

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	大西 佐知子
審査委員	主査 増本 純也 副査 阪中 雅広 副査 丹司 望 副査 西川 典子 副査 石前 峰斉

論文名 ループス腎炎の新規自己抗原の同定

審査結果の要旨 (2,000字以内)

### 背景と目的：

全身性エリテマトーデス(SLE)はさまざまな自己抗体が出現し、免疫複合体を形成して臓器障害を生じる疾患である。特にループス腎炎では、活動性の指標として、血清中の抗2重鎖DNA抗体(抗dsDNA抗体)が重要である。しかしながら、抗dsDNA抗体のみですべてのループス腎炎の活動性を評価することはできない。例えば、血清中抗dsDNA抗体は、ループス腎炎以外で陽性の場合がある一方、陰性でもループス腎炎が悪化する病態もある。このことから、ループス腎炎と関連する、他の自己抗体があると考えられた。そこで、本研究では、ループス腎炎の指標となる抗dsDNA抗体以外の血清中の自己抗体の検索を行った。

### 方法：

SLE患者のうちループス腎炎患者1名、腎炎のない患者1名の活動期・非活動期のペア血清を用いて、愛媛大学プロテオサイエンスセンターで構築された2,296のcDNAライブラリーからビオチン化たんぱく質を作成し、AlphaScreen法により自己抗体を検索した。特異的に検出されたタンパク質を選択し、免疫沈降を行った。免疫沈降法でループス腎炎患者に陽性であったタンパク質が、免疫複合体としてループス腎炎患者の腎組織に沈着しているか調べるため免疫染色を行った。免疫複合体の沈着を認めた蛋白質に対するELISAを行い、SLEおよび他の膠原病患者238名と健常者41名の血清から抗体価を測定した。さらにSLE患者で疾患活動性と関連するか検討した。また、それらをC57BL/6マウスに投与し、腎炎が惹起されるかを検討した。

### 結果：

AlphaScreen 法により活動期・非活動期で変動があったタンパク質から、腎炎患者に特異的に検出された 17 個のタンパク質を選択し、SLE、強皮症、皮膚筋炎・多発性筋炎患者血清を用いて免疫沈降を行った。その結果、RRP8 および TNP1 というタンパク質がループス腎炎患者に特異的に反応したため、RRP8 と TNP1 がループス腎炎の病態と関連するかを検討した。ループス腎炎患者の腎生検および剖検腎組織を免疫染色したところ、一部の患者で RRP8 と TNP1 の両方、もしくはいずれか一方の免疫複合体の沈着を認めた。これらの自己抗原に対する ELISA を作成し抗体価を測定した。健常人の平均+5SD をカットオフとしたところ、抗 RRP8 抗体の陽性率は SLE で 20%、皮膚筋炎 3.3%、関節リウマチで 5.5%、ベーチェット病で 4.5%であった。さらに、ループス腎炎患者での陽性率は、腎炎のない SLE 患者と比較して有意に高かった(63.6% v s 12.5%)。一方、抗 TNP1 抗体陽性率はループス腎炎患者で 45.5%、腎炎のない SLE 患者で 9.4%、関節リウマチ 1.8%、ベーチェット病 9.1%であった。抗 RRP8 抗体価と抗 TNP1 抗体価は、抗 dsDNA 抗体価および SLEDAI スコアと弱い相関を認めた。抗 RRP8 抗体・抗 TNP1 抗体はともに非活動期に低下していた。RRP8 もしくは TNP1 との免疫複合体はマウスの腎糸球体に基底膜肥厚や、蛍光抗体法で免疫複合体の沈着を誘導した。

#### 結論：

ループス腎炎患者の血清中に抗 RRP8 抗体、抗 TNP1 抗体を認めた。これらの抗体は他疾患と比較しループス腎炎に有意に認められ、さらに腎生検の免疫染色でこれらの自己抗原の免疫複合体沈着を認めた。また、RRP8、TNP1 をマウスに投与したところ腎組織に免疫複合体の沈着を認めた。したがって、RRP8、TNP1 は腎炎発症の病因に関与すると考えられた。これらの自己抗体は抗 dsDNA 抗体陰性ループス腎炎の診断および活動性のバイオマーカーになることが示唆された。

#### 意義：

本研究は、ループス腎炎の発症の原因となり、ループス腎炎の病勢に関係する特異的な自己抗体を同定したものである。これまで SLE の病勢にもっとも関係しているとされてきた自己抗体は抗 dsDNA 抗体であったが、ループス腎炎の病勢との関連性に不十分な点があった。今回新たに同定した 2 つの抗原はループス腎炎の原因となりうる新たなバイオマーカーであり、今後のループス腎炎のバイオマーカーとして広く利用される可能性がある。

#### 審査結果：

本研究に関する公開審査会は平成 27 年 1 月 21 日に行われた。主査副査から以下のような質義がなされた。ヒトループス腎炎生検例における蛍光免疫染色の結果の相違が何を反映しているのかに関する質問、マウスモデルにおいて腎炎をどの程度まで再現できるのかという質問、ループス腎炎の病勢の評価に関する質問、マウスに RRP8 蛋白質や TNP 蛋白質を免疫するモデルはどのようなタイプの腎炎を起こすのかという質問や、今回新規に同定された抗原の組織局在に関する質問がなされた。また、マウスモデルで免疫しても腎炎のおこらない陰性コントロールが必要ではないかという意見や、ループス腎炎の活動性病変を判別するカットオフ値の決定の際に ROC 曲線、感度、特異度などを多方面から検討した方がよいのではないかという意見が出された。申請者はこれらの質疑に的確に応答し、最後に今後の研究発展への展望を述べた。