学会賞受賞論文

 β 2-グリコプロテイン I /MHC クラス II 複合体が抗リン脂質抗体症候群の病態に関連する **β 2-glycoprotein I complexed with MHC class II molecules are involved in the pathogenesis of antiphospholipid syndrome**

谷村 憲司 a), b)、蝦名 康彦 b)、渥美 達也 c)、山田 秀人 b)、荒瀬 尚 a), d)

Kenji Tanimura, Yasuhiko Ebina, Tatsuya Atsumi, Hideto Yamada, Hisashi Arase

- a) 大阪大学 微生物病研究所 免疫化学分野
Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1
- b) 神戸大学 産科婦人科
Kobe University Graduate School of Medicine
〒650-0017 兵庫県神戸市中央区楠町 7-5-1
- c) 北海道大学 免疫・代謝内科学分野
Hokkaido University Graduate School of Medicine
〒060-8638 北海道札幌市北区北15条西-7
- d) 大阪大学 免疫学フロンティアセンター 免疫化学研究室
Immunology Frontier Research Center, Osaka University
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1

キーワード:抗リン脂質抗体、抗リン脂質抗体症候群 (APS)、自己抗体、 β 2-グリコプロテイン I (β 2GPI)、MHC class II***Corresponding author:**

谷村 憲司
Tel: 06-6879-8291
Fax: 06-6879-8290
E-mail: taniken@biken.osaka-u.ac.jp

要 旨

抗リン脂質抗体症候群 (APS) は、抗リン脂質抗体 (aPL) を有する患者が血栓症や妊娠合併症を呈する症候群である。APS では、他の自己免疫疾患と同様に疾患感受性の主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラス II (HLA-II) アレルが存在することが知られているが、その機序は不明である。また、健常人の血清中にも存在する β 2-グリコプロテイン I (β 2GPI) が、何故、APS 患者における aPL の主要抗原となり得るのか？ についても不明である。一方で、荒瀬らは、関節リウマチ (RA) 患者の血清中に HLA-II 分子と変性 IgG の複合体に対する自己抗体が存在し、それが RA の病態に関連していることを報告した。今回、ミスフォールド β 2GPI と HLA-II 複合体が APS の病態と関連するかを調べた。

β 2GPI のみを 293T 細胞に遺伝子導入しても細胞表面に β GPI は発現しなかったが、 β 2GPI と HLA-II の両方を遺伝子導入すると β 2GPI が細胞表面に発現することを確認した。さらに、免疫沈降によって、

細胞表面で HLA-II 分子と β 2GPI が複合体を形成していることを明らかにした。また、HLA-II と共沈降した β 2GPI の分子量から HLA-II に結合した β 2GPI はペプチドではなく、full-length の β 2GPI であることが分かった。次に、ヒト抗カルジオリピン・モノクローナル抗体 (EY2C9) と患者血清中の自己抗体がリン脂質非存在下で、APS 感受性アリの HLA-II (HLA-DR7) と β 2GPI の複合体を認識することが分かった。APS 患者の 83.3% (100/120 人) において、 β 2GPI/HLA-DR7 複合体に対する自己抗体が陽性であり、抗カルジオリピン抗体、抗 β 2GPI 抗体のそれぞれが陰性である APS 患者の約 50% で β 2GPI /HLA-DR7 複合体に対する自己抗体が陽性となった。続いて、APS 患者と健常人の流産絨毛を用いて、proximity ligation assay (PLA) を行った。APS 患者の流産絨毛では、脱落膜の血管内皮細胞に MHC クラス II と β 2GPI の共発現を認めたが、健常人の流産絨毛では認められなかった。最後に、EY2C9 が β 2GPI/HLA-DR7 複合体を発現した 293T 細胞に対して特異的に補体依存性細胞傷害を発揮することを証明した。

1) 緒言

抗リン脂質抗体症候群 (Antiphospholipid syndrome ; APS) は、抗リン脂質抗体 (antiphospholipid antibodies; aPL) を有する患者が、脳、肺、下肢などの動静脈血栓症や習慣流産、妊娠高血圧症候群による早産などの妊娠合併症を呈する症候群である。aPL の主要標的抗原は、リン脂質と結合した β 2-グリコプロテイン I (β 2GP I) で^[1]、主に肝臓で産生され、健常人の血清中に 100 ~ 200 μ g / ml と比較的高濃度に存在する。血液中を循環する β 2GP I は、環状構造であるが、カルジオリピンのように陰性荷電のリン脂質や、 γ 線照射により陰性荷電したプレートに β 2GP I が結合することによって、線状構造に変化する^[1]。aPL は、環状構造の β 2GP I を認識出来ないが、線状構造の β 2GP I を認識する^[1]。そのために、aPL の測定は、カルジオリピンなどの陰性荷電したリン脂質を固相化した ELISA プレートや、 γ 線照射によって陰性荷電した ELISA プレートに β 2GP I を添加した上で、患者血清を反応させることで行われる。しかし、APS を疑わせるに十分な臨床症状を有しているにも関わらず、従来の測定法では、aPL 陰性のために APS と診断出来ない症例が多数存在し、aPL の標的抗原は、リン脂質に結合した β 2GP I のみでは説明できない。また、aPL が、血管内皮細胞を障害することが APS の病態であると考えられているが^[2]、aPL の標的である β 2GP I は分泌蛋白であり、如何にして、血管内皮細胞表面に β 2GP I が発現し、aPL が血管内皮細胞障害を惹起するかの機序については不明である。

一方、特定の MHC class II (HLA-II) のアリルが自己免疫疾患の感受性に深く関与していること

が知られており、APS も例外ではない。しかし、HLA-II アリルが疾患感受性を制御する機序についても明らかではない。

最近、我々は小胞体での分解 (endoplasmic reticulum-associated degradation; ERAD) を免れたミスフォールド蛋白質を HLA-II 分子が、ペプチド結合部位に載せて細胞表面に輸送できるという HLA-II の新しい機能を発見した^[3]。さらに、関節リウマチ (RA) に疾患感受性であるアリルの HLA-II 分子が変性 IgG と複合体を形成して細胞表面に発現し、RA 患者血清中の自己抗体が変性 IgG / HLA-II 複合体を認識することを明らかにし、ミスフォールド蛋白と疾患感受性アリルの HLA-II 分子の複合体が、これまで知られていなかった自己免疫疾患の原因抗原である可能性を示した^[4]。

今回、我々は、APS 患者血清中に β 2GP I / HLA-II 複合体に対する自己抗体が存在することを明らかにし、その新規自己抗原と自己抗体が APS の病態に関与しているかを調べた^[5]。

2) 材料および方法

① 抗リン脂質抗体は、 β 2GP I / HLA-II 複合体を認識するのか？

β 2GP I、APS 疾患感受性アリルである HLA-DR7 の cDNA を作成し、293T 細胞に遺伝子導入 (トランスフェクション) し、細胞表面の β 2GP I、HLA-II 発現を、それぞれの抗体を用いて Flow cytometry 法 (FCM) によって調べた。さらに、APS 患者に由来するヒト aPL モノクローナル抗体 (EY2C9) をトランスフェクタントと反応させ、蛍光標識抗ヒト IgM 抗体を二次抗体として FCM

により、EY2C9 の結合性を調べた。

② ペプチドではない β 2GP I と HLA-II が複合体を形成しているのか？

β 2GP I と HLA-DR7 を共発現させた 293T 細胞を溶解し、抗 β 2GP I 抗体、抗 HLA-DR 抗体のそれぞれで免疫沈降し、ウエスタンブロットにより沈降物中の β 2GP I、HLA-DR を同定した。

③ APS 患者における血清中 β 2GP I / HLA-II 複合体抗体価測定

スタンダードとする APS 患者血清を設定し、ELISA の標準化曲線による定量化法を応用し、スタンダード血清の希釈系列中の自己抗体と β 2GP I / HLA-II (HLA-DR7) 複合体との結合親和性を FCM の mean fluorescence intensity (MF) として測定し、標準曲線を作成した。その標準曲線を用いて、サンプル血清中の抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体価を算出した。まず、健常人 100 名の抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体価を測定し、その 99 パーセントタイル値より抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体価の基準値を決定した。さらに、APS 患者 120 名の血清中抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体価を測定した。

図1. HLA-II分子は、 β 2GP I と複合体を形成して細胞表面に発現し、抗リン脂質抗体によって認識される

293T細胞に β 2GP Iのみをトランスフェクション(上段)、もしくは、 β 2GP IとHLA-DR7をトランスフェクション(下段)し、FCMにより、細胞表面のHLA-DR発現量、 β 2GP I発現量、また、EY2C9の結合親和性を解析した。 β 2GP I単独トランスフェクタントでは細胞表面に β 2GP Iは発現しないが、HLA-DRと β 2GP Iのトランスフェクタントでは細胞表面に β 2GP Iが発現した。また、EY2C9は、HLA-II分子によって細胞表面に輸送された β 2GP Iを認識した。灰色のヒストグラムはGFPのみのトランスフェクタント(コントロール)、赤のヒストグラムは、 β 2GP Iのみ、もしくは、 β 2GP I + HLA-DR7のトランスフェクタントを示す。

④ β 2GP I / HLA-II 複合体に対する抗リン脂質抗体の結合親和性に対する HLA-II アリルの影響

様々なアリルの HLA-DR と β 2GP I を 293T 細胞にトランスフェクションし、細胞表面の β 2GP I 発現量と APS 患者由来ヒト aPL モノクローナル抗体 (EY2C9) と β 2GP I / HLA-II 複合体との結合親和性を FCM で解析した。

⑤ APS 患者の流産組織における β 2GP I / HLA-II 複合体の発現

APS 患者、非 APS 患者の流産絨毛を採取し、抗 HLA-DR 抗体と抗 β 2GP I 抗体を用いて、蛍光二重染色を行った。さらに、2 分子間の距離が 40 nm 未満である場合にシグナルとして検出される proximity ligation assay (PLA) も併用した。

⑥ 抗 β 2GP I / HLA-II 複合体抗体は補体依存性細胞障害性を有するか？

293T 細胞に、 β 2GP I と APS 感受性アリルである HLA-DR7、非感受性の HLA-DR8 をトランスフェクションし、APS 患者由来ヒト aPL モノクローナル抗体 (EY2C9)、コントロールとしてヒト IgM 抗体のそれぞれと混和後、補体とインキュベーションした。その後に、propidium iodidie 染色で死細胞の割合を FCM で解析した。

3) 結果

① 抗リン脂質抗体は、 β 2GP I / HLA-II 複合体を認識する。

β 2GP I のみを 293T 細胞にトランスフェクションしても、 β 2GP I は分泌蛋白であるために、細胞表面に発現しない(図1. 上段中央)。一方、 β 2GP I とともに HLA-DR7 をトランスフェクションすると、細胞表面に β 2GP I が発現した(図1. 下段中央)。さらに、APS 患者に由来するヒト aPL モノクローナル抗体 (EY2C9) は、 β 2GP I のみをトランスフェクションした 293T 細胞に結合しなかったのに対し(図1. 上段右)、 β 2GP I と HLA-DR7 をトランスフェクションした 293T 細胞には結合した(図1. 下段右)。

② Full-length の β 2GP I と HLA-II が複合体を形成していた。

免疫沈降により、 β 2GP I と HLA-DR が共沈降

し、しかも、免疫沈降された β 2GP I の分子量は 50kD で、断片化されていない full-length の β 2GP I が MHC class II 分子と複合体を形成することが判明した。(図 2)

③ 多くの APS 患者で β 2GP I / HLA-II 複合体に対する自己抗体が検出される。

APS 患者 120 名の血清中抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体価を測定すると、84.6% において本自己抗体が陽性となった (図 3)。さらに、APS 患者 120 名の約半数で APS の診断に用いられる抗カルジオリピン-IgG 抗体、抗 β 2GP I-IgG 抗体が陰性であるにも関わらず、抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体が陽性であった。一方、抗 β 2GP I-IgG 抗体陽性、かつ、抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体陽性の症例に限定すると、それぞれの抗体価は、回帰分析で相関係数 (r) 0.57、 $p = 1.13 \times 10^{-5}$ と有意な相関を示した。同様に、抗カルジオリピン-IgG 抗体の抗体価についても、 $r = 0.44$ 、 $p = 3.3 \times 10^{-7}$ と有意な相関を示した。

④ 抗リン脂質抗体の β 2GP I / HLA-II 複合体に対する結合親和性は、HLA-II アリルによって規定される

図 2. Full-lengthの β 2GP I と HLA-II が複合体を形成している

β 2GP I、HLA-DR7 をトランスフェクションした 293T 細胞を溶解し、抗 β 2GP I 抗体、抗 HLA-DR 抗体のそれぞれで免疫沈降した。 β 2GP I と HLA-DR7 を共発現させた細胞において、 β 2GP I と HLA-DR の両方が共沈降し、しかも、免疫沈降された β 2GP I の分子量は 50kD であり、断片化されていない full-length の β 2GP I が HLA-II 分子と複合体を形成していることが示された。

APS に疾患感受性とされる HLA-DR4 と HLA-DR7 は^{16, 7)}、他のアリルと比し、より多くの

図 3. APS 患者の多くで β 2GP I / HLA-II 複合体に対する自己抗体が陽性となった

293T 細胞に β 2GP I と HLA-DR7 をトランスフェクションし、そのトランスフェクタントを APS 患者 ($n=120$) 血清と反応させ、蛍光標識抗ヒト IgG 抗体を二次抗体として FCM で解析した。スタンダードとなる患者血清の希釈系列より標準曲線を作成し、抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体の抗体価を定量化した。同時に健常者 100 名の抗体価を測定し、基準値を決定した。APS 患者の 80% 以上で抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体が陽性となった。また、抗 β 2GP I-IgG 抗体、抗カルジオリピン-IgG が陰性であった患者の約半数で抗 β 2GP I / HLA-DR7 複合体抗体が陽性であった。

図4. APSに疾患感受性であるHLA-DR4とHLA-DR7は、他のアレルよりも効率的に β 2GPIを細胞表面に提示し、それらの複合体はヒト由来aPLとの結合親和性が高い

293T細胞に β 2GPIと種々のアレルのHLA-IIをトランスフェクションし、抗 β 2GPI抗体、APS患者由来ヒト抗リン脂質抗体モノクローナル抗体(EY2C9)のそれぞれを一次抗体とし、蛍光標識されたそれぞれの2次抗体で染色し、FCMで解析した。各HLA-IIアレルにおける β 2GPI発現量(黒棒グラフ)、EY2C9の結合親和性(白棒グラフ)をMFI値(mean fluorescence intensity)で比較した。

図5. APS患者の流産組織中の脱落膜内血管内皮細胞において β 2GPI / HLA-II複合体が認められた

APS患者の流産組織(上段)と非APS患者の流産組織(下段)をそれぞれ、抗HLA-DR抗体と抗 β 2GPI抗体を1次抗体として、蛍光二重染色とproximity ligation assay (Duolink®)を行った。

β 2GPIを細胞表面に発現するばかりでなく、EY2C9は、それらのHLA-II分子に提示された β 2GPIに対して強い親和性を有した(図4)。

⑤ APS患者の脱落膜内血管内皮細胞において β 2GPI / HLA-II複合体の発現が認められた。

APS患者の流産絨毛組織の脱落膜血管内皮細胞において、蛍光二重染色とPLAの双方でHLA-DRと β 2GPIの共局在を認めたが、非APS患者では、共局在を認めなかった(図5)。

図6. aPLは、 $\beta 2\text{GPI}$ / HLA-DR7複合体発現細胞に特異的に補体依存性細胞障害性を発揮する

293T細胞に、 $\beta 2\text{GPI}$ 、APS感受性であるHLA-DR7、APS非感受性であるHLA-DR8をトランスフェクションし、それぞれのトランスフェクタントと種々の濃度のAPS患者由来aPLモノクローナル抗体 (EY2C9)、もしくは、コントロールとしてヒトIgM抗体を反応させた。その後、補体とインキュベーションし、死細胞の割合をFCMで解析した。 $\beta 2\text{GPI}$ とHLA-DR7を共発現した細胞のみ (赤丸赤実線) がEY2C9によって補体依存性に障害された。

⑥ 抗リン脂質抗体は、 $\beta 2\text{GPI}$ / HLA-II 複合体発現細胞に対して補体依存性細胞障害性を発揮する。

APS患者由来ヒトaPLモノクローナル抗体 (EY2C9) は、APSに疾患感受性であるHLA-DR7と $\beta 2\text{GPI}$ の複合体を発現した細胞に対してのみ濃度依存性に補体依存性細胞障害性を示した (図6)。

4) 考察

IFN- γ やTNF- α などの炎症性サイトカインが、血管内皮細胞にMHC class II (HLA-II) を誘導することが知られている^[8]。また、血管内皮細胞や胎盤絨毛細胞が $\beta 2\text{GPI}$ を発現するという報告もあるが^[9, 10]、それに関しては、懐疑的とする報告もある。そこで、我々は、ヒト皮膚微小血管内皮細胞のprimary cell lineをIFN- γ とTNF- α で刺激した後、 $\beta 2\text{GPI}$ 添加と非添加の各条件下でEY2C9との結合性を調べた。IFN- γ 、TNF- α 刺激により血管内皮細胞にHLA-IIが誘導された。外因性 $\beta 2\text{GPI}$ 存在下では、EY2C9は血管内皮細胞に結合したが、非存在下では結合しなかった。これらの結果より、血管内皮細胞に炎症が起ると、炎症性サイトカインにより血管内皮細胞に

HLA-IIが誘導される。その患者がAPSに疾患感受性のHLA-IIアリルを有している場合、外因性、内因性のいずれかの $\beta 2\text{GPI}$ がHLA-II分子と複合体を形成する。同複合体発現細胞が、自己抗体の標的になり、補体依存性細胞障害を受けることにより、血管内皮障害が惹起され、血栓症や流産などの症状を呈するようになるというAPSの新たな病態の可能性が示された (図7)。

APSを疑うのに十分に臨床症状が揃っているにもかかわらずaPLが検出されないためにAPSと診断されない症例や、逆に、aPL陽性であっても何ら臨床症状を示さない症例も存在する。また、同じAPSであっても、脳、肺、下肢などの動静脈血栓症のみを呈する症例や流産などの妊娠合併症のみを呈する症例があり、血栓ができる部位や症状が異なり、その理由については不明であった。今回、我々は、 $\beta 2\text{GPI}$ / HLA-II複合体に対する自己抗体を発見し、従来法によるaPLが陰性のAPS患者の多くで本自己抗体が陽性になることを示した。 $\beta 2\text{GPI}$ / HLA-II複合体に対する自己抗体の検出は、感度の高いAPSの新しい診断法になり得る可能性がある。また、aPLが、 $\beta 2\text{GPI}$ / HLA-II複合体を発現した細胞を補体依存性に障害することが示され、 $\beta 2\text{GPI}$ / HLA-II複合体が発現する部位によって障害される血管の部位が異なり、これによって臨床症状が症例によ

図7. $\beta 2\text{GPI}$ /HLA-II 複合体に対する自己抗体はAPSの病態に関連する血液中を循環する環状構造の $\beta 2\text{GPI}$ に、aPLは結合しない。血管に炎症が起こるとIFN- γ などのサイトカインによって血管内皮細胞にHLA-II分子が誘導される。患者がAPSに疾患感受性のHLA-IIアリルを有する場合に、血管内皮細胞表面に $\beta 2\text{GPI}$ /HLA-II複合体が形成される。HLA-IIと複合体を形成した $\beta 2\text{GPI}$ は、自己抗体に対するエピトープを露出しており、その標的となる。自己抗体は、 $\beta 2\text{GPI}$ /HLA-II複合体を発現した血管内皮細胞を補体依存性に障害する。この複合体が発現する部位によって引き起こされる臨床症状が規定されることが考えられる。

て異なるものと考えられる。

また、自己免疫疾患において、何故、自己の蛋白質が自己抗体の標的になり得るのか？ HLA-IIのアリルが疾患感受性をどのように制御しているのか？ に関しては長年の謎であった。我々は、APSにおいて、本疾患感受性のHLA-IIアリル(HLA-DR4, DR7)がペプチドではない $\beta 2\text{GPI}$ と効率的に複合体を形成し、細胞表面に発現し、aPLに良く認識されることを明らかにした。この結果は、この長年の謎を解く鍵になり得るかもしれない。

ミスフォールド蛋白とHLA-IIの複合体に対する自己抗体が自己免疫疾患の病因となり得るといふ、この新しい概念は、RAやAPS以外の自己免疫疾患の病態にも関連している可能性があり、自己免疫疾患の病態解明、新しい検査法や治療薬の開発に寄与する可能性がある。

5) 謝辞

本研究を遂行するにあたり、御指導ご鞭撻を賜りました大阪大学微生物病研究所免疫化学分野の荒瀬 尚教授、神戸大学産科婦人科の山田秀人教授、蝦名康彦准教授、北海道大学免疫・代謝内科学分野の渥美達也教授に深く感謝の意を表します。カリフォルニア・サンフランシスコ大学のLewis L Lanier 教授には研究内容、論文執筆の際に多大なる御指導をいただきました。この場を借りて深甚なる謝意を表します。

6) 文献

- 1) Agar C, van Os GM, Morgelin M, *et al.* 2010. β 2-glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood*.116(8): 1336-43.
- 2) Giannakopoulos B, Krilis SA. 2013. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *The New England journal of medicine*. 368(11): 1033-44.
- 3) Jiang Y, Arase N, Kohyama M, *et al.* 2013. Transport of misfolded endoplasmic reticulum proteins to the cell surface by MHC class II molecules. *International immunology*.25(4): 235-46.
- 4) Jin H, Arase N, Hirayasu K, *et al.* 2014. Autoantibodies to IgG / HLA class II complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.111(10): 3787-92.
- 5) Tanimura K, Jin H, Suenaga T, *et al.* 2015. β 2-Glycoprotein I / HLA class II complexes are novel autoantigens in antiphospholipid syndrome. *Blood*.125(18): 2835-44.
- 6) Hartung K, Coldewey R, Corvetta A, *et al.* 1992. MHC gene products and anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus results of a multicenter study. SLE Study Group. *Autoimmunity*.13(2): 95-9.
- 7) Savi M, Ferraccioli GF, Neri TM, *et al.* 1988. HLA-DR antigens and anticardiolipin antibodies in northern Italian systemic

- lupus erythematosus patients. *Arthritis and rheumatism*. 31(12): 1568-70.
- 8) Pober JS, Gimbrone MA, Jr., Cotran RS, *et al.* 1983. Ia expression by vascular endothelium is inducible by activated T cells and by human gamma interferon. *The Journal of experimental medicine*. 157(4): 1339-53.
- 9) Caronti B, Calderaro C, Alessandri C, *et al.* 1999. β 2-glycoprotein I (β 2-GPI) mRNA is expressed by several cell types involved in anti-phospholipid syndrome-related tissue damage. *Clinical and experimental immunology*. 115(1): 214-9.
- 10) Chamley LW, Allen JL, Johnson PM. 1997. Synthesis of β 2-glycoprotein I by the human placenta. *Placenta*. 18(5-6): 403-10.

β 2-glycoprotein I complexed with MHC class II molecules are involved in the pathogenesis of antiphospholipid syndrome

Kenji Tanimura ^{a), b)}, Yasuhiko Ebina ^{b)}, Tatsuya Atsumi ^{c)}, Hideto Yamada ^{b)}, and Hisashi Arase ^{a), d)}

^{a)} *Department of Immunochemistry, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University
(Suita, Osaka, Japan, 565-0871)*

^{b)} *Department of Obstetrics and Gynecology, Kobe University Graduate School of Medicine
(Kobe, Hyogo, Japan, 650-0017)*

^{c)} *Division of Rheumatology, Endocrinology and Nephrology, Hokkaido University
Graduate School of Medicine
(Sapporo, Hokkaido, Japan, 060-8638)*

^{d)} *Laboratory of Immunochemistry, WPI Immunology Frontier Research Center, Osaka University
(Suita, Osaka, Japan, 565-0871)*

Corresponding: Kenji Tanimura

*Department of Immunochemistry, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University
Suita, Osaka, Japan, 565-0871*

Phone: +81-6-6879-8291, Fax: +81-6-6879-8290

E-mail: taniken@biken.osaka-u.ac.jp

Key words:

Antiphospholipid antibodies, Antiphospholipid syndrome (APS), Autoantibodies, β 2-glycoprotein I (β 2GPI), MHC class II

Abstract:

Antiphospholipid syndrome (APS) is characterized by thrombosis and pregnancy complications, which is associated with antiphospholipid (aPL) antibodies. It has been known that several MHC class II (HLA-II) gene polymorphisms are associated with APS, although mechanisms how HLA-II gene polymorphisms regulate APS still have remained unclear. β 2-glycoprotein I (β 2GPI) is the main phospholipid-binding molecule recognized by aPL antibodies. It is also unclear how β 2GPI is recognized by aPL antibodies. On the other hand, Arase et al. has recently found that IgG heavy chain/HLA-II complexes were specific targets for autoantibodies in rheumatoid arthritis. Here, we found that intracellular β 2GPI is transported to the cell surface by HLA-II molecules. Furthermore, human anti-cardiolipin monoclonal antibody (EY2C9) as well as autoantibodies in APS patient's sera specifically recognized β 2GPI complexed with HLA-II molecules of APS-susceptible alleles (HLA-DR7). In addition, 100 of the 120 APS patients (83.3%) analyzed, including those whose antiphospholipid antibody titers were within normal range, possessed autoantibodies that recognize β 2GPI / HLA-DR7 complexes in the absence of phospholipids. Indeed, β 2GPI / HLA-II complexes were detected in endothelial cells of vessels in uterine decidual tissues obtained from APS patients with spontaneous abortion. Furthermore, EY2C9 mediated complement-dependent cytotoxicity against cells expressing β 2GPI / HLA-DR7 complex.

These data suggest that β 2GPI / HLA-II complexes are involved in pathologies of APS and detection of autoantibodies against β 2GPI / HLA-DR7 complex could contribute for better recognition of patients with APS.