

学 位 論 文 要 旨

氏 名 松枝 佑



論文題目

「Synergistic enhancement of production of proinflammatory cytokines of human peripheral blood monocytes by anti-Sm and anti-RNP antibodies」

(抗 Sm 抗体と抗 RNP 抗体によるヒト末梢血単球の炎症性サイトカイン産生の相乗的増加作用)

指導教授承認印

山岡 邦宏



「Synergistic enhancement of production of proinflammatory cytokines of human peripheral blood monocytes by anti-Sm and anti-RNP antibodies」

(抗 Sm 抗体と抗 RNP 抗体によるヒト末梢血単球の炎症性サイトカイン産生の相乗的増加作用)

氏名 松枝 佑

背景及び目的

抗 RNP 抗体は、全身性エリテマトーデス(SLE)および混合性結合組織病に出現する自己抗体である。抗 RNP 抗体は、ヒト末梢血単球と反応し炎症性サイトカインの産生を増加させることが明らかになっている。一方、抗 Sm 抗体は、SLE に特異的な自己抗体であり、SLE による精神神経症状の最重症型である急性混迷状態と深く関係していることが知られている。一般的に、抗 Sm 抗体は単独で陽性になることはなく、抗 RNP 抗体と抗 Sm 抗体の両方が陽性となる。しかしながら、抗 Sm 抗体の SLE の病態形成における作用や、単球に与える影響については未だ明らかになっていない。抗 Sm 抗体の認識する抗原は抗 RNP 抗体の認識する抗原と密接に関連していることから、抗 RNP 抗体と同様にヒト末梢血単球に結合し、炎症性サイトカイン産生を増加させる可能性がある。本研究は、単球に対する抗 Sm 抗体の役割を明らかにすることを目的とした。特に抗 Sm 抗体と抗 RNP 抗体による単球の炎症性サイトカイン産生に関する効果に注目した。

方法

健康人ボランティアより末梢血を採取し、Ficoll 比重遠心法にて末梢血単核球を分離し、磁気ビーズ法により単球を単離した。得られた単球を、マウスモノクローナル抗ヒト Sm 抗体 (抗 Sm mAb)、マウスモノクローナル抗ヒト UI RNP 抗体 (抗 RNP mAb) または対照 IgG1 または IgG3 を用いて様々な条件で染色し、それぞれの抗体の結合をフローサイトメトリーで検討した。また、単球を抗 Sm mAb、抗 RNP mAb または対照 IgG1 または IgG3 の存在下で様々な条件で培養し、培養上清中の IL-6 および TNF α を ELISA により測定した。さらに、単球における IL-6・TNF α および NF κ B の種々の component に対する mRNA の発現をリアルタイム PCR 法にて測定した。また一部の実験においては、抗 Sm mAb と抗 RNP mAb の代わりにヒト患者血清から分離した抗 Sm 抗体および抗 RNP 抗体の単球に対する効果を検討した。

結果

抗 Sm mAb および抗 RNP mAb の両方が、単離した直後の単球よりも平底プラスチックプレート上で 24 時間培養した活性化単球に、顕著に結合した。注目すべきことに、単球を抗 Sm mAb もしくは抗 RNP mAb の存在下で培養すると、これらの抗体の単球への結合がさらに増加した。

抗 Sm mAb および抗 RNP mAb の両方とも、ヒト末梢血単球による IL-6 産生を用量依存的に増加させたが、後者は前者よりも強力であった。さらに、抗 Sm mAb は、抗 RNP mAb のヒト単球による IL-6 および TNF α 産生を相乗的に増強した。ヒト IgG もしくはヒト IgG F(ab')₂ を培養に添加した両実験において、抗 Sm mAb の抗 RNP mAb のヒト単球による IL-6 産生の相乗的増強は、減弱しなかった。また、患者血清から分離した抗 Sm 抗体と抗 RNP 抗体を用いた培養実験においても、抗 Sm 抗体は、抗 RNP 抗体のヒト単球による IL-6 産生を相乗的に増強した。

一方、抗 Sm mAb は、抗 RNP mAb 存在下においてのみ単球の IL-6 および TNF α mRNA の発現を有意に増強した。NF κ B の種々の component に対する mRNA のなかで、抗 RNP mAb は単球の RelA mRNA の発現のみを有意に増強したが、抗 Sm mAb は全ての component の mRNA 発現に対して有意な効果を示めなかった。

NF κ B 阻害薬である N-acetyl cysteine や pyrrolidine dithiocarbamate の存在下では、抗 Sm mAb 単独の IL-6 産生は完全に抑制されたが、抗 Sm mAb による抗 RNP mAb 存在下の単球 IL-6 産生に対する増強効果は残存した。

抗 Sm mAb と抗 RNP mAb によるヒト末梢血単球の IL-6 産生は、actin 重合阻害剤である cytochalasinD を添加することで、顕著に減弱した。

結論

一般的には、抗 Sm 抗体も抗 RNP 抗体も核タンパク質を認識すると考えられている。本研究では、ヒト末梢血単球の表面に抗 Sm 抗体および抗 RNP 抗体が認識するエピトープが存在することが示された。それらのエピトープの発現は単球の活性化により増加することも明らかになった。

さらに重要なことには、抗 Sm 抗体は、抗 RNP 抗体存在下の単球の炎症性サイトカインの産生を相乗的に増強することが示された。この相乗的増強は、ヒト IgG もしくはヒト IgG F(ab')₂ の添加により減弱しなかったため、Fc レセプターへの作用を必要としない効果であると考えられる。また、抗 Sm 抗体は NF κ B の種々の component の mRNA の発現には全く影響を与えず、NF κ B 阻害薬は抗 Sm 抗体の相乗効果に影響を与えなかったことから、この相乗的増強は NF κ B 経路を介した効果ではないことが示唆された。

本研究の結果より、抗 Sm 抗体は単球の炎症性サイトカインの産生を増強することにより、SLE における脳血液関門の障害にも関与する可能性が強く示唆される。今後は抗 Sm 抗体の単球に対する作用の分子メカニズムの詳細についてさらに検討してゆく必要がある。