antibodies activated ERK1/2 and JNK mitogen-activated protein kinases via binding to surface-expressed citrullinated GRP78 on mononuclear cells. *J Clin Immunol.* **33**: 558–566, 2013.
- 14) Clavel, C., et al.: Induction of macrophage secretion of tumor necrosis factor through Fc receptor IIa engagement by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated proteins complexed with fibrinogen. *Arthritis Rheum.* **58**: 678–688, 2008.
- 15) Laurent, L., et al.: Fcγ receptor profile of monocytes and macrophages from rheumatoid arthritis patients and their response to immune complexes formed with autoantibodies to citrullinated proteins. *Ann Rheum Dis.* **70**: 1052–1059, 2011.
- 16) Snir, O., et al.: Antibodies to several citrullinated antigens are enriched in the joints of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* **62**: 44–52, 2010.
- 17) Kinloch, A., et al.: Identification of citrullinated alpha-enolase as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* **7**: R1421–1429, 2005.
- 18) Foulquier, C., et al.: Peptidyl arginine deiminase type 2 (PAD-2) and PAD-4 but not PAD-1, PAD-3, and PAD-6 are expressed in rheumatoid arthritis synovium in close association with tissue inflammation. *Arthritis Rheum.* **56**: 3541–3553, 2007.
- 19) Umeda, N., et al.: Anti-cyclic citrullinated glucose-6-phosphate isomerase peptide-7 (CCG-7) antibodies were suppressed by biologics treatment and deposited to citrullinated proteins in CD68-positive cells in the RA synovium. *Mod Rheumatol.* **27**: 194–196, 2017.
- 20) Harre, U., et al.: Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest.* **122**: 1791–1802, 2012.
- 21) Trouw, L.A., et al.: Autoimmunity in rheumatoid arthritis: different antigens–common principles. *Ann Rheum Dis.* **72**: Suppl ii132–136, 2013.