

京都大学	博士（医学）	氏名	吉田 裕幸
論文題目	Anti-integrin $\alpha\beta6$ autoantibodies in patients with primary sclerosing cholangitis (原発性硬化性胆管炎患者における抗インテグリン $\alpha\beta6$ 自己抗体)		
(論文内容の要旨)			
【目的】 原発性硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis: PSC) は肝内外の胆管に慢性炎症および線維化を生じることと特徴とする、予後不良な肝疾患である。遺伝的因子、環境因子、腸内細菌叢、自己免疫機序などによる胆管上皮障害が病態に関与しているとされているが、正確な病因解明には至っていない。そのため疾患特異的な診断法は未だ確立されておらず、特異的な診断マーカー開発が切望されている。 インテグリンは $\alpha$ 鎖・ $\beta$ 鎖サブユニットからなる二量体を形成する細胞表面タンパク質で細胞接着を媒介する。18 種類の $\alpha$ 鎖と 8 種類の $\beta$ 鎖の組み合わせにより、計 24 種類の異なるインテグリンが確認されている。インテグリン $\alpha\beta6$ (以下、 $\alpha\beta6$ ) はフィブロネクチンなどの細胞外マトリックスタンパク質の受容体であり、その発現は上皮細胞に限定され、上皮バリア機能の維持に重要な役割を果たしていることが報告されている。 また、潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: UC) 患者が $\alpha\beta6$ に対する自己抗体を保有しているという報告があり、UC に類似した炎症性腸疾患を合併することの多い PSC 患者においても抗 $\alpha\beta6$ 抗体を保有しているかを検討するため、研究を行った。			
【方法・結果】			
(1) PSC 患者血清中の抗 $\alpha\beta6$ 抗体の検出 まず少数例の PSC 患者血清およびコントロール患者血清を用いて ELISA を行った結果、 $\alpha\beta6$ に対する IgG 抗体 (抗 $\alpha\beta6$ 抗体) を PSC 患者のみに認めた。次に多数例の血清で調べた結果、抗 $\alpha\beta6$ 抗体は PSC 患者 89.1% (49/55)、コントロール患者 3.3% (5/150) で陽性となり、感度 89.1%、特異度 96.7% となった。さらに炎症性腸疾患の有無に注目すると、炎症性腸疾患を合併した PSC 患者の抗体陽性率は 97.2% (35/36)、PSC 単独患者の抗体陽性率は 73.7% (14/19) であり、いずれも高い陽性率を認めたが、PSC 単独患者の陽性率がやや低い傾向があった。尚、 $\alpha\beta6$ のリガンド結合には $Mg^{2+}/Ca^{2+}$ が必要であるとされており、以前の UC を対象とした研究と同様に $Mg^{2+}/Ca^{2+}$ の存在下で ELISA を行った。			
(2) PSC 患者 IgG の胆管上皮における $\alpha\beta6$ への結合 胆管上皮の $\alpha\beta6$ の発現を調べるため、肝移植手術を受ける PSC 患者とコントロール患者 (PSC を除く慢性疾患による肝不全) の手術標本を解析した。免疫蛍光染色で $\alpha\beta6$ の発現を解析した結果、PSC・コントロール共に胆管上皮細胞に $\alpha\beta6$ を認めた。			
(3) PSC 患者 IgG による $\alpha\beta6$ -フィブロネクチン結合の阻害効果 抗 $\alpha\beta6$ 抗体の機能を調べるため、 $\alpha\beta6$ -フィブロネクチン結合に対する PSC 患者 IgG の影響を調べた。固相结合アッセイでは 40.5% (15/37) の PSC 患者 IgG がこの結合を阻害したが、コントロール IgG は阻害しなかった。PSC 患者 IgG の阻害活性は用量依存的であり、抗 $\alpha\beta6$ 抗体価と相関していた。 $\alpha\beta6$ はフィブロネクチンなどのリガンドに含まれる RGD 配列を認識することで結合する。そこで抗 $\alpha\beta6$ 抗体は、 $\alpha\beta6$ の RGD 結合部位を標的にして、その阻害活性を発揮している可能性が考えられた。RGDS ペプチドにより PSC 患者 IgG と $\alpha\beta6$ の結合は用量依存的に阻害されたが、RGES ペプチドでは阻害作用は認められなかった。この結果は RGD ペプチドと抗 $\alpha\beta6$ 抗体が、 $\alpha\beta6$ の RGD 結合部位に競合していることを示唆する。			
【考察】 抗 $\alpha\beta6$ 抗体が PSC 診断のバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。さらに抗 $\alpha\beta6$ 抗体は $\alpha\beta6$ -フィブロネクチン結合阻害活性を有しており、PSC の病態に関与している可能性が考えられる。PSC 患者と UC 患者は抗 $\alpha\beta6$ 抗体を持つという点は共通しているが、PSC の大腸病変と UC では臨床的特徴が異なっている。インテグリン $\beta6$ 遺			

伝子異常が PSC、UC 類似の症状を呈した症例も報告されており、抗  $\alpha\beta6$  抗体が PSC や UC において病的な役割を果たす可能性が示唆されるが、本研究においては PSC 患者と UC 患者の持つ抗  $\alpha\beta6$  抗体に異なる特徴は認めず、疾患の表現型が異なる理由は不明である。

(論文審査の結果の要旨)

原発性硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis: PSC) は、自己免疫機序などによる胆管上皮障害が病態に関与しているとされているが、詳細は不明である。そのため疾患特異的な診断法は確立されておらず、特異的な診断マーカー開発が切望されている。潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: UC) 患者はインテグリン  $\alpha\beta6$  (以下、 $\alpha\beta6$ ) に対する自己抗体を保有しており、UC に類似した炎症性腸疾患を合併する PSC 患者において、抗  $\alpha\beta6$  抗体を保有しているかを検討した。

本研究では、PSC 患者血清およびコントロール患者の血清、肝組織を用いて、PSC 患者特異的に抗  $\alpha\beta6$  抗体を認めること、また PSC 患者およびコントロール患者の胆管上皮に  $\alpha\beta6$  が発現していることを示した。更に PSC 患者の持つ抗  $\alpha\beta6$  抗体は、UC 患者と同様に、IgG 1 抗体、IgA 型抗体が優位であり、 $\alpha\beta6$  とそのリガンドであるフィブロネクチンとの結合をフィブロネクチン内の RGD 結合部位を標的にして阻害していることを示した。

抗  $\alpha\beta6$  抗体が PSC 診断のバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。抗  $\alpha\beta6$  抗体が in vivo で病的な役割を果たすのか、さらに、UC と PSC の表現型が異なる理由は不明であり、更なる研究が必要である。

以上の研究は原発性硬化性胆管炎の解明に貢献し診断バイオマーカーの開発に寄与するところが多い。

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。

なお、本学位授与申請者は、令和 6 年 1 月 29 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降