原肇秀　論文内容の要旨

主　論　文

Anti-p53 Autoantibody In Systemic Sclerosis: Association with Limited Cutaneous Systemic Sclerosis

（全身性強皮症患者血清中の抗 p53 抗体の陽性頻度とその臨床的意義についての解析）

〇原　肇秀、小川文秀、室井栄治、小村一浩、竹中　基、長谷川稔、藤本　学、佐藤伸一

（Journal of Rheumatology 35 巻 3 号 451-7, 2008 年）
〔7 ページ〕

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
（主任指導教員：佐藤伸一教授）

緒　　言

全身性強皮症(Systemic sclerosis; SSc)は皮膚や内臓に線維化をきたす膠原病であり、90%以上で様々な細胞内外の分子に対する自己抗体が検出される。腫瘍抑制遺伝子である p53 は細胞増殖や DNA 修復、血管新生、アポトーシスなどに関連し、p53 活性の抑制は自己反応性リンパ球の生存と増殖を引き起こすことが知られている。近年、種々の自己免疫性疾患における血清中の p53 に対する自己抗体の存在が報告されており、SSc 患者血清でも抗 p53 抗体の存在が確認されている。また、抗 p53 抗体の陽性率と全身性エリテマトーデス(SLE)の疾患活動性の相関が示唆されており、SSc においても、抗 p53 抗体は疾患の重症度を反映している可能性がある。以上より、日本人 SSc 患者血清における抗 p53 抗体の陽性頻度とその臨床的意義について検討した。

対象と方法

SSc 70 例(女性 61 例、男性 9 例)、年齢は 46±17 歳、病型別では limited cutaneous SSc (lSSc) 30 例（罹病期間；8.3 ± 9.3 年)、diffuse cutaneous SSc (dSSc) 40 例（罹病期間；3.0 ± 2.9 年）を対象とした。SLE、皮膚筋炎 (DM)、健常人血清をコントロールとして用いた。

抗 p53 抗体は ELISA 法と免疫ブロット法にて検出した。ELISA 法については、プレートに recombinant p53 を 1 μg/ml で 4℃、24 時間コートし、ブロッキングを行った。100 倍希釈した血清を各ウェルに加え室温で 90 分反応させた後、ALP (alkaline phosphatase) 標識した 2 次抗体を加え p-nitrophenyl phosphate を基質として発色させ 405 nm で吸光度 (OD) を測定した。

免疫ブロット法については recombinant p53 を電気泳動し、Hybond-P PVDF 膜に転写後、ELISA 法にて IgG 型抗 p53 抗体陽性であった SSc 患者、同抗体陰性 SSc 患者、SLE

患者、DM 患者、健常人それぞれの血清を一晩反応させ、ALP 標識した 2 次抗体を加え 5-bromo-4-chloro-3-indrolyl phosphate と nitro blue tetrazolium を用いて発色させた。
抗 p53 抗体が実際に p53 活性を抑制しうるかについて p53 酵素活性の抑制実験をおこなった。ELISA 法での IgG 型抗 p53 抗体陽性の SSc 患者、陰性の SSc 患者、健常人の血清より IgG を抽出した。精製 IgG 中に抗 p53 抗体がより多く含まれなおかつ p53 と結合してその活性を抑制することができれば、検出される p53 の活性は低下することになり、一定量の recombinant p53 と 精製 IgG を反応させた後、p53 と相補する塩基配列を有するオリゴヌクレオチドへの結合能にて p53 活性を測定した。

結　　果

ELISA 法にて、SSc 患者では IgG 型抗 p53 抗体の OD 値はコントロール群と比較し有意に上昇しており、特に lSSc において dSSc より高値を示した。対照的に IgM 型抗 p53 抗体の OD 値は、コントロール群と有意差を認めなかった。健常人の平均値+2SD の OD 値をカットオフ値とすると、SSc 全体では 40%が IgG 型抗 p53 抗体陽性であり、健常人では陽性はみとめなかった。
臨床所見との相関では、IgG 型抗 p53 抗体陽性 SSc 患者では、同抗体陰性 SSc 患者と比較して、lSSc が多く、罹病期間は長く、%肺活量は保たれていた。さらに、IgG 型抗 p53 抗体価とスキンスコアは負の相関を示した。
免疫ブロット法でも、ELISA 法での IgG 型抗 p53 抗体陽性 SSc 患者血清は、p53 と反応し 53kDa にバンドを認めたが、同抗体陰性 SSc 患者、同抗体陰性 SLE 患者、同抗体陰性 DM 患者、健常人ではバンドは認められなかった。
さらに、IgG 型抗 p53 抗体陽性 SSc 患者より抽出した IgG は、平均 50%と有意に p53 の酵素活性を抑制したが、同抗体陰性 SSc 患者より抽出した IgG は p53 の酵素活性を抑制しなかった。

考　　察

IgG 型抗 p53 抗体は SSc 患者血清において有意に増加しており、lSSc においてより高値を示し、SSc の軽症型と相関していた。同抗体陽性 SSc 患者より抽出した IgG は p53 の酵素活性を抑制しえたことより、IgG 型抗 p53 抗体が p53 の酵素活性を抑制することで、自己反応性リンパ球の活性化や線維芽細胞の活性化を引き起こしている可能性が考えられる。また、IgG 型抗 p53 抗体が lSSc や長い罹病期間と相関していたことより、SSc とくに lSSc 患者に高率に合併するレイノー症状に伴う虚血再灌流障害による長期間の酸化ストレスが組織障害を引き起こし、p53 が細胞表面に発現することにより二次的に抗 p53 抗体を生じている可能性も示唆された。

（備考）※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。