

鋤塚 大 論文内容の要旨

主 論 文

Decreased levels of autoantibody against histone deacetylase 3 in patients with systemic sclerosis

(全身性強皮症患者における histone deacetylase 3 に対する自己抗体の検討)

鋤塚大、小川文秀、岩田洋平、小村一浩、室井栄治、原肇秀、竹中基、清水和宏、
長谷川稔、藤本学、佐藤伸一

(Autoimmunity・42 巻 2 号 120-125 2009 年)

[6 ページ、Figure 3 個]

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) は皮膚および肺、腎、消化管、心をはじめとする内臓諸臓器を系統的に侵し、諸臓器の線維化と血管傷害をきたす自己免疫疾患である。本症の特徴の一つとして自己抗体が 90%以上に検出され、自己抗体の種類と臨床像が密接に相関することから SSc の発症に関与していると考えられる。ヒストンはクロマチンを構成する蛋白で、DNA を高度に凝集している。ヒストンのアセチル化は転写活性化の局在に深く関与し、アセチル化の調節を担う酵素のヒストンジアセチラーゼ (histone deacetylase; HDAC) は転写活性化、不活性化の制御の一翼を担っている。近年、HDAC を阻害する HDAC 阻害薬は抗ガン作用と共に抗炎症作用を発揮することが判明してきた。SSc のマウスモデルで HDAC 阻害剤投与によって皮膚線維芽細胞のコラーゲン合成を阻害し線維化を抑制したとする報告があり、HDAC が SSc の病態に関わっている可能性がある。HDAC のうち HDAC-3 は大腸癌患者の癌細胞で発現しており、大腸癌患者血清中には HDAC-3 に対する自己抗体が存在している。一方、HDAC-1 と HDAC-2 に対する自己抗体は大腸癌患者血清中にみられていない。今回、我々は SSc 血清中に HDAC-3 に対する自己抗体が存在しているかどうかを検討した。同時に、他の自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus; SLE) と皮膚筋炎 (dermatomyositis; DM) および健常者との比較検討も行った。

対象と方法

対象患者は SSc 60 例 (女性 51 例、男性 9 例) であり、年齢は 50 ± 17 歳であった。SSc の病型としては、limited cutaneous SSc (lSSc) が 23 例 (罹病期間; 10.0 ± 10.0 年)、diffuse cutaneous SSc (dSSc) が 37 例 (罹病期間; 3.1 ± 3.0 年) であった。また SLE 30 例、DM 30 例を疾患対照群とし、34 例の健常人を正常対照群とした。

抗 HDAC-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 HDAC-3 を $0.5 \mu\text{g/ml}$ の濃度で 4°C 、一晚コートした。各ウェルに 1:100 で希釈した血清を加えて室温で 90 分反応させた後、alkaline phosphatase を標識した二次抗体を加え、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 HDAC-3 を電気泳動し、ニトロセルロース膜に転写した後、SSc 患者の血清に加え、ELISA 法にて IgG 型抗 HDAC-3 抗体価が全ての SSc 患者よりも高値であった SLE 患者、DM 患者および健常人の血清と一晚反応させ、alkaline phosphatase を標識した二次抗体を加え発色させた。

抗 HDAC-3 抗体が実際に HDAC-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、HDAC-3 活性の抑制試験を行った。まず SSc 患者の血清と、ELISA 法にて IgG 型抗 HDAC-3 抗体価が全ての SSc 患者よりも高値であった健常人の血清より IgG を精製し、recombinant human caspase-8 と反応させた。HDAC-3 の活性は fluorimetric HDAC lysyl substrate が HDAC-3 によって脱アセチル化されると発色することを利用し測定した。

結 果

ELISA法では当初の予想と反し、血清中IgG型抗HDAC-3抗体価は健常者、SLE患者、DM患者と比べてSSc患者で有意に低値であった。これに対し、IgM型抗HDAC-3抗体価は健常者と比較して、SSc、DM、SLE患者いずれにおいても有意に低下していた。さらに免疫ブロット法では、ELISA法でIgG型抗HDAC-3抗体が高値であった健常者、SLE患者、DM患者血清はrecombinant human HDAC-3と反応し濃いバンドを認めた。一方SSc患者血清ではバンドは認められず、IgG型抗HDAC-3抗体は存在しないことが確認された。

HDAC-3活性の抑制試験では、IgG型抗HDAC-3抗体高値の健常者患者より精製したIgGは、SSc患者血清より精製したIgGと比べ、有意にHDAC-3の活性を抑制した。

考 察

今回の検討では、IgG型抗HDAC-3抗体はSSc患者で増加しているという当初の仮説に反して、IgG型抗HDAC-3抗体価は健常人と比較してSSc患者で低下していた。さらに、免疫ブロット法では、抗HDAC-3抗体は健常人に検出されたが、SSc患者では検出されなかった。このことは、抗HDAC-3抗体は健常人において、SSc発生を抑制する protective な自己抗体である可能性を示唆している。同様な protective な自己抗体の例として、SLEでは抗La抗体の存在がループス腎炎や神経ループスのリスクを下げるという報告がある。

多くの研究でHDACを阻害することにより抗炎症作用がもたらされることが報告され、HDAC阻害剤の一つであるトリコスタチンAは、SSc由来線維芽細胞によるコラーゲン合成を抑制しうるとの報告がある。それ故、SSc患者におけるIgG型抗HDAC-3抗体の欠如は、HDAC-3活性を上昇させ、炎症を誘導することによってSScの病態形成に関与している可能性がある。

(備考) ※日本語に限る。2000字以内で記述。A4版。