

5) 全身性エリテマトーデス患者血清中のリボソーム
構成成分に対する自己抗体の解析

新潟県立中央病院内科 佐藤健比呂
新潟大学医学部第一生化学 内海 利男・木南 凌
新潟大学医学部第二内科 荒川 正昭

Anti-Ribosomal Autoantibodies in Patients with
Systemic Lupus Erythematosus

Takehiro SATO, Toshio UCHIUMI*, Ryo KOMINAMI*
and Masaaki ARAKAWA**

Department of Internal Medicine, Niigata Prefectural Central Hospital
Department of Biochemistry and Medicine (II)**,*
Niigata University School of Medicine

We examined sera from 90 active patients with systemic lupus erythematosus (SLE) for the presence of anti-ribosomal protein antibodies by Western-blotting, and also tested these sera for reactivity with ribosomal RNA (rRNA) by RNase T1 protection assay. Anti-P, anti-S10 and anti-L12 protein antibodies were detected in 38 (42%), 28 (31%) and 2 (2%) patients' sera, respectively. The anti-RNA antibody specific for the GTPase domain of 28S rRNA (anti-28S) was present in 15 (17%) sera. Cutaneous manifestations were dominant in anti-P, anti-S10 as well as anti-28S positive patients. Among 38 anti-P positive patients 3 developed acute lupus psychosis, and another 5 showed depression during their course of disease. These observations suggest that anti-ribosomal antibodies provide a useful marker for this disease. All anti-28S positive sera also contained anti-P activity and two of them have anti-L12 as well. There is no difference of anti-S10 frequency between anti-P positive sera and negative ones. It is therefore likely that strong association of three anti-ribosomal antibodies to the P proteins, L12 and GTPase domain of 28S RNA is due to an immune response against the limited RNA-protein complex domain in the ribosome.

Key words: SLE, antiribosomal antibodies, lupus psychosis, RNA-protein complex

全身性エリテマトーデス, 抗リボソーム抗体, ループス精神病, RNA 蛋白質複合体

Reprint requests to: Takehiro SATO,
Department of Internal Medicine,
Niigata Prefectural Central Hospital,
Ootemachi 3-20, 943, JAPAN.

別刷請求先: 〒943 新潟県上越市大手町3-20
新潟県立中央病院内科 佐藤健比呂

はじめに

全身性エリテマトーデス（以下 SLE）患者血清中からは、核成分や細胞質成分に対する種々の自己抗体が検出され、抗二本鎖 DNA 抗体と抗 Sm 抗体は、疾患標識抗体として、SLE の分類基準の項目に挙げられている。

一方、古くから SLE 患者血清中には、リボソームに対する抗体が検出されることが知られている。真核細胞のリボソーム（沈降定数 80S）は、約80種類の蛋白質と4種類の RNA から構成される巨大複合体で、60S の大亜粒子と 40S の小亜粒子からなり、蛋白質合成の場となっている。最近の研究で、自己抗原となるのは、これら多くの成分のうち、ごく限られたものだけであることが示されつつある。SLE 患者血清が認識するリボソーム蛋白質自己抗原として、最初に P0, P1, P2 の3種類の酸性リン蛋白質（以下P蛋白質）が同定され¹⁾、Elkon らの研究により、そのエピトープが、P0, P1, P2 に、共通して存在するC末端22アミノ残基に含まれることが示された²⁾。次に、Bonfa らにより小亜粒子中の分子量 20 kDal の蛋白質 S10³⁾、著者らによりリボソーム大亜粒子中の分子量 20 kDal の蛋白質 L12⁴⁾ が、リボソーム蛋白質自己抗原として同定された。一方、rRNA に対する抗体も、SLE 患者血清中に存在することが知られていた。この抗体が、リボソーム RNA 分子のある特定部位を認識するかどうかについては、明らかでなかったが、最近、Uchiumi らにより、ヒトリボソーム大亜粒子中 28 SrRNA の、塩基 1944 から 2002 部位の59塩基断片を特異的に認識する抗体（抗 28S）が、SLE 患者血清から検出された⁵⁾。この抗原部位は、リボソーム

の延長因子依存性の GTPase 活性に重要な役割を果たす GTPase domain とも称される機能部位で、真核細胞では種を越えて良く保存されている。

今回、私達は、活動期 SLE 90例を対象として、これらリボソーム構成成分に対する自己抗体の頻度と臨床症状との関連について検討した。さらに、これらの抗体出現の相関関係を抗原成分の複合体構造の面から考察した。

対象と方法

ARA の分類基準⁶⁾を満足する SLE 90例の活動期血清を用いた。また、対照として、他の膠原病30例と健康成人15例の血清を用いた。

リボソーム蛋白質に対する抗体の同定には、ウィスターラット肝より調整したリボソーム蛋白質を抗原とした16% SDS-PAGE とウェスタンブロット法、二次元電気泳動とウェスタンブロット法、dot-immunobinding assay を併用した⁴⁾⁷⁾。また、28SRNA に対する抗体（抗 28S）は、既報のごとく検出した⁵⁾。すなわち、マウスおよびヒト 28SrRNA の種々の断片に対応する cDNA を鋳型にして、各 RNA 断片を、SP-6 ポリメラーゼを用いて in vitro で合成し、抗原として用いた。RNA と抗体との反応性は、RNase T1 消化からの保護実験によって分析した。

表 1 リボソーム構成成分に対する抗体の頻度（活動期 SLE 90例）

抗 P 抗体	38例	(42%)
抗 S10抗体	28例	(31%)
抗 L12抗体	2例	(2%)
抗28S 抗体	15例	(17%)

表 2 リボソーム構成成分に対する抗体と臨床症状との関連

	P+ (n=38)	P- (n=52)	S10+ (n=28)	S10- (n=62)	28S+ (n=15)	28S- (n=75)
平均年齢	31	35	29	35	30	34
女性	92%	94%	89%	94%	100%	92%
腎障害	74%	56%	68%	63%	53%	65%
皮膚症状	87	52	82	60	93	61
漿膜炎	21	27	25	24	20	25
関節炎	42	48	57	40	27	51
血液異常	95	87	96	87	93	89

P<0.05

結 果

P蛋白質に対する抗体(抗P), S10蛋白質に対する抗体(抗S10), L12蛋白質に対する抗体(抗L12), 抗28Sは, それぞれ, 38(42%), 28(31%), 2(2%), 15例(17%)で陽性であった(表1). なお, 他の膠原病30例, 健常成人15例では, いずれの抗体も検出されなかった. また, SLE 90例の血清を用いた検討の範囲では, 他のリボソーム蛋白質に対する抗体はみられなかった. また, RNase T1 消化からの保護実験でも, 28SrRNA分子上に抗28S抗原部位(GTPase domain)以外の特異的抗原部位は検出されなかった.

これらの抗体と臨床症状との関連を表2に示す. 抗P, 抗S10, 抗28Sの有無で, 腎障害の頻度には差はなかったが, いずれの抗体も, 顔面紅斑や凍瘡様皮疹などの皮膚症状を認めた例に出現頻度が高かった. また, 器質的精神障害と抗Pに関連はみられなかったが, 経過中にいわゆる機能的な精神障害を示した5例全例に, 治療前, 精神症状発現時ともに抗Pが検出され, うち3例は抗28Sも陽性であった(表3). なお, 抗L12陽性2例にのみ特異的に出現した臨床症状はなかった.

次に, それぞれの抗体相互の関係を示す(表4). 抗28S陽性15例は全て抗P陽性であった. また, 抗L12陽性2例も抗P陽性で, さらに, この2例は抗28Sも陽性であった. 一方, 抗S10と抗Pとの関連は無かった.

考 察

リボソーム構成成分に対する抗体は, SLE以外の膠原病では検出されず, 抗二本鎖DNA抗体や抗Sm抗体とならんで, その疾患標識抗体として重要であると考えられる.

SLEにおける抗Pならびに抗S10の出現頻度は, 欧米で, それぞれ, 12~19%^{8)~10)}, 11%³⁾と報告されており, その頻度は今回の成績と比べると低率である. また, 抗L12抗体については, 著者ら以外の研究グループからの報告はない⁴⁾. おそらく, 活動期における抗体産生能の高い時期のSLE血清のみを今回の検討で用いたことにより, リボソームに対する抗体の出現頻度が高率になり, 新しい抗体も検出できたと考えられる. しかし, 最近, 他の日本のグループから, 抗PがSLEの42%に検出されたとの報告¹¹⁾もあり, 頻度の差が人種による可能性も否定できない. 一方, 今回の検討における抗28Sの頻度は, 17%(15/90)と, Chuらの成績¹²⁾(42%)と比べて低率であった. おそらく, この差異は

表3 リボソーム構成成分に対する抗体と精神症状との関連

	P+ (n=38)	P- (n=52)	28S+ (n=15)	28S- (n=75)
器質的精神障害	3	3	1	5
機能的な精神障害	5	0	3	2
他のCNS障害	4	4	1	7

P<0.05

表4 リボソーム構成成分に対する抗体相互の関連

	P+ (n=38)	P- (n=52)
28S	15	0
L12	2	0
S10	14	14

P<0.01

測定方法の差であろうと著者らは推測している. すなわち, Chuらの成績は, 抗原RNA断片を用いた免疫沈降法によるものであり, SLE血清中に存在する非特異的抗RNA抗体による干渉を十分には排除できていないと考えられる. 特異的な抗RNA抗体の検出には, 著者らのRNase T1消化からの保護実験法の方が優れていると思われる.

ところで, 1986年, Bonfaらが, ループス精神病を示したSLE 6例全例に抗Pを検出し⁸⁾, その後, 20例のループス精神病の18例(90%)が抗P陽性であることを報告⁹⁾して以来, 抗Pが, SLEの精神症状と関連することが指摘されてきている. 抗Pが, 髄液中に存在することや大脳皮質ニューロンと親和性を示すこと¹³⁾もこの事実を示唆している. また, Schneebaumら¹⁰⁾は, 精神症状を示したSLE 29例中13例(45%)に抗Pを検出し, そのうち抑うつ状態を示した8例中7例(88%)が抗P陽性であったこと, さらに, 臨床的に反応性の機能的な精神病と診断された例でも抗P陽性例が存在することも報告している. 今回の成績では, 活動性の器質的精神障害を示した6例中3例(50%)が抗P陽性で, 抗P陽性・陰性例の間で, その発症率に差がみられなかった. しかし, 臨床的に機能的な精神障害を示したと考えられる5例全例に抗Pが検出されたことから, 抗Pが精神症状発現を予測する有用な指標と考えられた. なお, 5例中3例に抗28Sも検出された. 機能的な精神症状を示し, 抗Pが持続的に陽性であった1例を呈示する(図1). 症

症例：渡○京○、43歳、女性、SLE

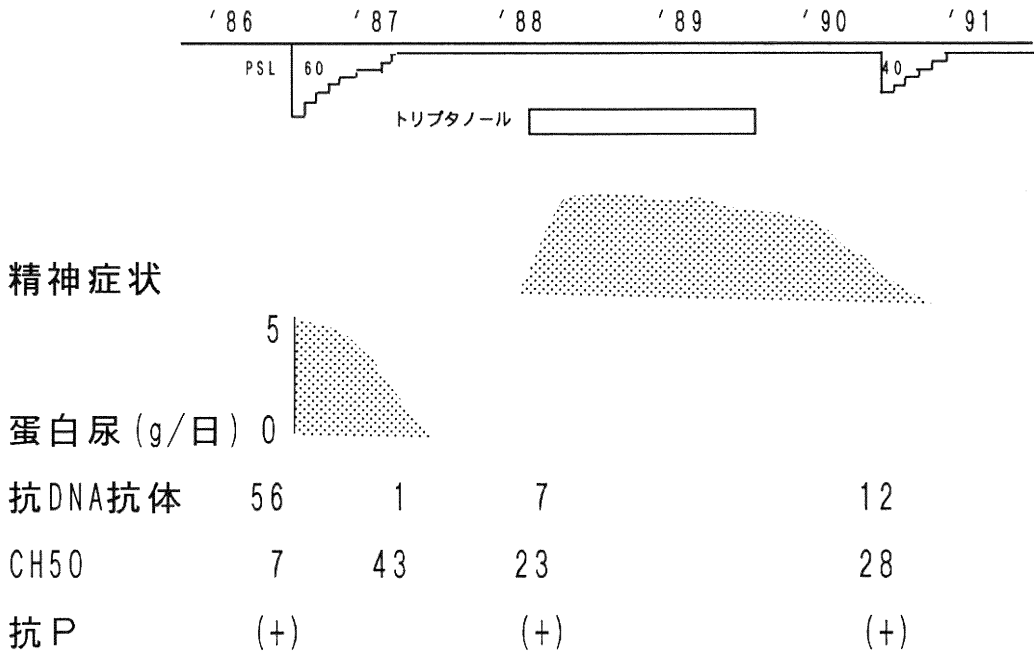


図1 症例の経過表

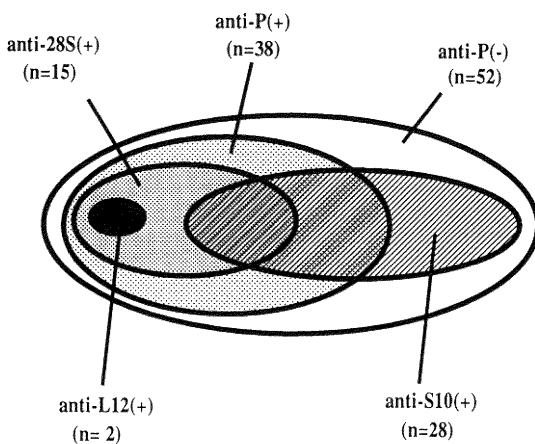


図2 リボソームに対する抗体相互の関連模式図

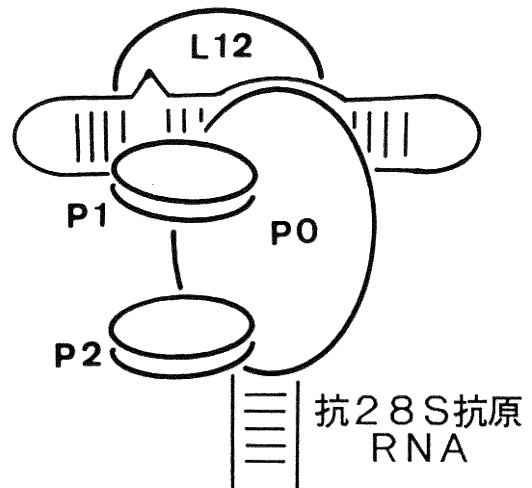


図3 大亜粒子中のP蛋白質・L12と抗28S抗原RNAの立体構築

大亜粒子中には、28S、5S、5.8SRNAと約40種類の蛋白質が含まれるが、その内の一部の機能ドメインに対応している。

例は、43歳、女性。1986年に、ループス腎炎でSLEが発症し、治療により改善したが、1988年、特に誘因なく、抑うつ状態が出現したため、三環系抗うつ薬で治療した。抗DNA抗体は、SLE発症時には陽性であったが、精神症状発現時には、陰性であった。抗Pは、経過を通じて陽性を示している。一方、これまで抗S10や抗28S陽性例の臨床症状の特徴に関する報告はないが、抗Pと併せて皮膚症状の出現頻度が高いことから、これらのリボソーム構成成分に対する自己抗体が皮膚症状発現の一部に関与している可能性も考えられる。

次に、検出されたリボソーム構成成分に対する抗体の相互関係を模式的に図2に示した。明らかに、抗P、抗28S、抗L12三者の産生に強い関連があることがわかる。最近、Uchiumiらにより、P蛋白質とL12が抗28S抗原部位と特異的に結合することが示された¹⁴⁾。すなわち、三種の抗体の産生は、近接した立体構築を示すユニークなRNA-蛋白質複合体構造に対する免疫反応の結果と理解できる(図3)。また、三者がGTP水解に密接に関連していることが判明しており、ヒトの自己抗体によって認識されるエピトープは蛋白質の機能部位であるというTanらの仮説¹⁵⁾を支持するものと考えられる。

最後に、抗S10と他の抗リボソーム抗体とは明らかな関連はみられなかったが、抗S10は抗Smと高い関連性を示した。Nojimaら¹⁶⁾は、分子量21 kDalのリボソーム蛋白質(RP21)に対する抗体がSm抗原のB、Dペプチドと交差反応性を有することを報告しているが、このRP21が、ほぼS10と同じ分子量の蛋白質であることから、彼らのRP21はS10である可能性があると考えられた。

ま と め

1) リボソーム構成成分に対する抗体は、SLEに特異的で、高頻度に検出された。

2) 同抗体は、皮膚症状と関連し、さらに、抗Pと抗28Sは、精神症状の発現を予測する一つの指標と考えられた。

3) リボソーム構成成分に対する抗体産生の一部に、エピトープの立体構築に関与している可能性が示唆された。

謝 辞

本研究の一部は、平成4年度新潟大学医学部研究助成金を用いて行った。

参 考 文 献

- 1) Elkon, K.B., Parnassa, A.P. and Foster, C.L.: Lupus autoantibodies target ribosomal P proteins, *J. Exp. Med.*, **162**: 459~471, 1985.
- 2) Elkon, K., Shelly, S., Parnassa, A., Moller, W., Danho, W., Weissbach, H. and Brot, N.: Identification and chemical synthesis of a ribosomal protein antigenic determinant in systemic lupus erythematosus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **83**: 7419~7423, 1986.
- 3) Bonfa, E., Parnassa, A.P., Rhodes, D.D., Roufa, D.J., Wool, I.G. and Elkon, K.B.: Antiribosomal S10 antibodies in humans and MRL/lpr mice with systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.*, **32**: 1252~1261, 1989.
- 4) Sato, T., Uchiumi, T., Kominami, R. and Arakawa, M.: Autoantibodies specific for the 20-KDal ribosomal large subunit protein L12, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **172**: 496~502, 1990.
- 5) Uchiumi, T., Traut, R.R., Elkon, K. and Kominami, R.: A human autoantibody specific for a unique conserved region of 28S ribosomal RNA inhibits interaction of elongation factors 1 α and 2 with ribosome, *J. Biol. Chem.*, **266**: 2054~2062, 1991.
- 6) Tan, E.M., Cohen, A.S., Fries, J.F., Masi, A.T., McShane, D.J., Rothfield, N.F., Schaller, J.G., Talal, N. and Winchester, R.J.: The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.*, **25**: 1271~1277, 1982.
- 7) Sato, T., Uchiumi, T., Ozawa, T., Kikuchi, M., Nakano, M., Kominami, R. and Arakawa, M.: Autoantibodies against ribosomal proteins found with high frequency in patients with systemic lupus erythematosus with active disease, *J. Rheumatol.*, **18**: 1681~1684, 1991.
- 8) Bonfa, E. and Elkon, K.B.: Clinical and serologic association of the antiribosomal P protein antibody, *Arthritis Rheum.*, **29**: 981~985, 1986.
- 9) Bonfa, E., Golombek, S.J., Kaufman, L.D., Skelly, S., Weissbach, H., Brot, N. and Elkon,

- K.B.:** Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies, *N. Engl. J. Med.*, **317**: 265~271, 1987.
- 10) **Schneebaum, A.B., Singleton, J.D., West, S.G., Blodgett, J.K., Allen, L.G., Cheronis, J.C. and Kotzin, B.L.:** Association of psychiatric manifestations with antibodies to ribosomal P proteins in systemic lupus erythematosus, *Am. J. Med.*, **90**: 54~62, 1991.
- 11) **Nojima, Y., Minota, S., Yamada, A., Takaku, F., Aotsuka, S. and Yokohari, R.:** Correlation of antibodies to ribosomal P protein with psychosis in patients with systemic lupus erythematosus, *Ann. Rheum. Dis.*, **51**: 1053~1055, 1992.
- 12) **Chu, J.L., Brot, N., Weissbach, H. and Elkon, K.:** Lupus antiribosomal P antisera contain antibodies to a small fragment of 28S rRNA located in the proposed ribosomal GTPase center, *J. Exp. Med.*, **174**: 507~514, 1991.
- 13) **Golombek, S.J., Graus, F. and Elkon, K.B.:** Autoantibodies in the cerebrospinal fluid of patients with systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.* **29**: 1090~1097, 1986.
- 14) **Uchiumi, T. and Kominami, R.:** Direct evidence for interaction of the conserved GTPase domain within 28S RNA with mammalian ribosomal acidic phosphoproteins and L12, *J. Biol. Chem.*, **267**: 19179~19185, 1992.
- 15) **Tan, E.M.:** Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology, *Adv. immunol.* **44**: 93~151, 1989.
- 16) **Nojima, Y., Minota, S., Yamada, A. and Takaku, F.:** Identification of an acidic ribosomal protein reactive with anti-Sm autoantibody, *J. Immunol.*, **143**: 1915~1920, 1989.
-