

審査の結果の要旨

氏名 永井立夫

抗リボソーム P 抗体は全身性エリテマトーデス (SLE) に非常に特異性の高い自己抗体で、SLE のいくつかの臨床症状との関連が報告されている。本研究は、抗リボソーム P 抗体が認識するエピトープのヒト末梢血単球表面上での発現の有無を詳細に解析し、さらに抗リボソーム P 抗体がヒト末梢血単球の機能におよぼす影響を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. フローサイトメトリーによる解析の結果、SLE 患者血清から精製した抗リボソーム P 抗体は、健常人末梢血より精製したばかりの単球と結合しなかったが、IFN- γ (1000 units/ml) の存在あるいは非存在下で平底プレート上で 48 時間培養した単球の表面と有意の結合を示した。この結合は、染色時に 22 残基の合成リボソーム P ペプチド (800 μ g/ml) を添加することによりほぼ完全に阻止された。少数の annexin V 陽性の単球表面上にリボソーム P 抗原の発現が認められた。一方、annexin V 陰性の単球表面上には、休止期ではリボソーム P 抗原の発現が認められないが、培養により活性化するとリボソーム P 抗原の発現が認められた。以上より、抗リボソーム P 抗体が認識するエピトープは単球の活性化に伴いその表面に出現し、これはアポトーシスに伴った細胞内リボソーム P 蛋白の局在変化とは異なり、ヒト末梢血単球の活性化に伴った現象であることが示唆された。
2. 120 時間培養後の上清について検討したところ、抗リボソーム P 抗体は対照 IgG に比し、IFN- γ (1000 units/ml) の存在あるいは非存在下で、用量依存性に末梢血単球からの TNF α および IL-6 の放出を促進した。次に、7 名の健常成人より分離した単球について検討したところ、ある特定の SLE 患者から精製した抗リボソーム P 抗体 (5 μ g/ml) は対照 IgG および同じ患者の抗リボソーム P 抗体を含まない IgG 分画に比し、IFN- γ の存在あるいは非存在下で、統計学的に有意に単球からの TNF α および IL-6 の放出を促進した。

さらに、特定の健常成人より分離した単球に対して、8名のSLE患者から精製した抗リボソームP抗体について検討したところ、抗リボソームP抗体は対応する患者の抗リボソームP抗体を含まないIgG分画に比し、IFN- γ の存在あるいは非存在下で、統計学的に有意に単球からのTNF α およびIL-6の放出を促進した。以上より、抗リボソームP抗体は、活性化したヒト末梢血単球と結合することにより単球からのTNF α およびIL-6の放出を促進することが示された。

3. リアルタイムPCR法により48時間培養後の単球のmRNAを定量したところ、同様に抗リボソームP抗体(5 μ g/ml)は対照IgGに比し、IFN- γ (1000 units/ml)の存在あるいは非存在下で、統計学的に有意に単球のTNF α およびIL-6のmRNAの発現を促進した。以上より、抗リボソームP抗体は活性化したヒト末梢血単球のTNF α およびIL-6の発現を誘導することが示された。
4. 患者IgGをペプシン処理後、Sephadex G100カラムを用いたゲルろ過により得られた患者IgGのF(ab')₂フラグメントからアフィニティー精製した抗リボソームP抗体のF(ab')₂フラグメント(3 μ g/ml)は、IFN- γ の非存在下で、抗リボソームP抗体(3 μ g/ml)と同程度に単球からのTNF α およびIL-6の放出を促進した。以上より、抗リボソームP抗体が活性化したヒト末梢血単球からのTNF α およびIL-6の放出を促進するメカニズムにはFc γ 受容体の架橋を要さないことが示唆された。

以上、本論文はこれまで未知であったヒト末梢血単球表面上のリボソームP抗原の存在を明らかにし、さらに抗リボソームP抗体が活性化した単球の炎症性サイトカインの発現を誘導することを明らかにした。日常の臨床において診断の補助や疾患活動性の指標として使用される自己抗体のなかで、実際に細胞の機能を変化させることが報告されているものは非常に少ない。本研究は自己抗体の自己免疫疾患における病因的意義を解明することに重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。