

氏名(本籍)	たけむらひろゆき 竹村博之(茨城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第1,285号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	抗インターロイキン-6自己抗体：その機能および強皮症との関連に関する研究
主査	筑波大学教授 医学博士 大塚藤男
副査	筑波大学教授 医学博士 濱口秀夫
副査	筑波大学教授 理学博士 坂内四郎
副査	筑波大学教授 医学博士 山下亀次郎
副査	筑波大学助教授 獣医学博士 八神健一

論文の要旨

〈目的〉

近年、インターロイキン(IL)-1 α 、tumor necrosis factor α 、IL-8、各種インターフェロンなどのサイトカインに対する自己抗体の存在が知られるようになった。抗サイトカイン自己抗体は生体内でサイトカインを失活させることがあるが、逆にその結合蛋白として活性保持に働く機能も推測されている。

IL-6は多様な生理活性をもつ重要なサイトカインの一つであるが、本研究は先ず膠原病患者にIL-6に対する自己抗体が存在するか否かを検討した。その結果、強皮症、特に限局型強皮症患者に同自己抗体を見いだしたので、同自己抗体の機能並びにIL-6と強皮症との関連性を明らかにするための検討を行った。

〈材料と方法〉

1. 全身性強皮症、全身性エリトマトーデス、慢性関節リウマチ、多発性筋炎/皮膚筋炎各症例および健常人対照の血清中の抗IL-6 IgG自己抗体をradioimmunoassayにて測定した。
2. IL-6活性はマウスハイブリドーマ細胞を用いたproliferation assayにより測定した。患者血清添加により抗IL-6 IgG自己抗体の中和活性を、またStewardとPettyの方法に従って同自己抗体の抗原に対する固有親和力を測定した。血清に¹²⁵I-IL-6を加えた後、IgGを分離し、IgGに結合するIL-6量をみて血清のIL-6結合容量を算出した。
3. 血清中のIL-6-抗IL-6 IgG自己抗体複合体の存在を、size-exclusion HPLCにて血清を高速ゲルろ過し、各画分のIL-6活性を測定して調べた。同複合体のIL-6活性保持能力の測定はIgGとIL-6とを

incubation した後に得たゲルろ過各画分の IL-6 活性測定によった。また、IgG と ^{125}I -IL-6 とを同様に incubation した後ゲルろ過し、各画分の放射能を測定し、IL-6 の絶対量に対する IL-6-IgG 複合体の総 IL-6 活性の割合を算出した。同複合体の IL-6 受容体 (IL-6R) への結合は固相化した可溶性 IL-6R と反応させて調べた。

4. 強皮症および正常人の培養皮膚線維芽細胞を各種成長因子で刺激、その上清の IL-6 活性を測定し、強皮症における IL-6 の関与を検討した。

〈結果および考察〉

全身性強皮症 52 例中の 9 例 (17.3%) に、抗 IL-6 自己抗体を検出し、これは健康人や他の膠原病患者 (5% 以下) より有意に高い陽性率がであった。全身性強皮症を限局型とびまん型に分けると、抗体陽性率は各々約 43%, 7.9% であった。限局型全身性強皮症に抗 IL-6 自己抗体の出現頻度が高いことが明らかとなった。

強皮症患者の自己抗体陽性血清は平均 120.2 pg/ml の IL-6 活性を示し、抗体陰性血清 (平均 62.8 pg/ml) より高い傾向にあった。抗 IL-6 IgG 自己抗体の中和活性は弱く、IgG に結合した IL-6 は 63.4 ~ 72.8% の IL-6 活性を保持した。同抗体の結合定数は $4.2 \times 10^9 \sim 3.3 \times 10^{10} \text{L/M}$ と高親和性であった。また、自己抗体価の高い血清の IL-6 結合容量は高く、1000 pg/ml の IL-6 を 47 ~ 60% 結合した。

抗 IL-6 自己抗体価の高い血清中には、IL-6 活性を示す IL-6-IgG 自己抗体複合体が存在した。また、分子量が 200 ~ 250 kD であることより、IL-6-IgG 複合体は IgG に IL-6 が 2 分子結合した monomeric な存在と考えられた。同複合体は固相化した可溶性 IL-6 R に結合するので、抗 IL-6 自己抗体の認識する IL-6 の主要なエピトープは、受容体結合部位とは異なると推測された。以上の結果は抗 IL-6 自己抗体が生体内での IL-6 の結合蛋白としてその活性保持に働いていることを示すものである。

血清刺激による培養皮膚線維芽細胞の上清中 IL-6 活性は、強皮症では平均 1522 pg/ml と健康人 (平均 255 pg/ml) の 6 倍で、PDGF (platelet derived growth factor) 刺激による IL-6 産生量も健康人の 3 ~ 6 倍であった。即ち、強皮症皮膚線維芽細胞は血清や PDGF などの刺激により IL-6 産生が亢進することも明らかとなった。

審 査 の 要 旨

近年各種サイトカイン自己抗体の存在が知られるようになった。それら自己抗体は生体内で強い中和活性を示してサイトカインの活性を失活させる機能やサイトカイン結合蛋白として作用する可能性が推測されている。これまで抗 IL-6 自己抗体の存在は知られていなかったが、本研究は限局型全身性強皮症に高頻度に同自己抗体が出現することをはじめて見いだした。さらに、同自己抗体の機能を詳細に解析し、同抗体が生体内で IL-6 と結合し、IL-6-IgG 複合体として IL-6 活性を保持していることを明らかにした。これは抗 IL-6 自己抗体が結合蛋白として機能し、IL-6 の活性保持に働いていることを示すものであって、抗サイトカイン自己抗体の結合蛋白としての機能をはじめて明らかにしたものとして高く評価できる知見である。さらに本研究は強皮症患者由来培養皮膚線維芽細胞が血清や

PDGF 刺激で IL-6 産生を亢進することをも示し、自己抗体の存在とともに IL-6 が強皮症の病態形成に
関与する可能性を示唆している。

以上、本論文は抗 IL-6 自己抗体を限局型全身性強皮症に見いだし、同自己抗体が IL-6 の結合蛋白
として機能していることを明らかにした点に高い意識をもつ。よって、本論文は博士(医学)学位に相
当する論文と結論した。

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。