

Title	Multiple tolerance checkpoints restrain affinity maturation of B cells expressing the germline precursor of a lupus patient-derived anti-dsDNA antibody in knock-in mice
Author(s)	Mohammed, Ali El Hussien Marwa
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/87914">https://hdl.handle.net/11094/87914</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	Marwa Ali El Hussien Mohammed
論文題名 Title	Multiple tolerance checkpoints restrain affinity maturation of B cells expressing the germline precursor of a lupus patient-derived anti-dsDNA antibody in knock-in mice (多重免疫寛容チェックポイントによるループス患者由来抗dsDNA抗体germline前駆体イムノグロブリン発現B細胞の制御)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>Anti-dsDNA antibodies are a hallmark of systemic lupus erythematosus and are highly associated with its exacerbation. Cumulative evidence has suggested that somatic hypermutation contributes to the high-affinity reactivity of anti-dsDNA antibodies. Our previous study demonstrated that these antibodies are generated from germline precursors with low-affinity ssDNA reactivity through affinity maturation and clonal expansion in patients with acute lupus. This raised the question of whether such precursors could be subject to immune tolerance.</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>To address this, we generated a site-directed knock-in (KI) mouse line, G9gl, which carries germline-reverted sequences of the <math>V_H</math>-<math>D_H</math>-<math>J_H</math> and <math>V_K</math>-<math>J_K</math> regions of patient-derived, high-affinity anti-dsDNA antibodies. G9gl heterozygous mice had a reduced number of peripheral B cells, only 27% of which expressed G9gl B cell receptor (BCR). The remaining B cells harbored non-KI allele-derived immunoglobulin heavy (Igh) chains or fusion products of upstream mouse <math>V_H</math> and the KI gene, suggesting that receptor editing through <math>V_H</math> replacement occurred in a large proportion of B cells in the KI mice. G9gl BCR-expressing B cells responded to ssDNA but not to dsDNA, and exhibited several anergic phenotypes, including reduced surface BCR and shortened life span. Furthermore, G9gl B cells were excluded from germinal centers (GC) induced by several conditions. In particular, following immunization with methylated bovine serum albumin-conjugated bacterial DNA, G9gl B cells occurred at a high frequency in memory B cells but not GC B cells or plasmablasts.</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>Collectively, multiple tolerance checkpoints prevented low-affinity precursors of pathogenic anti-dsDNA B cells from undergoing clonal expansion and affinity maturation in GCs.</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) Marwa Ali El Hussien Mohammed

論文審査担当者	(職) 氏 名
主 査	<sup>寄附研究部門教授</sup> <del>大阪大学教授</del> 菊 谷 仁
副 査	大阪大学教授 熊 御 淳
副 査	大阪大学教授 鈴 木 一 博

## 論文審査の結果の要旨

全身性エリテマトーデス (SLE) は、自己の組織や細胞に結合する病原性自己抗体の産生を特徴とする自己免疫疾患である。特に抗double-stranded (dsDNA) 抗体はSLE疾患活動度と関連が高い自己抗体とされている。発表者らの過去の研究で、SLEでは、single-stranded DNA (ssDNA) に対して低親和性を持つ前駆B細胞が体細胞変異を経て、dsDNAに対する高親和性を獲得することがクローンレベルで明らかにされていた。

本研究では、病原性抗dsDNA抗体産生細胞の前駆B細胞が生体内でいかなる制御を受けているのかを調べる目的で、BCRノックインマウスG9g1を作製し、そのB細胞の機能解析を行った。G9g1ノックインマウスでは、骨髄において、B細胞の大半がレセプター編集を受けていることがわかり、ほとんどの末梢B細胞がG9g1 BCRを発現していなかった。加えて、それを回避したG9g1 BCR発現B細胞は、末梢に出現するがBCRの発現低下や容易に細胞死するなど、機能不全 (アナジー) を認めた。G9g1マウスに、ssDNAとヘルパーT細胞エピトープとしてウシ血清アルブミンを結合した抗原を免疫すると、抗dsDNA抗体の産生が誘導されたが、胚中心B細胞や形質芽細胞分画において、G9g1 BCRを発現している細胞はほとんど認められなかった。一方で、クラススイッチしたメモリーB細胞分画では、一定の割合でG9g1 B細胞が検出されたことから、抗原とT細胞ヘルプのもとでは、G9g1 B細胞はメモリーB細胞へ分化できることが示された。以上の結果から、病原性自己抗体産生細胞の前駆B細胞は、骨髄、末梢、胚中心反応での体細胞変異とクローン拡大など、様々な免疫寛容チェックポイントにて抑制されており、病原性自己抗体が産生されないよう制御されていることが示された。

以上の研究の成果から、発表者は博士 (医学) の学位授与に値するものと認める。