

氏名(本籍)	あきもと たかゆき 秋本崇之(愛知県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第2416号		
学位授与年月日	平成12年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	Relationship between clinical features and binding domains of anti-prothrombin autoantibodies from patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome (全身性エリテマトーデスと抗リン脂質抗体症候群患者の抗プロトロンビン抗体はその結合部位により病態に違いがある)		
主査	筑波大学教授	医学博士	小山哲夫
副査	筑波大学教授	医学博士	中内啓光
副査	筑波大学助教授	医学博士	永瀬宗重
副査	筑波大学助教授	医学博士	松井良樹

論文の内容の要旨

(目的)

抗リン脂質抗体症候群 (anti-phospholipid syndrome ; APS) はリン脂質に対する抗体により、各種動静脈血栓症や習慣性流産、中枢神経病変、血小板減少などを呈する疾患であり、全身性エリテマトーデス (SLE) などの膠原病に併発する二次的APSと、これらの疾患とは関係しない一次的APSが知られている。APSの原因の1つとして抗カルジオリピン抗体 (anti-cardiolipin antibodies ; aCL) が明らかとなってきた。この自己抗体はリン脂質自身ではなく、リン脂質に β 2-glycoproteinが結合することにより新たに出現する結合部位に対する抗体であることが判明している。

一方、aCLが陰性であってもループス抗凝固因子 (lupus anticoagulant ; LAC) が陽性であるAPSの存在が判明してきた。

筆者らはAPSの原因の一部が抗prothrombin抗体 (aPT) であることを報告してきた。そこで本研究ではSLEやAPSにおけるaPTのB細胞エピトープを分子レベルで明らかにすることを目的とした。

(方法)

1. 抗原となるプロトロンビンは新鮮ヒト血漿から精製し、セリンプロテアーゼであるthrombinを用いて2つのフラグメント (prethrombin-1, fragment-1) にした。
2. 得られた2つのフラグメントのN端のアミノ酸配列をペプチドシーケンサーを用いて確定し、抗原として用いた。
3. Prethrombin-1とfragment-1およびthrombin (Sigma) をマイクロプレートに固相化 ($10 \mu\text{g/ml}$) し、aPTを有する13名の患者血清 (SLE : 7名, APS : 4名, SLE + APS : 2名) の結合活性をELISAで測定した。
4. ELISAの条件はコバルト60で放射線照射した96穴のマイクロプレートを使用し、緩衝液としてTween (0.05%) を含むTBSを用いた。

(結果)

1. 5例 (SLE: 1名, APS: 3名, SLE + APS: 1名) で prethrombin-1 に結合する抗体が陽性であった。
2. 8例 (SLE: 6名, APS: 1名, SLE + APS: 1名) で fragment-1 に結合する抗体が陽性であった。
3. 両方のフラグメントに対して結合活性を持つ抗体を有する患者は認められなかった。
4. 全ての抗体は thrombin には結合しなかった。
5. 血栓症の既往者は抗 prethrombin-1 抗体陽性者では5名中4名 (80%) に認められたが, 抗 fragment-1 抗体陽性者では8名中2名 (25%) にしか認められなかった。
6. 抗 prethrombin-1 抗体を有する患者のうち2名は LAC 陽性, aCL 抗体陰性であった。

(考察)

SLEやAPS患者血清中にaPTが存在することに関しては多くの報告があるが, その結合部位についての報告はほとんどなかった。本研究ではaPTには2種類の抗体が存在することを発見し, それぞれがプロトロンビン上の異なる2つのドメイン (prethrombin-1とfragment-1) に結合することを明らかにした。プロトロンビン分子はいくつかの機能ドメイン構造を持つことが知られている。そのうちprethrombin-1はプロトロンビンのC末端側に位置し, セリンプロテアーゼであるthrombinの酵素活性部位と血液凝固V因子の結合部位を含む。prethrombin-1を認識するaPTは血液凝固V因子の結合を阻害することによってthrombinの前駆体であるプロトロンビンの機能に影響する可能性が考えられる。一方, fragment-1はリン脂質との結合部位を含むため, fragment-1を認識するaPTはプロトロンビンとリン脂質との結合を阻害することによって, in vitro で凝固時間を延長する可能性がある。aPTによるAPS発症における分子機構については今後の解析が待たれる。

(結論)

以上の研究からaPTには少なくとも2種類の抗体が存在し, そのB細胞エピトープはプロトロンビン分子上のprethrombin-1とfragment-1であることが判明した。また, prethrombin-1に対するaPTと血栓症に強い関連が認められるため, この抗体によるAPS発症機序の解析が重要であろうと考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

抗リン脂質抗体症候群はリン脂質に対する抗体により, 各種動静脈血栓症や習慣性流産, 中枢神経病変, 血小板減少などを呈する疾患である。この自己抗体はリン脂質自身ではなく, リン脂質に β 2-glycoproteinが結合することにより β 2-glycoproteinに新たに出現する結合部位に対する抗体であることが判明している。一方, 抗カルジオリピン抗体が陰性であってもループス抗凝固因子が陽性である抗リン脂質抗体症候群の存在が判明してきた。

筆者らは抗リン脂質抗体症候群の原因の一つが抗prethrombin抗体であることを報告してきた。本研究ではaPTには2種類の抗体が存在することを発見し, それぞれがプロトロンビン上の異なる2つのドメイン, すなわちprethrombin-1とfragment-1に結合することを明らかにした。

prethrombin-1に対する抗体を有する患者には血栓症の発生が多く, 抗prethrombin自己抗体の抗原認識部位の相異により, 臨床像が異なる可能性が示唆された。しかし, 検討症例が13例と少なく, 症例数を増やしての検討が必要である。本研のエピトープの解析は今後さらにAPS発症機序の解明につながることを期待される。本研究は新知見を有しており, 臨床的にも価値の高い論文と判定した。

よって, 著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。