

令和元年5月30日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16331

研究課題名(和文) 膠原病で検出された160kDaタンパクに対する自己抗体の抗原解析

研究課題名(英文) The analysis of the autoantigen targeted by the autoantibody to a protein with a molecular weight of 160 kDa in sera with connective tissue disease.

研究代表者

藤木 明子 (Fujiki, Akiko)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：30746384

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：膠原病では抗核抗体および疾患特異的自己抗体が高率に検出される。それぞれの自己抗体は臨床的特徴を有している。我々は免疫沈降法による自己抗体のスクリーニングにて160kDa蛋白に対する新規自己抗体を検出した。MS解析にて抗原蛋白はscaffold attachment factor Bと判明した。抗SAFB抗体は全身性強皮症や多発性筋炎、皮膚筋炎、間質性肺疾患の患者で認められ、レイノー現象や爪上皮出血点を有していた。抗SAFB抗体は間質性肺疾患に関連した新規膠原病自己抗体であると考えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膠原病における自己抗体の役割は未だ明らかではないが、個別の疾患特異的自己抗体は特徴的な臨床像と結びついているため、膠原病診療において自己抗体を同定することは重要である。しかし、既知の自己抗体以外にも対応抗原が未知の自己抗体が多数存在している。未知の自己抗体を解析することにより、合併症に注意しながら診療することができる。

研究成果の概要(英文)：Antinuclear antibodies (ANAs) are a hallmark of autoimmune connective tissue diseases(CTD). The CTD-related autoAbs are associated with specific clinical features. During the screening process using immunoprecipitation assays in sera, we found several sera that occasionally reacted with a protein with a molecular weight of 160 kDa. Using a series of biochemical and molecular analyses, the autoantigen targeted by this Ab specificity was identified as scaffold attachment factor B (SAFB). The anti-SAFB Ab was detected in a small number of patients with systemic sclerosis, polymyositis/dermatomyositis and interstitial lung disease (ILD). Patients with anti-SAFB Ab had Raynaud's phenomenon and nail fold punctate hemorrhage. Anti-SAFB Ab is a novel CTD-related autoAb possibly associated with ILD.

研究分野：皮膚科

キーワード：SAFB 自己抗体 膠原病 間質性肺疾患

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膠原病を始めとする自己免疫疾患では様々な自己抗体が検出される。なかでも、全身性強皮症 (Systemic sclerosis;SSc) と皮膚筋炎 (Dermatomyositis;DM) では複数の疾患特異的自己抗体の存在が知られている。SSc とは血管障害と皮膚及び内臓諸臓器の線維化を特徴とする疾患で、皮膚硬化が肘あるいは膝より遠位にとどまる limited cutaneous SSc(lcSSc)と、肘あるいは膝より中枢側に及ぶ diffuse cutaneous SSc(dcSSc)に大別される。SSc では90%以上で抗核抗体が検出され、複数の疾患特異的自己抗体が存在する。これらのSSc 特異的自己抗体は相互に排他的で(同時に複数の抗体が出現することは極めて稀)一度出現すると経過中は常に陽性となり、他の自己抗体に変化することはないとされる。それぞれの自己抗体は特徴的な臨床症状と相関するため、SSc の診断、治療において自己抗体を同定することは重要である。代表的な強皮症特異的自己抗体のなかで、抗トポイソメラーゼ 抗体と抗 RNA ポリメラーゼ抗体はdcSSc と相関し、抗セントロメア抗体はlcSSc と相関する。また、抗トポイソメラーゼ 抗体は指尖潰瘍、間質性肺炎を伴う頻度が高く、抗 RNA ポリメラーゼ抗体は腎クリーゼのリスクが高い。抗セントロメア抗体は重篤な内臓病変を伴うことは少なく、一般的に予後は良好である。その他、抗 U3 抗体、抗 Th/To 抗体、抗 human upstream-binding factor(hUBF)抗体、抗 U RNP 抗体、抗 Ku 抗体、抗 PM-Scl 抗体なども頻度は少ないながら特徴的な臨床像と相関している。一方、DM とは筋症状と特徴的な皮疹(ヘリオトロープ疹、Gottron 徴候、顔面・四肢の紅斑)を有する全身性自己免疫疾患である。近年、筋炎特異的抗体の解析がすすみ、抗 ARS 抗体、抗 Mi-2 抗体、抗 MDA5 抗体、抗 TIF1 抗体などの自己抗体が同定されている。抗 ARS 抗体陽性例では、レイノー症状、間質性肺炎、関節痛、発熱、メカニックスハンドなどの共通した臨床症状を有することが知られており抗 ARS 抗体症候群と呼ばれる。また、抗 MDA5 抗体では急速進行型間質性肺炎を効率に合併し、抗 TIF1 抗体では半数以上に悪性腫瘍を合併する。このように、膠原病では疾患特異的自己抗体の存在が診断や治療戦略において重要である。

### 2. 研究の目的

膠原病では抗核抗体および疾患特異的自己抗体が高率に検出される。しかし、既知の自己抗体以外にも対応抗原が未知の自己抗体が多数存在している。申請者らはこれまでの経験から、複数の膠原病患者において160kDaタンパクに対する自己抗体が存在することを明らかにした。本研究では、この160kDaタンパクに対する自己抗体の対応抗原を同定し、抗160kDaタンパク抗体の臨床的特徴を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

ウエスタンブロット法によりタンパクを分離し、免疫染色を行って目的の160kDaタンパクを可視化する。バンドを切り出してMS 解析によりアミノ酸配列を解析して蛋白の同定。同定した蛋白のリコンビナント蛋白や同蛋白に対する抗体を入手(購入)し、免疫沈降法、ウエスタンブロット法、ELISA 法により、対応抗原であることを確認する。さらに、抗160kDaタンパク抗体を有する症例の臨床的特徴について検討する。

#### 4. 研究成果

膠原病で検出される自己抗体は対応抗原が明らかになっているものが多いが、抗核抗体は陽性であるものの既存の自己抗体が検出されない一群が存在する。このような症例の血清を用いてアイソトープ標識ヒト白血病由来培養細胞抽出物を用いた免疫沈降法で自己抗体を検討すると、既存の自己抗原以外のタンパクを沈降する

ことがある。これまでの我々の検討で、免疫沈降法で自己抗体を検討した症例のうち 10 例で 160 kDa タンパクを沈降することが明らかになった。この 160 kDa タンパクは既存の自己抗体の対応抗原ではないため、新規自己抗体に対する抗原と考えた。

本研究では、膠原病および類縁疾患で検出された抗 160 kDa タンパク抗体の対応抗原を同定し、抗 160 kDa タンパク抗体陽性患者の臨床的特徴について検討した。得られた結果は以下のように要約される。

- (1) 160 kDa タンパクを質量解析で検討したところ、Scaffold attachment factor B (SAFB) と同定された。
- (2) SAFB に対する市販のポリクローナル抗体を用いた Immunoprecipitation-Western-blotting (IP-WB) 法および精製 SAFB を用いた WB 法で、抗 160 kDa タンパク抗体陽性血清からは 7 例中 7 例で目的のバンドを検出したが、健康者 1 例の血清では検出しなかった。
- (3) 抗 SAFB 抗体陽性血清は蛍光抗体間接法で 10 例全例が Speckled pattern を示し、力価は 640 倍～5120 倍だった。
- (4) 抗 SAFB 抗体陽性の 10 例 (全身性強皮症 2 例、多発性筋炎/皮膚筋炎 1 例、間質性肺炎 4 例、重複症候群 1 例、原発性レイノー病 1 例、好酸球性肺炎 1 例) は 5 例がレイノー現象、8 例が間質性肺疾患を合併していた。

本研究の結果から、抗 SAFB 抗体は間質性肺疾患と関連する新規の膠原病関連自己抗体と考えられた。本研究は抗 SAFB 抗体の同定と臨床的特徴を初めて明らかにしたものであることから学位に値すると判断された。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

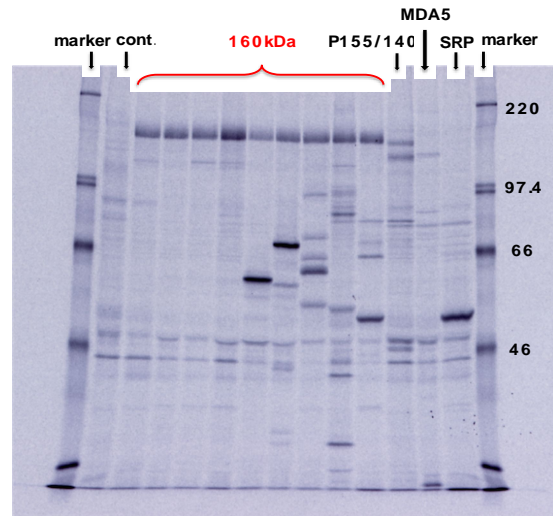
〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：



発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：濱口儒人

ローマ字氏名：(HAMAGUCHI, yasuhito)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。