



抗ラ氏島細胞膜抗体 (ICSA) 対応抗原の解析並びにその認識機序に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 袴田, 睦 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1379

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 102号	学位授与年月日	平成 3年 6月 7日
氏名	袴田 睦		
論文題目	抗ラ氏島細胞膜抗体(ICSA)対応抗原の解析並びにその認識機序に関する研究		

医学博士 袴田 睦
論文題目

抗ラ氏島細胞膜抗体 (ICSA) 対応抗原の解析並びにその認識機序に関する研究

論文の内容の要旨

[目的]

インスリン依存性糖尿病 (IDDM) の病因に自己免疫機序が関与し、発症直後の IDDM 患者血中には、抗ラ氏島細胞膜抗体 (Islet cell surface antibody: ICSA) が、高率に出現することが報告されている。この自己抗体は膵ラ氏島細胞膜に対する特異的抗体であり、*in vitro* において膵β細胞を傷害することから、IDDM 発症の重要な因子と考えられている。しかし、測定法により陽性率に差がみられ、その対応抗原も未だ明らかでない。ICSA の病因的意義を明らかにする目的で、ICSA の疾患特異性と他の免疫学的機能との関連性を検討した。更に、ICSA 陽性患者血中 IgG に対応するラ氏島抗原を同定し、患者リンパ球がこの抗原を認識し免疫応答を生ずるか否かについても検討した。

[方法]

- (1) 対象: IDDM 28例、インスリン非依存性糖尿病 (NIDDM) 109例、健常成人27例、糖尿病合併のない自己免疫疾患105例。
- (2) ICSA の測定: ラット遊離ラ氏島細胞を抗原として間接蛍光抗体法で測定した。
- (3) 非特異的マイトジェンに対するリンパ球幼若化反応 (LBG): 糖尿病群の51例より得た末梢血から単核球を分離し、phytohemagglutinine (PHA)、pokeweed mitogen (PWM)、concanavalin A (Con A) 添加後のリンパ球への³H-thymidine の細胞内取り込みを測定した。
- (4) ICSA 対応ラットラ氏島抗原の抽出: ICSA 陽性患者17例の血清から IgG を分離し、非特異的 IgG を吸収後、アフィニティークラムを作製した。ラット遊離ラ氏島を可溶化して添加し、酸溶出分画を ICSA 対応ラ氏島抗原として、SDS-PAGE を行った。
- (5) ラ氏島抗原に対する LBG: 患者より得た末梢血のリンパ球分画と単球分画を10: 1に混合し、ラ氏島抗原添加後8日間培養し、³H-thymidine の細胞内取り込みを測定した。培養8日後の cell viability は90%を示した。健常成人リンパ球での intraassay variation の CV 値が20%であったことより、その 3SD (stimulation index 1.60) 以上を示した場合を陽性と判定した。

[結果]

- (1) ICSA 陽性率は IDDM で39%と、NIDDM 15%、バセドウ病14%、橋本病29%、慢性関節リウマチ (RA) 12%、全身性エリテマトーデス (SLE) 20%、シェーグレン症候群33%、健常成人0%に比し、最も高率に認められた。ICSA と、抗核抗体・甲状腺自己抗体・RA 因子との間にいずれも有意の相関を認めなかった。
- (2) ICSA 陽性 IDDM 5例中3例で、PHA、PWM に対する LBG が低反応を示した。ICSA 陽性 NIDDM では、PHA 及び PWM に対する反応が、ICSA 陰性 NIDDM より低値であった ($p < 0.05$, $p < 0.01$)。
- (3) ICSA 陽性 IgG と反応したラットラ氏島抗原は、IDDM、NIDDM を含め17例中14例で、分子量67K、64K、55K、20KDa の抗原が共通であった。ICSA 陽性自己免疫疾患では、3例が ICSA 陽性糖尿病群と共通した分子量の抗原を示したが、他の3例に認めた band は分子量が異なっていた。
- (4) ラ氏島抗原に対する LBG は、IDDM 群の5例中4例が、各々自己の IgG を用いて作製したアフィニティークラムから得られた抗原に対し、陽性反応を示した。NIDDM 群では、6例中3例で陽性反応を認め、自己免疫疾患では、SLE の4例全例が陽性反応を示した。
- (5) 多施設共同研究の blind study で ICSA 陽性が確認された血清 IgG を用いて精製された抗原を使い、各症例の LBG を比較検討した。IDDM 3例及び NIDDM 2例は、自己由来の IgG により精製されたラ氏島抗原だけでなく、この対応抗原にも陽性反応を示した。自己免疫疾患では、SLE の3例が自己由来の IgG 対応抗原だけでなくこの対応抗原にも陽性反応を示し、特に家族歴に糖尿病のある症例で顕著であった。

【結語】

ICSA 対応抗原には多様性が認められ、分子量の異なる数種の抗原が存在した。ICSA 陽性糖尿病では非特異的マイトジェンに対するリンパ球の反応低下があり、特に ICSA 陽性 IDDM では 67K、64K、55KDa のラ氏島抗原に対するリンパ球の特異的免疫応答の成立が認められた。以上の結果から、IDDM の発症には、リンパ球の抗原認識に対する機能異常と ICSA の存在が示唆された。

論文審査の結果の要旨

インスリン依存性糖尿病 (IDDM) の少なくとも一部は自己免疫病で、膵ラ氏島 β 細胞が免疫学的に破壊され、惹起されることが定説になっている。ところが個々の研究として、IDDM 発症直後に血中に出現する抗ラ氏島細胞膜抗体 (ICSA) の疾患特異性、この抗体に対する抗原の探索、またこの抗原に対する免疫応答等に関するものは存在するが、一連の統合された研究はなされていなかったのが現状である。

そこで、申請者は、発症直後に高率に血中に出現するラット膵ラ氏島細胞に対する ICSA の疾患特異性について、関節蛍光抗体法にて検討した。次いで IDDM (5 例)、インスリン非依存性糖尿病 NIDDM (6 例)、自己免疫病 (6 例、全身性エリテマトーデス 4、シェーグレン症候群 1、慢性関節リウマチ 1) から ICSA を指標にアフィニティーカラムを用い、ラット膵ラ氏島細胞抗原を分離し、SDS-PAGE 電気泳動法にて同定した。さらにこれら抗原に対する免疫応答の有無について患者の末梢血リンパ球幼若化試験を施行して、その抗原に対する特異的クローンが確かに増えて、反応しているかどうかを測定し、一連の総合的研究を行った。その結果、次の 3 つの知見から、従来の 64 KDa 抗原に加えて新たに 67、55KDa のラ氏島細胞抗原が IDDM を誘導する自己抗原である可能性、及び IDDM 発症には患者リンパ球の抗原認識異常の存在する可能性を浮き彫りにしたことは、評価に値するものと判断された。

- 1) ICSA 陽性率は、IDDM 39%、NIDDM 15%、バセドウ病 14%、橋本病 29%、慢性関節リウマチ 12%、全身性エリテマトーデス 20%、シェーグレン症候群 33%、健常成人 0% であり、ICSA と、抗核抗体、甲状腺自己抗体、RA 因子との間にいずれも有意の相関は認められなかった。
- 2) ICSA に対応する抗原には、アフィニティーカラム分離法、SDS-PAGE 電気泳動法により分子量の異なる数種の抗原が存在し、多様性のあることが示唆された。
- 3) ICSA 陽性 IDDM では、67、64、55 KDa のラ氏島抗原に対するリンパ球の特異的免疫応答の成立していること、他方では非特異的マイトジェンに対するリンパ球の反応低下が認められた。

以上の研究論文報告に対し、次のような質問がなされた。

1. ラ氏島の抗原は細胞膜表面に表現されるか、細胞外に放出されるかして、抗原性を発揮するのか。
2. ラ氏島 β 細胞のみが傷害をうけるのか。
3. 今回使われた、ラットラ氏島細胞を用いて ICSA を検出する方法は標準的な方法か。抗ラ氏島細胞膜抗体 (ICSA) であるという根拠は何か。
4. 他の各種自己免疫疾患で ICSA 陽性者がいるにもかかわらず、どうして IDDM を併発しないのか。
5. ICSA が一時的に高くなるのはどうしてか。
6. ICSA 陽性患者数は少ないにもかかわらず、申請者の論文では陽性者率が高いのは患者を選んだためか。
7. ラ氏島抗原に対する LBG では、ラ氏島細胞膜抗原のみに対する T リンパの幼若化反応を検出していることになるのか。この特異性とこの試験を実施した意義について説明せよ。
8. ラ氏島抗原で皮内反応は惹起されるのか。
9. 患者抗体を用いて Western blot 法を行い、抗原を検討したことはあるか。
10. ヒトの膵ラ氏島を用いての実験はあるか。

以上の点について、申請者の応答は概ね適切であった。

そこで審議した結果、本審査委員会は本論文が学位授与に値する内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	吉田	孝人			
	副査	教授	高田	明和	副査	教授	瀧川 雅浩
	副査	教授	山下	昭	副査	講師	田港 朝彦