



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

自己免疫性疾患特に習慣性流産に関与する自己抗体の性状及び妊娠の予後を予測する因子についての研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松崎, 正晴 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2349

氏 名（本籍）	松 崎 正 晴 （東京都）
学 位 の 種 類	博士（農学）
学 位 記 番 号	農博甲第 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成6年3月14日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	信州大学
学 位 論 文 題 目	自己免疫性疾患特に習慣性流産に関与する自己抗体の性状及び妊娠の予後を予測する因子についての研究
審 査 委 員	主査 信 州 大 学 教 授 茅 原 紘 副査 信 州 大 学 助 教 授 只 左 弘 治 副査 信 州 大 学 教 授 柴 田 久 夫 副査 岐 阜 大 学 教 授 中 村 孝 雄 副査 静 岡 大 学 教 授 伊 奈 和 夫

論 文 の 内 容 の 要 旨

自己免疫性疾患特に全身性エリテマトーデス（SLE）で高率に発生する習慣性流死産に関与する自己抗体の性状、及び妊娠の予後に関与する血清中の因子をみることで、妊娠の予後を判定しうる有用なpredictorの検討を行った。

ヒトSLE，進行性強皮症（PSS）の自己免疫性疾患及び薬剤誘発ループス（DIL）、正常妊婦の血清を用いて、習慣性流産との関与が示唆される自己抗体として抗ポリADPリボース抗体に注目し、その疾患特異性を明らかにした。

- 1) 抗ポリADPリボース抗体はSLE，PSSの両自己免疫性疾患に特異的で、他の自己免疫性疾患にはほとんど出現しない。
- 2) DILの一部やごくまれに正常な妊婦の血中にも抗ポリADPリボース抗体が出現する。
- 3) 抗ポリADPリボースをその鎖長別に分画して、SLE，PSS，DIL，正常妊婦のそれぞれの血中に出現した抗ポリADPリボース抗体との反応性をみると、SLE，PSS患者血清中の抗体は鎖長の短いオリゴADPリボース（平均鎖長が約2位のADPリボース）にも、鎖長の長いポリADPリボース（平均鎖長が約30のADPリボース）にも反応する抗体であった。

4) 同様に自己免疫性疾患以外に出現した抗ポリADPリボース抗体 (DILと妊婦で出現した抗体) は、長い鎖長のポリADPリボースには反応するが平均鎖長が短く (平均鎖長が約10位のADPリボース以下) となると反応できない抗体であった。また、SLE患者リンパ球のポリADPリボース合成酵素活性は、健常者に比べ有意に高値を示した。特にDNase responsible activityが亢進していた。他の膠原病にはあまりみられずSLEで高率にその発生がみられ習慣性流死産には自己抗体として、抗カルジオリピン抗体や抗ポリADPリボース抗体の関与が疑われているが、今回の検討で、特に鎖長の短いオリゴADPリボースに対する抗体はSLEに特異的な抗体であり、この抗体の測定がSLE合併妊娠の予後の判定に有用であると考えられる。

また、膠原病の特徴である炎症反応に血小板活性化因子 (PAF) が直接関与しているかどうかをヒトSLEで検討した。さらに、PAF acetylhydrolase (PAFAH) 活性についても検討した結果、以下のことが明らかとなった。

- 1) SLE患者血中のPAF量は健常者に比較して有意に高値を示した。
- 2) SLE患者の血清中のPAFAH活性は 40.0 ± 13.5 nmol/min/mlで健常者 (21.4 ± 7.6 nmol/min/ml) に比べ、約2倍亢進していた。

慢性の炎症性反応に関するPAFAH活性の亢進は、ヒトSLEに限らずSLEモデルマウス (NZB, NZB/W, MRL/lマウス) でも早期から認められ、これらのマウスを用いた結果、以下のことが明らかとなった。

- 1) MRL/l, NZB, NZB/Wのlupus-proneマウスではコントロールのNZWマウスに比べて血中のPAFAH活性は3~4倍高い活性であった。
- 2) lupus-proneマウスでは5週齢ですでにPAFAH活性が高く、20週齢と同様であった。この事はこの酵素活性が病態の進展には直接関与していない事を示唆するが、ヒトSLEとSLEモデルマウスのPAFAH活性が高値である事実は、SLEでPAFの産生亢進が起こり、その結果としてPAFAH活性が誘導されたものと考えられる。実際に血中のPAFの定量を³H標識ポリADPリボースとの結合実験法で行うと、健常者 (6.15 ± 11.6 pg/0.1ml) と比較してSLE患者は有意に高値 (65.5 ± 71.2 pg/0.1ml) であった。これらの結果からSLEではPAFがその炎症反応に深く関与している事とPAFAH活性が高めに誘導発現されている事が明らかとなった。

PAFAH活性の亢進が妊娠の成立に重要なPAFの作用を阻害するならば、流死産が起きる事が考えられる。そこでMRL/lマウスと過排卵処理マウスの周産期のPAFAH活性を測定して以下の実験結果を得たので、妊娠期間中のPAFAH活性の変動が流産率に関与している事が明らかとなった。

- 1) モデルマウスMRL/lで流産率の高いマウスは、妊娠期間中流産率の低いマウスに比べPAFAH活性が充分低下しなかった。

2) 過排卵実験を行うと、実験群は流産率が高く、周産期のPAFAH活性は対照群に比べ充分な低下を示さなかった。

つまり、正常に妊娠が成立するためには、期間中PAFAH活性が充分に低下する必要があるが、マウスの実験結果から、もともと高い酵素活性を示す自己免疫性疾患では、このコントロールがうまく働かず流産する事が考えられる。すなわち、周産期のPAFAH活性の低下が不十分であるほど流産率は高く、PAFAH活性が妊娠の予後を判定するよい指標となる可能性が示唆された。

自己免疫性疾患を合併する妊娠では、原因不明の習慣性流死産が高率に発生することから、その妊娠の予後を判定する事が重要である。そのため鎖長の短いADPリボースに対する抗体とPAFAH活性の測定は臨床的にも有用であると結論した。

審 査 結 果 の 要 旨

平成6年1月25日に信州大学において、審査員全員を含む関連教官多数の出席のもと、論文の公開発表会が行われた。その後最終試験を兼ねた質疑応答が行われ、直ちに審査委員会を開いて合否案の検討が行われた。発表時間(30分)を超過して、審査委員から注意を受けたが学位論文の内容に対しては、論文題目を内容を忠実に反映したものにすべく一部修正を求められた(妊娠の成立に関与する因子 ⇒ 妊娠の予後を予測する因子)以外、良くまとまっているとの評価を受けた。また、最終試験を兼ねた質疑応答も別紙の通り明解に答え、審査委員全員一致で合格と判定した。

松崎論文は、基礎となる学術論文2報を中心にまとめられている。

第一報〔アレルギー、41(3),447-453(1992),自己免疫性疾患における抗ポリADP-リボース抗体と薬剤により誘導される抗ポリADPリボース抗体の検討〕

全身性エリテマトーデス(SLE), 進行性強皮症(PSS)患者血中に出現する抗ポリADP-リボース抗体と各種の薬剤によって誘導された抗ポリADP-リボース抗体の差異について検討した。抗てんかん薬、抗うつ薬のフェノバルビタール、フェニトイン、バルプロン酸および抗不整脈剤のプロカインアミドの服用者の血中に抗ポリADP-リボース抗体の出現を認めた。鎖長の異なるポリADP-リボースを調整してこれらの抗体と反応させたところ、SLEやPSSの自己免疫性疾患で出現する抗体は鎖長の長い抗原にも、鎖長の短い抗原にも共に良く反応するのに対して、薬剤で誘導された抗体は鎖長の長い抗原には良く反応するが、鎖長の短い抗原にはほとんど反応しなかった。抗ポリADP-リボース抗体の出現を認めた妊婦の抗体は、薬剤で誘導された抗体と似ていた。これらのことから自己免疫性疾患特にSLEやPSSで出現する抗ADP-リボース抗体は、鎖長の短い抗原に対しても反応するという特異性を持っており、妊婦や薬剤誘発ループスに出現する抗体とは抗原に対する特異性に明らかな差が認められた。

第二報〔Clinica Chimica Acta, 210,139-144(1992),PAF acetylhydrolase activities in human systemic lupus erythematosus and lupus-prone mice〕

SLEのモデルマウスであるNZB, NZB/W, およびMRL/lマウス

の血中PAF acetylhydrolase(PAFAH)を測定した。血小板活性化因子(PAF)は炎症反応に重要な役割を持つリン脂質のケミカルメディエーターであり、妊娠の成立や分娩に深く関与していて、PAFAHはPAFの特異分解酵素であり、生体内でのPAFの量を制御する代謝酵素である。モデルマウスの妊娠期間中のPAFAH活性はコントロールに比べ3～4倍高いことをつきとめ、また習慣性流産モデルマウス、実験的過排卵モデルマウスおよびlupus-proneマウスの周産期でのPAFAH活性は充分な低下を示さないことが判明した。

以上のような緻密な実験結果から、論文要旨にまとめたように自己免疫性疾患を合併する妊娠では、妊娠の予後を予測する因子として、鎖長の短いADP-リボースに対する抗体とPAFAH活性の測定が臨床的にも有用であることを明らかにした。さらに、今回の実験結果で、ヒトSLEでは健常者に比べ約10倍高濃度のPAFが血中で検出され、マウスでは採取サンプル量が少ないために血中のPAFの定量は困難であるが、PAFAHの変動はSLEとループスマウスで共に高値を示したので、PAFの産生、分解のメカニズムが両者に共通している可能性が高いことを示唆した。