

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 内田 寛治

ヒト特発性肺胞蛋白症(idiopathic pulmonary alveolar proteinosis: iPAP)と類似の病像を呈する顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: GM-CSF)シグナル欠損マウスの研究から、GM-CSF は肺胞マクロファージの終末分化を誘導することによってサーファクタント代謝を促進し、肺内のサーファクタント恒常性を維持するという重要な役割をもつサイトカインであるということが認められていた。ヒト iPAP 患者の血清及び肺内に特異的に発現している抗 GM-CSF 自己抗体が、ヒトにおいても GM-CSF のシグナルを阻害する事によって iPAP 発症の病因となるのではないかと推論されていたが、これを証明する報告はこれまで無かった。本研究ではこの自己抗体が、肺内での GM-CSF 活性を完全に枯渇させているかどうかを、抗体の量的、質的検討を行うことで明らかにした。以下に研究結果の要点を示す。

1. iPAP 患者の肺内に GM-CSF 活性が存在しているかどうかを二つのアプローチで確認した。一つは肺組織の免疫組織染色で GM-CSF 産生細胞を同定し、産生細胞数が健常者と同程度であることを確認した。もう一つは気管支肺胞洗浄液(bronchoalveolar lavage fluid: BALF)中の GM-CSF 活性を測定することであったが、市販の ELISA 法では、GM-CSF と結合する自己抗体の存在により測定の信頼性が失われる可能性があること、また ELISA 法で検出された GM-CSF が生物活性を持っているかどうかを検討する必要があるため、本研究では新たに GM-CSF 依存性の細胞株を用いたバイオアッセイ法を開発した。この方法を用いることで、BALF 中の GM-CSF 中和活性が非常に再現性よく検出でき、GM-CSF 活性が実際に BALF 中では枯渇していることがあきらかとなった。
2. 本研究では新たに iPAP 患者の血清、BALF 中にフリーな状態で存在している抗 GM-CSF 自己抗体を検出する ELISA 法を開発した。リコンビナント GM-CSF をリガンドとして結合する抗 GM-CSF 自己抗体を 1ng/ml 程度の感度で検出することができ、

少量のサンプルで自己抗体濃度を定量できるようになった。自己抗体が iPAP 患者に疾患特異的に存在していることから、診断的な目的で血清中自己抗体を非侵襲的に測定することが可能となり、現在日本はもとより世界中から血清中自己抗体の測定依頼を受けており、診断確定の一助となっている。今回測定して得られた抗体価は、健常者の GM-CSF 濃度を中和するに十分量であることがわかった。

3. iPAP 患者から抽出した自己抗体は、ポリクローナル抗体であったが、抗体全体を平均した結合力は非常に強かった。GM-CSF は低親和性の受容体 α 鎖と結合した後 β 鎖がその結合に加わって高親和性のヘテロ受容体となり、細胞内にシグナルを伝達するとされている。本研究の結果、自己抗体の結合力は高親和性ヘテロ受容体と GM-CSF との結合力を若干上回り、低親和性 α 鎖受容体と GM-CSF との結合力は遙かに凌駕した。自己抗体が効果的に GM-CSF と受容体との結合をブロックしていることが理解できる。また結合特異性も高く、エピトープの推定結果から GM-CSF の活性中心と言われている部分に多くが結合している可能性も示唆された。この結果から自己抗体はいわゆる molecular mimicry によって出現したというよりも GM-CSF を直接標的としたものであると推論することができる。

以上、ヒト iPAP 患者に特異的に発現していた抗 GM-CSF 自己抗体の量的、質的検討を行い、肺内に存在する自己抗体が実際に患者肺内の GM-CSF 活性を枯渇させているということを明らかにした。

今回測定した抗体の濃度や、種々の性状のうち、疾患の重症度、活動性、あるいは現在進行中の GM-CSF 皮下注療法、吸入療法への反応性の予測ができる因子を同定できれば、臨床的に直ちに応用が可能で、社会的貢献度は大きいと考えられる。また本研究で明らかにしたように、抗体は非常に強い結合力と高い特異性をもっており、抗体を産生形質細胞をクローン化することで、研究、臨床において計り知れない有用性をもつ可能性もあると考えられる。

本研究はこれらの研究を進める上でも重要な基礎データとなる抗 GM-CSF 自己抗体の性状を量的、質的観点から詳細に明らかにしたものであり、学位の授与に値するものと考えられる。