HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	抗好中球細胞質抗体関連血管炎における抗好中球細胞外トラップ抗体の存在と病的意義に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	八反田，文彦
Description	配架番号：2399
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13020号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70542
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Fumihiko_Hattanda_abstract.pdf，論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　八反田　文彦

学 位 論 文 題 名

抗好中球細胞質抗体関連血管炎における抗好中球細胞外トラップ抗体の存在と
病的意義に関する研究

(Studies on the Presence and Pathogenesis of Anti-Neutrophil Extracellular Trap Antibody in Patients with Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis)

【背景と目的】抗好中球細胞質抗体関連血管炎は、抗好中球細胞質抗体（Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody ：ANCA）が血液中に出現し、全身性の小型血管炎を生じる疾患である。ANCA の詳細な産生機序は未だ不明であるが、近年 ANCA 関連血管炎と好中球細胞死の一形態である好中球細胞外トラップ(Neutrophil Extracellular Traps ：NETs)の関連が注目されている。NETs は感染に対する生体防御において重要な役割を担っているが、生体内の主要な NETs 分解因子であるデオキシリボヌクレアーゼ Ⅰ(Deoxyribonuclease Ⅰ：DNase Ⅰ)の活性低下など NETs の分解障害が生じた場合、ミエロペルオキシダーゼ(myeloperoxidase ：MPO)などの細胞内蛋白や DNA が長時間細胞外に暴露され、それらを抗原とした自己抗体が産生されうる。ANCA 関連血管炎を発症する患者はこのような NETs の分解障害を背景として、何らかの環境要因によって NETs が生体内に長時間残存することで MPO-ANCA の産生が誘導される可能性がある。一旦 MPO-ANCA が産生されれば MPO-ANCA によって NETs 形成が誘導され、NETs と ANCA を介した悪循環（NETs-ANCA 悪循環)が生じると考えられる。MPO-ANCA 関連血管炎においてはこのような NETs-ANCA 悪循環が病態形成の一因を担っていると考えられるが、ANCA 関連血管炎患者の治療後の寛解維持期間と診断時の MPO-ANCA 値や治療後の MPO-ANCA の低下度に関連は認めないことから、MPO-ANCA とは別の要因が NETs-ANCA 悪循環を増幅している可能性がある。我々は、ヒドララジン誘発 MPO-ANCA 関連血管炎の症例を経験し、この症例において NETs-ANCA 悪循環が働いていること、また、NETs-ANCA 悪循環の増幅に抗 NETs 抗体が関与していることを見出した。今回我々はこの症例の臨床経過を報告し、経過中の 4 つの異なる時点において採取した患者血漿について、ANCA と抗 NETs 抗体の有無、NETs の誘導活性や分解活性を解析した結果を報告する。さらに、MPO-ANCA 関連血管炎患者における抗 NETs 抗体の存在頻度、ならびに抗 NETs 抗体の NETs 形成や分解に対する影響を解析し、さらに抗 NETs 抗原の対応抗原の同定を試みた。

【対象と方法】第一章(一例解析)：ヒドララジン誘発 MPO-ANCA 関連血管炎の症例。休薬のみで一旦改善したが再燃し、間接蛍光抗体（IIF）法で再燃時の血清中に抗 NETs 抗体を検出した。同症例の 4 つの異なる時点の血漿：初発時(ANCA 陽性、抗 NETs 抗体陰性)、再燃時（ANCA 陽性、抗 NETs 抗体陽性)、治療後早期（ANCA 陰性、抗 NETs 抗体陽性)、寛解時（ANCA 陰性、抗 NETs 抗体陰性）について NETs 分解能と NETs 誘導能を解析した。第二章(複数例解析)：MPO-ANCA 関連血管炎患者 11 例の血漿について抗 NETs 抗体の有無を IIF 法で判定し、抗 NETs 抗体の有無と血清の NETs 分

解能及び NETs 誘導能の関連を解析した。さらに抗 NETs 抗体の対応抗原の検索を IIF 法並びに ELISA 法（ANCA panel kit WIESLAB®,Euro Diagnostica 社）にて行った。

【結果】第一章:NETs 分解能はすべての時期の血漿で低値であり、NETs 誘導能は初発時、再燃時、治療開始早期の 3 つの時点で高値であった。第二章：MPO-ANCA 関連血管炎患者 11 例中、6 例に抗 NETs 抗体を検出した。抗 NETs 抗体陰性血漿（n=5）と陽性血漿（n=6）で、NETs 誘導能に有意差は無かった。NETs 分解能も有意差は無かったが、DNase I 添加後、抗 NETs 抗体陰性血漿では NETs 分解能が有意に増加したのに対し、陽性血漿では NETs 分解能が増加しないものがあった。また、血漿中の IgG 除去後、抗 NETs 抗体陰性血漿の NETs 分解能は増加しなかったが、陽性血漿中 2 例で NETs 分解能が顕著に増加した。それら 2 例の抗 NETs 抗体は、MPO で吸収しても IIF 法における NETs への反応性は失われず、また、NETs を誘導していない好中球の細胞質に反応したことから、MPO-ANCA 以外の ANCA と考えられた。その対応抗原を ANCA panel kit で検索したが、Azurocidin、BPI、Cathepsin G、Elastase、Lactoferrin のいずれでもなかった。

【考察】第一章では、ヒドララジン誘発 MPO-ANCA 関連血管炎の症例において、血管炎の再燃時の血漿中に抗 NETs 抗体を間接蛍光抗体法で検出した。本症例の抗 NETs 抗体は、NETs を形成してない好中球には反応せず、MPO-ANCA やその他の ANCA とは異なる自己抗体と考えられた。また、機能的には NETs 誘導能を有していた。第二章では、MPO-ANCA 関連血管炎患者 11 例中 6 例に抗 NETs 抗体を認めた。抗 NETs 抗体陽性 6 例中の 2 症例では、血漿中の IgG を除去することによって血漿の NETs 分解能が顕著に増加した。それら 2 例の抗 NETs 抗体は、血漿中の MPO-ANCA を MPO で吸収しても間接蛍光抗体法における NETs への反応性は失われず、また、NETs を誘導していない好中球の細胞質にも反応したことから、MPO-ANCA 以外の ANCA と考えられた。その対応抗原を ANCA パネルキットで検索したが、同キットで検出可能な ANCA 抗原のいずれでもなかった。本研究により、ANCA 関連血管炎患者の一部で抗 NETs 抗体が産生されていることが明らかとなった。しかも、症例により異なる性質の抗 NETs 抗体が産生されており、一部の抗 NETs 抗体は DNase I の働きを阻害し、NETs の分解障害を惹起している可能性が示された。

【結論】本研究により、ANCA 関連血管炎患者の一部で抗 NETs 抗体が産生されていることが明らかとなった。しかも、症例により異なる性質の抗 NETs 抗体が産生されていた。抗 NETs 抗体のうち、NETs 誘導活性を持つものや DNase I の阻害活性を持つものは、ANCA と協調して NETs-ANCA 悪循環を促進させ、ANCA 関連血管炎の病態形成に関与する可能性があり、今後、そのような機能的抗 NETs 抗体の対応抗原同定を目指した研究を継続する意義は大きいと考えられる。