

令和 3 年 6 月 19 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08235

研究課題名(和文) ループス腎炎の発症病態における抗リボソームP抗体の関与

研究課題名(英文) Lupus nephritis and anti-ribosomal P antibody

研究代表者

佐藤 弘恵 (Sato, Hiroe)

新潟大学・保健管理・環境安全本部・講師

研究者番号：80705963

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：マウスに抗Pモノクローナル抗体を投与したところ、抗P抗体が糸球体に沈着しメサンキウム増殖が生じることで腎機能障害を惹起することが示された。一方でループス腎炎患者では抗P抗体単独陽性の1例は膜性病変のみで腎予後が良好で、マウスの実験結果と異なった。この理由として患者の抗P抗体とモノクローナル抗体の抗原結合力の違いなどが考えられた。一方抗P抗体と抗DNA抗体ともに陽性症例は増殖型であり腎予後が他と比較し良いとは言えず、治療開始後の低補体が残存しやすいことから抗P抗体独自の免疫異常に伴う組織障害をきたしていることが想定された。抗P抗体による免疫障害メカニズムについてさらに検討をする必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで抗P抗体のループス腎炎における意義については報告により異なっていた。本研究では初めて抗Pモノクローナル抗体をマウスに投与することで抗P抗体単独での作用について解析することが可能であり、抗P抗体自体が糸球体障害を起こす可能性が示唆された。またループス腎炎症例の解析では抗DNA抗体の併存の有無により重症度に差があることが示され、治療方針の決定にも有用な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：In vivo administration of anti-P antibody induced infiltration of monocytes/macrophages in glomeruli and deterioration of kidney function. On the other hand, a lupus patient with anti-P without anti-DNA antibody showed class histology and maintained good renal function, which were different results from in vivo experiments. The reason of this discrepancy might be that the binding affinity to antigen was different between human anti-P and monoclonal anti-P. Five patients with both anti-P and anti-DNA antibodies showed proliferative nephritis and were frequently associated with prolonged hypocomplementemia. Thus, anti-P itself could independently affect lupus nephritis, and further research is required.

研究分野：腎・膠原病

キーワード：ループス腎炎 抗リボソームP抗体

1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス(SLE)では、しばしば通常の免疫反応では産出されにくい高度保存部位に対する自己抗体が出現する。特に抗リボソームP抗体(抗P抗体)はリボソームを構成する多くのタンパク質成分のなかで最も種を超えて保存されているPタンパク質(P0, P1, P2)の共通C末端部分(抗P抗原)に対する抗体で、SLEに伴うループス精神病やループス腎炎、皮疹、肝炎と関連し、疾患活動性に応じて血中濃度が変化することが示唆されている(Toubi E et al. *Autoimmun Rev* 2007)。リボソームは本来細胞質内に存在するが、P0タンパクは肝細胞癌細胞、神経芽腫細胞、線維芽細胞、単球、活性化T細胞などの各種細胞表面に表出し、抗P抗体と結合することが報告されている。

ループス腎炎合併患者の腎組織からは高濃度の抗P抗体が抽出されることから、抗P抗体がループス腎炎の発症進展に寄与していると推測されており(Reichlin M et al. *Arthritis Rheum*1999)、ループス腎炎患者の腎組織との関連では型で抗P抗体陽性頻度が高いことが報告されている(do Nascimento et al. *Arthritis Rheum* 2006, Bertolaccini ML et al. *Arthritis Rheum*2006)。また、抗DNA抗体陰性かつ抗P抗体陽性のループス腎炎の症例報告もあり(Sugisaki K et al. *Internal Med* 2002)、抗P抗体はSLEの腎組織において抗DNA抗体とは独立して腎炎を惹起することが示唆されている。しかしループスモデルマウスを用いた実験では、NZBxW/F1マウスにリコンビナントP0タンパク質を免疫すると抗P抗体が産生されるとともに、免疫複合体の沈着を伴う糸球体増殖性病変が惹起されることが明らかとなっているが、抗DNA抗体や抗Sm/RNP抗体などが同時に惹起されており、抗P抗体単独による腎障害進展機序は明らかではない(Shor D et al. *J Autoimmun* 2014)。

以上のように抗P抗体がSLE患者の中樞神経症状、腎障害に関与し、病原性を持つことは明らかではあるが、その機序については解明されていない点が多い。抗P抗体による細胞障害、臓器障害のメカニズムを明らかにすることができれば、自己抗体による自己免疫疾患の病態像の解明に寄与し、さらには新規治療の開発にも繋がると考えられる。

2. 研究の目的

抗Pモノクローナル抗体を用い、腎臓における抗P抗体による組織障害の有無を組織学的解析により明らかにすることを目的とする。また、腎生検でループス腎炎と診断もしくは疑われたループス腎炎患者について、組織学的所見および腎予後と、抗P抗体の関連を明らかにし、さらに抗Pモノクローナル抗体9D5を用いた腎組織の免疫染色を行うことにより、ループス腎炎における抗P抗体の直接的関与についてヒト腎組織において明らかにする。本研究で得られる知見は自己抗体を産生する自己免疫疾患の病態解明に貢献するものであり、新しい治療法の開発にも繋がると考える。

3. 研究の方法

培養マウス系球体メサンギウム細胞と内皮細胞の表面に抗P抗体に対応する抗原が表出しているかを、免疫沈降・ウエスタンブロット法で確認した。NZBW, NZW, C57BL/6, BALB/cマウスに抗Pモノクローナル抗体9D5を2週間ごとに1mgずつ投与し、腎障害について血清尿素窒素、血清シスタチンC濃度と、組織学的変化について評価した。新潟大学動物実験倫理委員会の承認の下実施した(承認番号SA00061)。

また腎生検でループス腎炎と診断された34例について、血清抗P抗体の有無と腎組織所見、また腎予後との関連について後方視的に検討した。抗P抗体はアルテミアリボソームのPタンパクを抗原としたウエスタンブロット法を用いて測定した。さらに抗Pモノクローナル抗体9D5を用いた免疫組織染色を試みた。新潟大学倫理審査委員会の承認の下実施した(承認番号2015-2625)。

4. 研究成果

抗Pモノクローナル抗体9D5は培養マウス系球体メサンギウム細胞と内皮細胞の表面に結合し、その対応抗原はP0タンパクであった。8週齢のNZBW, NZW, C57BL/6, BALB/cマウスに抗Pモノクローナル抗体を2週ごとに投与したところ、いずれの系統のマウスにおいても血清シスタチンCと尿素窒素濃度の上昇を認め、腎機能障害をきたした。32週齢での糸球体の組織学的検討では、PAS陽性領域の増加とPAM染色でメサンギウム細胞の増殖が認められた。さらにメサンギウム細胞と内皮細胞に9D5の沈着が見られたが、C1qは9D5投与マウスもマウスポリクローナルIgG投与コントロールも同等に陽性であった。以上からマウスIgG投与だけでも補体沈着を生じるが、抗Pモノクローナル抗体9D5は通常のIgGと異なり糸球体に沈着しメサンギウム細胞増殖を誘導することが示された。

腎生検でループス腎炎と診断された34例について、抗P抗体は6例(17.6%)で陽性、抗DNA抗体は26例(76.5%)で陽性で、抗P抗体陽性6例のうち、5例が抗P抗体と抗DNA抗体ともに陽性で、1例は抗P抗体のみ陽性であった(図1)。抗P抗体のみ陽性の1例は抗Sm抗体陽

性，組織型は ISN/RPS 分類 型で，治療開始後 14 年間寛解を維持し腎機能も良好であった。一方で抗 P 抗体と抗 DNA 抗体ともに陽性の 5 例は ISN/RPS 分類 型の増殖型で，治療開始後も低補体が残存しやすく，慢性腎臓病の発生は抗 P 抗体陽性・抗 DNA 抗体陰性症例と差はなく良好とは言えなかった。ループス腎炎症例の腎組織について抗 P モノクローナル抗体 9D5 を用いた免疫組織染色を試みたが非特異的の反応が強く，抗 P 抗体に特異的な結果は得られなかった。

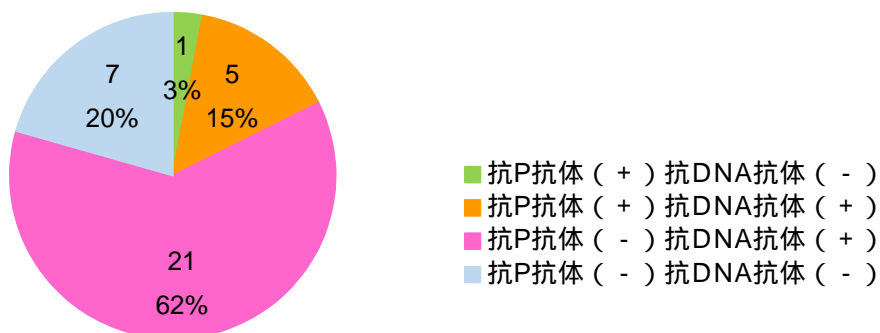


図 1 . ループス腎炎 34 例における抗 P 抗体と抗 DNA 抗体陽性率

本研究ではマウスを用いた検討により，抗 P 抗体のみの投与で抗 P 抗体が糸球体に沈着しメサンギウム増殖が生じることで腎機能障害を惹起することが示された。一方でループス腎炎患者では抗 P 抗体単独陽性の 1 例は膜性病変のみで腎予後が良好であり，マウスの実験結果と異なった。この理由として患者の抗 P 抗体とモノクローナル抗体の抗原結合力の違いや，ヒトとマウスで糸球体構成細胞表面の P 抗原の分布の程度が異なる可能性などが考えられる。しかしながら抗 P 抗体と抗 DNA 抗体ともに陽性症例は全例増殖型であり腎予後が他と比較し良いとは言えず，治療開始後の低補体が遷延しやすかったことから，抗 DNA 抗体単独に比べて抗 P 抗体独自の免疫異常に伴う組織障害をきたしていることが想定される。今後は抗 P 抗体による免疫異常の分子メカニズムについてさらに検討を進める必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Cho Takamasa, Sato Hiroe, Wakamatsu Ayako, Ohashi Riuko, Ajioka Yoichi, Uchiyama Toshio, Goto Shin, Narita Ichiei, Kaneko Yoshikatsu | 4. 巻 206 |
| 2. 論文標題 Mood Disorder in Systemic Lupus Erythematosus Induced by Antiribosomal P Protein Antibodies Associated with Decreased Serum and Brain Tryptophan | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Immunology | 6. 最初と最後の頁 1729 ~ 1739 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.2000260 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Wakamatsu Ayako, Sato Hiroe, Kaneko Yoshikatsu, Cho Takamasa, Ito Yumi, Kurosawa Yoichi, Hasegawa Eriko, Kobayashi Daisuke, Nakatsue Takeshi, Kuroda Takeshi, Suzuki Yoshiki, Uchiyama Toshio, Narita Ichiei | 4. 巻 30 |
| 2. 論文標題 Association of coexisting anti-ribosomal P and anti-dsDNA antibodies with histology and renal prognosis in lupus nephritis patients | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Lupus | 6. 最初と最後の頁 448 ~ 458 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/0961203320983906 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 佐藤 弘恵, 若松 彩子, 張 高正, 須藤 真則, 長谷川 絵理子, 細島 康宏, 小林 大介, 中枝 武司, 金子 佳賢, 成田 一衛 |
| 2. 発表標題 抗リボソームP抗体とループス腎炎の長期腎予後との関連について |
| 3. 学会等名 日本腎臓学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 若松彩子, 佐藤弘恵, 坂井俊介, 高村紗由里, 小林大介, 中枝武司, 和田庸子, 黒田 毅, 中野正明, 成田一衛 |
| 2. 発表標題 抗リボソームPモノクローナル抗体によるループス腎炎免疫組織染色所見について |
| 3. 学会等名 日本リウマチ学会学術総会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 若松彩子、佐藤弘恵 他 |
| 2. 発表標題 ループス腎炎における抗リボソームP抗体の検討 |
| 3. 学会等名 日本リウマチ学会学術総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 張高正、佐藤弘恵、金子佳賢、成田一衛 |
| 2. 発表標題 抗リボソームP抗体はFc 受容体依存性にTNF- α ・IL-6を介して腎機能障害を呈する |
| 3. 学会等名 日本腎臓学会学術総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 若松彩子、佐藤弘恵、張高正、金子佳賢 他 |
| 2. 発表標題 抗リボソームP抗体・抗dsDNA抗体の有無とループス腎炎病理組織所見の関連について |
| 3. 学会等名 日本腎臓学会学術総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Takamasa Cho、Hiroe Sato、Yoshikatsu Kaneko |
| 2. 発表標題 Anti-ribosomal P antibody induces Fcg receptor-dependent multiple organ dysfunction through TNF- α production. |
| 3. 学会等名 日本免疫学会学術総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------|--|-------------------------------------|----|
| 研究 分担 者 | 金子 佳賢 (Kaneko Yoshikatsu) (80444157) | 新潟大学・医歯学系・講師 (13101) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|