

京都大学	博士（医学）	氏 名	日 和 良 介
論文題目	<b>Myeloperoxidase/HLA class II complexes recognized by autoantibodies in microscopic polyangiitis</b> （ミエロペルオキシダーゼ／HLA クラス II 複合体は、顕微鏡的多発血管炎で出現する自己抗体によって認識される）		
（論文内容の要旨）			
<p>【目的】全身性血管炎の一つである、顕微鏡的多発血管炎（MPA）患者の血中にはミエロペルオキシダーゼ（MPO）に対する自己抗体（MPO-ANCA）が検出される。MPO-ANCA は好中球を活性化させることにより、MPA の病態形成に重要な役割を担っていると考えられている。近年、小胞体内のミスフォールド蛋白質が HLA クラス II 分子によって細胞表面に輸送されることを発見した。さらに、ミスフォールド蛋白質/HLA クラス II 複合体が、関節リウマチの自己抗体や抗リン脂質抗体の標的となっていることを明らかにし、HLA クラス II 分子が自己抗体の自己抗原への結合に関与していることを示してきた。今回、MPA に着目し、MPO が疾患感受性 HLA-DR 分子によって提示され、MPO-ANCA の標的となるかを検討した。</p> <p>【方法】MPO と HLA-DR の cDNA を含む発現プラスミドを HEK293T 細胞に導入した。 MPO/HLA-DR 複合体への自己抗体の結合を、フローサイトメトリーで解析した。MPO と HLA-DR の結合を、免疫沈降法で確認した。また、MPO 蛋白を用いた競合阻害実験によって、MPO-ANCA のエピトープを ELISA 法と MPO/HLA-DR 複合体のフローサイトメトリー法で比較検討した。さらに健常人および患者の好中球における MPO と HLA-DR との結合を免疫沈降法で解析した。HLA-DR を発現させた HL-60 細胞を好中球様に分化させ、MPO-ANCA によって活性化が起こるかどうかを培養液中の IL-8 を測定し検討した。</p> <p>【結果】MPO と HLA-DR を共に導入すると細胞表面の MPO 発現が MPO 単独導入よりも増加した。HLA-DR のペプチド結合溝に親和性の高いペプチドを結合させると、MPO 発現は阻害され、MPO がペプチド結合溝に結合することが示された。MPO/HLA-DR 複合体は患者由来 MPO-ANCA によって認識された。競合阻害実験によって、HLA-DR と結合した MPO の自己抗体反応性エピトープは MPO 単独とは異なることが示唆された。種々の HLA-DR アリルの MPA 発症に対するオッズ比と、MPO/HLA-DR 複合体に対する自己抗体の抗体価との関連を検討したところ、高い相関を認めた。サイトカインで刺激して HLA-DR を誘導した、感受性アリルを持つ健常人の好中球で MPO/HLA-DR 複合体が免疫沈降法で検出された。また、MPA 患者の好中球に MPO/HLA-DR 複合体が検出され、ステロイド治療後には検出されなくなった。HL-60 細胞に HLA-DR を発現させると、内因性の MPO の細胞表面での発現が増加し、さらに、MPO-ANCA は MPO/HLA-DR 複合体を発現した HL-60 細胞を活性化した。</p> <p>【結論】MPO と特定の感受性 HLA クラス II 分子の複合体が、MPO-ANCA の標的として MPA の病態に関与している可能性が示唆された。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>近年、小胞体内のミスフォールド蛋白質が HLA クラス II 分子によって細胞表面に輸送され、自己抗体の標的となることが明らかにされた。申請者は顕微鏡的多発血管炎（MPA）において、ミエロペルオキシダーゼ（MPO）が疾患感受性 HLA-DR 分子と結合し、MPO に対する自己抗体（MPO-ANCA）の標的となるかを検討した。</p> <p>まず、HEK293T 細胞に MPO と HLA-DR 遺伝子を共に導入すると細胞表面の MPO 発現が MPO 単独導入よりも増加し、MPO が HLA-DR 分子によって細胞表面へ輸送されることが示された。HLA-DR のペプチド結合溝に親和性の高いペプチドを結合させると MPO 発現は阻害され、MPO と HLA-DR の複合体が形成されていると考えられた。この MPO/HLA-DR 複合体は患者由来の MPO-ANCA によって認識され、種々の HLA-DR アリルの MPA 感受性のオッズ比と MPO/HLA-DR 複合体に対する自己抗体価の間に高い相関を認めた。感受性アリルを持つ健常人の好中球に IFN-<math>\gamma</math> で HLA-DR を誘導すると MPO/HLA-DR 複合体が検出され、また、MPA 患者の好中球には無刺激で MPO/HLA-DR 複合体が形成されていることが示された。さらに、患者 MPO-ANCA が MPO/HLA-DR 複合体を発現した HL-60 細胞を活性化したことから、MPO/HLA-DR 複合体が MPA における好中球活性化に関与している可能性が示唆された。</p> <p>これらの結果から MPO と特定の HLA クラス II 分子の複合体が MPO-ANCA の標的であり、MPA の発症と病態に関与する可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究は MPO-ANCA の産生と病態形成の解明に貢献し、血管炎の病態の理解に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 10 月 13 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日：        平成            年            月            日   以降			