

イムノコンプレキソーム解析による 中枢神経ループスにおける新規標的分子の解析



長崎大学大学院医歯薬学総合研究科先進予防医学講座（第一内科） 講師 一瀬 邦弘

【研究目的】

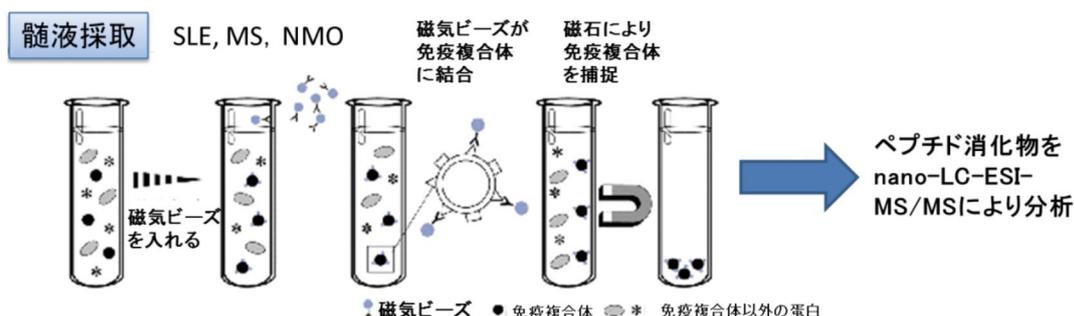
中枢神経ループス（NPSLE）は全身性エリテマトーデス（SLE）の中でも、認知機能障害、精神障害、うつ病、脳血管障害など多様な中枢神経症状を呈するが、これまでその特異的標的分子は明らかにされていない。我々はイムノコンプレキソーム法（特願2010-231935）にて同定した新規自己抗体のNPSLEにおける機能的意義を明らかにしたいと考えた。

【背景】

中枢神経ループス（NPSLE）の診断は症状、画像診断、髄液中のサイトカイン、抗リボソームP抗体の検出などを用いて行われてきたが、全身性エリテマトーデス（SLE）の血清学的活動性を示さず、診断が困難な症例も少なくない。古くから髄液中の免疫グロブリン産生が亢進していることから髄液中の特異的自己抗体の存在が示唆されていたが、これまで検出頻度の高い特異性を示す自己抗体は見出されていない。一方、中枢神経系の慢性炎症性脱髄疾患である多発性硬化症（MS）や視神経脊髄炎（NMO）はNPSLEと同様にIL-6やIL-17などの炎症性サイトカインの産生が亢進し、また血液脳関門（BBB）が破壊されることにより、血清由来の免疫複合体が含まれていることが想定される疾患である。大山らは血清中で免疫複合体を形成している抗原を網羅的に解析する“イムノコンプレキソーム解析法”を新たに開発し（特願2010-231935）、関節リウマチ患者の血清試料へ応用した（Clin Chem. 2011 Jun; 57(6):905-9）。今回我々は同様の手法を用いてNPSLE患者の髄液から免疫複合体の検出を行った。

【研究結果】

方法としては免疫複合体をProtein G 固定化磁気ビーズで捕集しペプチド消化物をnano-LC-ESI-MS/MSにより分析し、解析ソフト（BioworksTM, v.3.3）とデータベース検索（International Protein Index, v.3.67）でタンパク質を同定するというものである。今回、我々は同法を用いてNPSLE患者の髄液試料へ応用し、MS群及びNMO群では全く検出されず、NPSLE群でのみ高頻度に検出された抗原タ



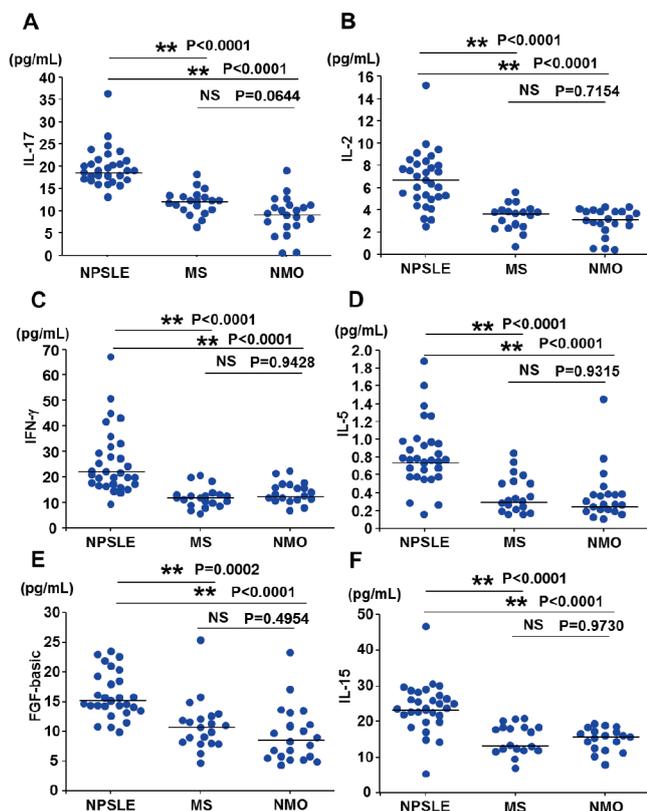


図 1

ンパク質suprabasin (SBSN) に着目をした。さらにNPSLE患者における、髄液中のサイトカインプロファイルについて検討を行い、診断に有用なマーカーを検索した。さらにNPSLE群、MS群、NMO群患者の髄液をBio-Plex ProAssaysを用いて同時に27種類のサイトカイン、ケモカイン、成長因子について検討を行った。その結果、IL-17, IL-2, IFN- γ , IL-5, FGF-basic, IL-15はNPSLE群と他の2群とを判別する有用なマーカーであることが明らかとなった(図1)。また抗SBSN抗体のアッセイ法として、カイアシルシフェラーゼ免疫沈降法を利用して,SBSNを認識する抗体(免疫グロブリンGクラス)の検出法を確立した。その結果、髄液中/血清中抗SBSN抗体はNPSLE群において、中枢神経症状を伴わないSLE群、MS群、NMO群と比して有意に高値であった。現在、サンプル数を増やし、そのアッセイ系の有用性を確認している。さらに、

NPSLE患者の髄液では抗老化作用を有するKlothoタンパクの発現低下を来していることが明らかとなり、抗SBSN抗体による機能変化の一つとして細胞の老化シグナルがマイクロアレイによる解析で有意に変化していることが分かった。

【成果論文】

1. Ichinose K et.al; Distinguishing the cerebrospinal fluid cytokine profile in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus from other autoimmune neurological diseases. Clin Immunol. 2015 Apr; 157(2):114-20. doi: 10.1016/j.clim.2015.01.010.
2. Ichinose K et.al; Predictors of clinical outcomes in patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. Cytokine. 2016 Mar; 79:31-7. doi: 10.1016/j.cyto.2015.12.010.
3. Ushigusa T, Ichinose K et.al; Soluble α -klotho is a potential biomarker associated with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. Clin Immunol. 2016 Mar 4;165:29-34. doi: 10.1016/j.clim.2016.03.001.

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり多大なご支援を賜りました公益財団法人難病医学研究財団の関係者の方々に深く御礼申し上げます。