

サルコイドーシスにおける自己抗体網羅的検索

横浜市立大学医学部大学院視覚器病態学講座 助教 河越 龍方



【背景・目的】

サルコイドーシスは、両側肺門リンパ節・肺・眼・皮膚をはじめとした全身の様々な臓器に、非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を形成する、原因不明の疾患である。血清ACE（angiotensin converting enzyme）の上昇やCa代謝異常などの検査所見が診断の参考になるが、現在のところ本疾患を特定するためのバイオマーカーとして確実な指標は存在しない。そこで本研究では、サルコイドーシスに対する診断を、正確かつ迅速におこなうための診断指標となりうるマーカーの探索を目的とした。

サルコイドーシスにおけるB細胞の役割はまだよくわかっていないが、CD20抗体を用いると病態が改善するという報告が散見され、その関与は大きいと考えられる。また、サルコイドーシス患者血液中ガンマグロブリンは高値を示すことが多く、やはり病態形成に自己抗体が関与していると推察できる。しかしこれまで、自己抗体を定性的に同定するための機能的な方法が無かったため、詳しい研究はおこなわれてこなかった。今回我々は、研究協力者である愛媛大学澤崎達也博士らが開発した、新規自己抗体網羅的検索技術を用いて、サルコイドーシス患者血清中自己抗体のプロファイリングをおこなった。

【方 法】

一般的に自己免疫疾患における自己抗体の検出では、ELISA法が用いられる。しかし、スクリーニング目的に、数千種類のタンパク質を精製し実用化することは現実的には難しい。また、未精製タンパク質を用いた反応を行うと非常にバックグラウンドが高くなり、信頼性の高いデータを得ることが容易ではない。大規模な自己抗体プロファイリングを行うためには、新しい高感度な抗原抗体反応を検出する技術が必要とされていた。研究協力者の澤崎らは小麦胚芽を用いて大量にタンパク質合成をおこなう技術を開発した。その技術を応用し、1) 目的のタンパク質だけを特異的にビオチンでラベル化し、ビオチン化タンパク質のみを検出するという方法を用いて反応の特異性を劇的に高める、2) 簡便で高感度なおかつ液相化タンパク質を検出できるAlphaScreen法を用いる、といった技術上の改善に成功し、自己抗体の大規模スクリーニングが可能な系を構築した（Matsuoka et al. J Proteome Res. 2010 ; 9 (8) : 4264-73）。今回この方法を用いて、サルコイドーシス患者の血清中自己抗体を網羅的にスクリーニングした。特異的な抗体の上昇を認めるか、特徴的な抗体上昇パターンを示すかなど、他疾患の結果と比べ差異化できるか検討した。

平成23年度は、横浜市立大学医学部附属病院を受診した、サルコイドーシス、ベーチェット病、vogt-小柳-原田病、視神経炎、BDUMP（bilateral diffuse uveal melanocytic proliferation）の患者血清を、患者に本研究の意義を十分説明し納得をえたうえで採取し、研究実施対象とした。

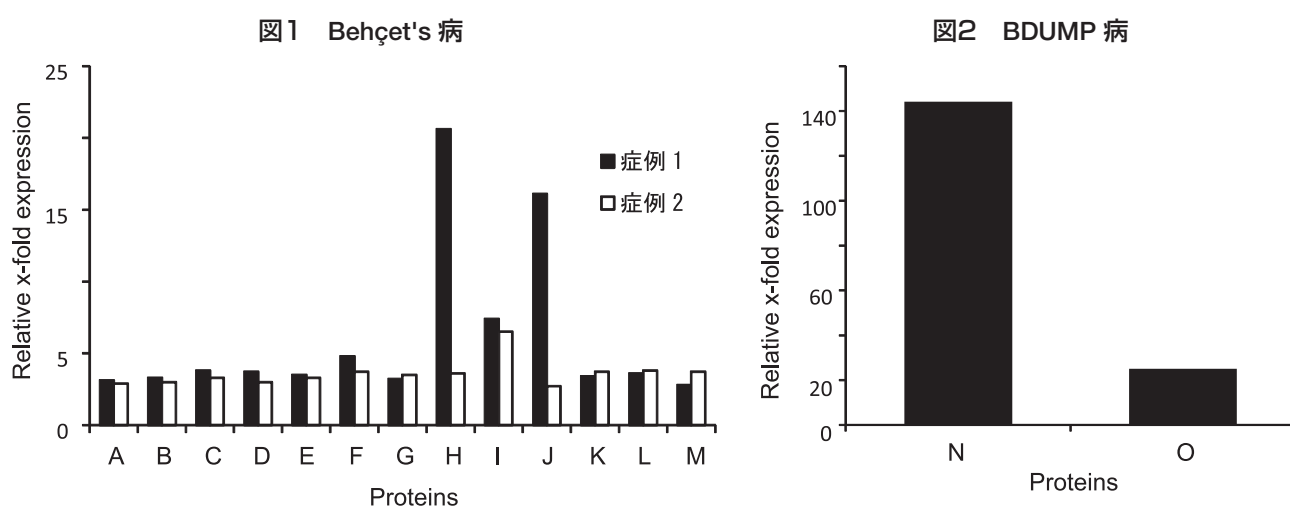
平成24年度は、共同研究施設である愛媛大学プロテオサイエンスセンターにて、自己抗体網羅的検

索技術を用いて、患者血清中自己抗体スクリーニングをおこなった。

本研究は横浜市立大学附属病院倫理委員会にて承認を受け【承認番号 B110707051およびB120301001】、厚生労働省の定める倫理指針および学内の倫理指針に沿って行われた。

【結 果】

サルコイドーシスにおいて、今回スクリーニングに用いた2000種類のタンパク質に対しする自己抗体は見つからなかった。それに比し、ベーチェット病およびBDUMPにおいて特異的自己抗体の存在を見つけることができた（図1，図2参照）。



【考 察】

今回スクリーニングに用いたタンパク質は2000種類超と大変多いものであり、しかも、疾患を引き起こす可能性が高いと考えられる免疫関連タンパク質、細胞膜表面発現タンパク質を選んでスクリーニングした。しかしサルコイドーシスにおいては、自己抗体が検出されなかった。このことより、サルコイドーシスにおいては細胞表面ではなく、細胞内タンパク質に対する自己抗体が疾患形成に寄与している可能性が考えられる。

サルコイドーシスの臨床所見は多岐に渡りまた病理所見も多彩であるため、様々な原因からなる非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を形成する疾患の集まりであるとも推測することもできる。そのため今回調べた症例では陽性反応を示さなかったが、他の症例では陽性を示す可能性もあるため、さらに検体を採取し検討していく必要がある。

最後に、難病医学研究財団およびご寄付を頂いた皆様方に深く御礼申し上げます。今後本研究をさらに推し進めていき、難病医療の発展につなげていく所存です。