

岡崎志帆子 論文内容の要旨

主 論 文

Autoantibody against caspase-3, an executioner of apoptosis,
in patients with systemic sclerosis

(全身性強皮症患者における caspase-3 に対する自己抗体の解析)

岡崎志帆子、小川文秀、室井栄治、原 肇秀、小村一浩、岩田洋平、竹中 基、清水
和宏、長谷川稔、藤本 学、佐藤伸一

原稿 8 枚、Table 2 個、Figure 4 個

2009.7.8 に *Rheumatology International* より accept の E メールを受理していま
す (別紙採用通知を添付)。現在は publish 待ちの状態です。

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 博士課程 医療科学 専攻
(主任指導教員：平野明喜教授)

緒 言

全身性強皮症 (systemic sclerosis ; SSc) は皮膚のみならず、全身の諸臓器を系統的に侵す慢性疾患であり、膠原病に分類される。SSc は膠原線維の増生、血管病変、自己免疫といった 3 つの病態よりなる。なかでも自己抗体はその 90%以上に検出される。自己抗体の種類と臨床像が密接に相関するため、SSc の発症に関与していると考えられる。Caspase はシステインプロテアーゼの一種であり、アポトーシスを誘導する。SSc 患者においてレイノー症状は初発症状として最も多く、毛細血管で繰り返し生じている虚血再灌流によって血管内皮細胞にアポトーシスが生じている。また SSc 患者において、アポトーシスのイニシエーター蛋白である caspase-8 に対する自己抗体が検出されていることから、それより下流にあるエフェクター蛋白である caspase-3 に対する自己抗体も同様に産生されている可能性を考えた。今回の研究では、SSc において caspase-3 に対する自己抗体が産生されているのか、臨床的な相関はあるのか、さらには自己抗体自体に caspase-3 の活性を抑制しうる機能的活性はあるのかについて検討を行った。

対象と方法

対象患者は SSc 60 例であり SSc の病型としては、limited cutaneous SSc (lSSc)

が 23 例、diffuse cutaneous SSc (dSSc) が 37 例であった。34 例の健常人をコントロールとして用いた。

抗 caspase-3 抗体は、ELISA 法と免疫ブロット法を用いて検出した。ELISA 法については、まずプレートに recombinant human caspase-3 をコートし、各ウェルに希釈した血清を加えて反応させた後、二次抗体を加え、発色させ吸光度を測定した。

免疫ブロット法については、recombinant human caspase-3 を電気泳動し、ニトロセルロース膜に転写した後、ELISA 法にて IgG 型抗 caspase-3 抗体が陽性（健常人の平均値+2SD 以上）であった SSc 患者、健常人の血清と反応させ、二次抗体を加え発色させた。

抗 caspase-3 抗体が、実際に caspase-3 の活性を抑制しうるかどうかについて検討するために、caspase-3 活性の抑制試験を行った。まず IgG 型抗 caspase-3 抗体陽性の SSc 患者および健常人の血清より IgG を精製し、recombinant human caspase-3 と反応させた。Caspase-3 の活性は 7-amino-4-trifluoromethyl-labeled DEVD (Asp-Glu-Val-Asp) が Caspase-3 によって切断されると発色することを利用して測定した。

結 果

ELISA法にて、IgG型抗caspase-3抗体価は1SSc、dSScともに健常人と比べ有意に上昇していた。

SScにおいて、IgG型抗caspase-3抗体との臨床的相関について解析したところ、IgG型抗caspase-3抗体陽性のSSc患者では、同抗体陰性のSSc患者と比較して罹病期間が長く、さらに%VCや%DLcoの低下、赤沈値の亢進、および血清免疫グロブリン値の上昇が認められた。またIgG抗caspase-3自己抗体値は、血清IgG値、腎血管抵抗、さらに、酸化ストレスを反映する血清8-isoprostane値と有意な正の相関を示した。

さらに免疫ブロット法において、ELISA法でIgG型抗caspase-3抗体が陽性であったSSc患者血清は、recombinant human caspase-3と反応しバンドを認めた。

Caspase-3活性の抑制試験では、IgG型抗caspase-3抗体陽性のSSc患者より精製したIgGは、健常人と比べcaspase-3の活性を有意に抑制した。従って、IgG型抗caspase-3抗体はcaspase-3の活性を抑制しうることを示された。

考 察

今回の検討では、IgG型抗caspase-3抗体価は健常人と比べ有意に上昇していた。SSc患者では抗caspase-3抗体が産生され、この自己抗体は肺線維症、血管障害、炎症などに関連している可能性が示唆された。レイノー症状で初発するSScの毛細血管では、虚血再還流によってフリーラジカルが産生されやすい環境にあり、それにより血管内皮細胞は容易にアポトーシスを生じ、その過程でcaspase-3に対する自己抗体が産生されたものと考えられた。

(備考) ※日本語に限る。2000字以内で記述。A4版。