

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 張 高正
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 1025 号
学位授与の日付 令和3年9月21日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Mood Disorder in Systemic Lupus Erythematosus Induced by Antiribosomal P Protein Antibodies Associated with Decreased Serum and Brain Tryptophan.
(抗P抗体はSLEにおいて血中・脳中トリプトファンの低下を介して気分障害を引き起こす)
論文審査委員 主査 教授 片貝 智哉
副査 教授 小野寺 理
副査 講師 中枝 武司

博士論文の要旨

【背景】

リボソームP蛋白はリボソームの60Sサブユニットに存在する3種類の酸性リン酸化蛋白の総称で、P0 (38kDa)、P1 (19kDa)、P2 (17kDa) からなり、C末端の22個のアミノ酸からなる共通抗原決定基を有する。抗リボソームP抗体は3種のリボソームP蛋白を認識する自己抗体であり、SLEの自己抗原の1つとして同定されループス精神病や皮疹、ループス腎炎や肝炎と関連する。申請者らは抗リボソームP抗体の抗原となるリボソームP0, P1, P2複合体にリボゾームRNA (rRNA) を結合した複合体をリン酸化し、SLEモデルマウスであるMRL/lrpマウスに変性剤を用いずに免疫し、P0, P1, P2共通抗原を認識する抗リボソームP抗体を34クローンで得た。抗リボソームP抗体においてリン酸化したP1, P2により強く反応する抗体(9D5)と、リン酸化および非リン酸化P1, P2に同等に反応する抗体(4H11)の2種類が得られ、得られた抗リボソームP抗体はリボソームP蛋白のGTPase活性を阻害した(Sato H., Uchiyama T. et al. Clin Exp Immunol 2015;179:236-244)。

【目的】

得られたマウスモノクローナル抗体(9D5/4H11)をマウスに投与することにより、精神障害の発症を評価し、抗P抗体による細胞障害・臓器障害の機序の解明を目的とした。

【方法】

SLEモデルマウスで抗P抗体を産生しないNZBWメスマウスとコントロールとしてNZWマウス、BL6マウス、BALBマウスを用いた。

単回投与では4%チオグリコレートで腹腔内マクロファージを誘導した後に9D5・4H11 1mgを腹腔内投与し血清サイトカインのELISA、腹腔内マクロファージのRT-PCRで評価した。頻回投与では9D5・4H11 1mgを8週齢から2週毎に静脈投与し20週齢で行動解析としてテールサスペンション試験・強制水泳試験・オープンフィールド試験・Y字迷路で精神障害を評価した。FcγR・炎症性サイトカインの関与を検討するた

めFc γ R $^{-/-}$ マウス、Fc γ RIIb $^{-/-}$ マウス・TNF- α $^{-/-}$ マウス、IL-6 $^{-/-}$ マウスでも同様の検討を行った。また血清 ELISA における Tryptophan の評価を行った。

病理学評価として IgG2a・IgG2b の免疫組織染色、F4/80・TUNEL 法で検討を行った。また Tryptophan の負荷飼料として通常飼料に加えて 2%Tryptophan を付加した飼料を 8 週齢から開始し同様に行動解析を行い脳組織(脳縫線核)のメタボローム解析(GC-MS 解析)を施行した。治療介入として TNF- α 阻害薬(インフリキシマブ BS 10mg/kg)・ステロイド(デキサメタゾン 0.6mg/kg)・大量ガンマグロブリン静注療法(IVIg 1g/kg)を検証した。

【結果】

頻回投与の検討で抗 P 抗体は系統依存性(NZBW・BL6)に情動障害を誘導した。

血清 Tryptophan の ELISA では系統依存性(NZBW・BL6)に抗 P 抗体投与群で血中 Tryptophan の低下を認めた。Tryptophan の負荷飼料を用いて治療介入では抗 P 抗体は血清トリプトファン低下を介して情動障害を誘導した。また脳組織(脳縫線核周囲組織 50mg)のメタボローム解析(GC-MS 解析)では脳組織中の Serotonin・Tryptophan 低下を認め他の神経伝達物質の変化は認めなかった。単回投与の検討では抗 P 抗体投与群で系統依存性(NZBW・BL6)に血清 ELISA での腹腔内マクロファージ RT-PCR での TNF- α ・IL-6 の上昇を認めた。

TNF- α $^{-/-}$ ・IL-6 $^{-/-}$ マウスを用いた検討では抗 P 抗体は炎症性サイトカイン依存性に血中 Tryptophan 低下を介して情動障害を認めた。TNF- α 阻害薬・ステロイドによる治療介入では抗 P 抗体による情動障害の改善を認めた。

Fc γ R $^{-/-}$ ・Fc γ RIIb $^{-/-}$ マウスを用いた検討では抗 P 抗体は Fc γ 受容体依存性に血清 ELISA での腹腔内マクロファージ RT-PCR での TNF- α ・IL-6 を誘導した。また抗 P 抗体投与群で Fc γ 受容体依存性に情動障害を誘導した。IVIg による治療介入では抗 P 抗体による情動障害の改善を認めた。

【考察】

抗 P 抗体は血中においてはマクロファージなどの Fc γ 受容体を有する血球細胞に結合し TNF- α ・IL-6 などの炎症性サイトカインを産生した。全身性の炎症から活性化リンパ球によるトリプトファン消費が起きていると推察され、トリプトファンの低下から脳内でセロトニンの低下が生じ抑うつを呈していると考えられた。また TNF- α 阻害薬・ステロイド・IVIg では炎症性サイトカインの産生抑制、マクロファージ浸潤の抑制を介して抗 P 抗体による臓器障害に治療効果を有することが示唆された。

審査結果の要旨

全身性エリテマトーデス (SLE) の自己抗体の 1 つとして同定されている抗リボソーム P 抗体は、3 種のリボソーム P 蛋白を認識する自己抗体で、ループス精神病や皮疹、ループス腎炎や肝炎と関連する。申請者は P 蛋白を認識する単クローン抗体(9D5/4H11)をマウスに投与し、抗 P 抗体による細胞障害・臓器障害の機序を解析した。抗 P 抗体単回投与により系統依存性(NZBW・BL6)に血清および腹腔内マクロファージの TNF- α ・IL-6 の上昇を認め、抗 P 抗体頻回投与では系統依存性(NZBW・BL6)に情動障害を誘導した。その機序として、Fc γ 受容体依存性の炎症を介して活性化リンパ球のトリプトファン消費を起し、その結果脳内セロトニンの低下を起していることが示された。さらに、TNF- α 阻害薬・ステロイド・IVIg を用いた治療実験では、炎症性サイトカインの産生抑制、マクロファージ浸潤の抑制を介して抗 P 抗体による臓器障害に治療効果を有することが示唆された。ヒト SLE 症例の解析により、NPSLE を合併している症例ではトリプトファン低下が示された。

以上、現在まで原因不明である神経精神ループスの機序の一端を明らかにし、治療介入の可能性を示した点に、本論文の学位論文としての価値を認める。