

Title	Carbamylated albumin is one of the target antigens of anti-carbamylated protein antibodies( Abstract_要旨 )
Author(s)	Nakabo, Shuichiro
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2017-07-24
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k20611">https://doi.org/10.14989/doctor.k20611</a>
Right	Final publication is available at <a href="https://doi.org/10.1093/rheumatology/kex088">https://doi.org/10.1093/rheumatology/kex088</a> . Shuichiro Nakabo, Motomu Hashimoto, Shinji Ito, Moritoshi Furu, Hiromu Ito, Takao Fujii, Hajime Yoshifuji, Yoshitaka Imura, Ran Nakashima, Kosaku Murakami, Nobuo Kuramoto, Masao Tanaka, Junko Satoh, Akihito Ishigami, Satoshi Morita, Tsuneyo Mimori, Koichiro Ohmura; Carbamylated albumin is one of the target antigens of anti-carbamylated protein antibodies, Rheumatology, Volume 56, Issue 7, 1 July 2017, Pages 1217-1226, <a href="https://doi.org/10.1093/rheumatology/kex088">https://doi.org/10.1093/rheumatology/kex088</a>
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士 (医学)	氏名	中坊 周一郎
論文題目	<b>Carbamylated albumin is one of the target antigens of anti-carbamylated protein antibodies</b> (カルバミル化アルブミンは、抗カルバミル化タンパク抗体の対応抗原の1つである)		
(論文内容の要旨) 関節リウマチ (RA) は全身の関節に炎症が起きる自己免疫疾患である。抗シトルリン化タンパク抗体 (ACPA)、なかでも抗環状シトルリン化ペプチド抗体 (抗 CCP 抗体) が診断に広く使われるが、感度 50~70%程度と完全ではない。これを補う新たなバイオマーカーとして、カルバミル化したウシ胎児血清 (CarFCS) に対する自己抗体 (抗 CarP 抗体) が RA 患者の 44.9%に認められることが報告されたが、その正確な対応抗原は不明であった。その後抗 CarP 抗体と ACPA の間で多少の交差反応も報告され、独立した新規の自己抗体であるのかについて疑念も呈されていた。そこで、抗 CarP 抗体が ACPA とは独立した自己抗体であることを明確にし、その RA における病因・病理学的意義を追求するために、対応抗原、特に ACPA の対応抗原ではない抗原タンパクを見つけることを目的とした。 まず CarFCS を抗原として 7名の RA 患者血清を用いてウェスタンブロットを行ったところ、共通して見られるバンドがアルブミンの分子量に相当しており、カルバミル化ウシ血清アルブミンを抗原としたウェスタンブロットでも RA 患者血清が反応することを確認した。続いてヒトアルブミン (ALB) を <i>in vitro</i> でカルバミル化およびシトルリン化し、抗カルバミル化 ALB 抗体 (抗 CarALB 抗体) と抗シトルリン化 ALB 抗体 (抗 citALB 抗体) の ELISA を確立した。陽性カットオフ値を 144 名の健常人コントロール血清から特異度 95%以上になるように設定し、493 名の RA 患者血清で検討したところ 155 名 (31.4%) で抗 CarALB 抗体が陽性であった。力価の相関を見ると、抗 CarP 抗体と抗 CarALB 抗体は良い相関を示したが (スピアマンの順位相関係数、 $\rho=0.59$ )、抗 CCP 抗体と抗 citALB 抗体は相関がなかった ( $\rho=0.16$ )。さらに阻害実験を行ったところ、抗 CarP 抗体と CarFCS との結合は CarALB では阻害されるが citALB では阻害されず、さらに抗 CarALB 抗体と抗 citALB 抗体はお互い交差性が無かった。これらの結果から CarALB は抗 CarP 抗体の対応抗原の 1つであると考えられ、抗 CarALB 抗体は ACPA と独立した自己抗体であると考えられた。 次に抗 CarALB 抗体陽性 RA 患者 4 名、陰性 RA 患者 3 名、健常人 3 名、慢性腎臓病 (CKD) 患者 1 名の血清中 ALB について質量分析を行い、 <i>in vivo</i> でカルバミル化が起きていることを示した。さらに、カルバミル化はミエロペルオキシダーゼ (MPO) の触媒で起こることから、血清 MPO 値と抗 CarALB 抗体の関係を抗体陽性 RA 患者 35 名、陰性 RA 患者 35 名、健常人 11 名の血清を用いて MPO ELISA キットを用いて検討した。血清 MPO 値は抗 CarALB 抗体陽性 RA 患者、陰性 RA 患者、健常人の順に統計学的有意差をもって高かった。 最後に RA 患者 493 名の臨床情報を用いて抗 CarALB 抗体の臨床的意義について検討すると、多変量解析で疾患活動性、心血管系イベント既往の有無などが抗体の存在と有意に相関することが判明した。			

(論文審査の結果の要旨)

抗カルバミル化蛋白抗体 (抗 CarP 抗体) は関節リウマチ (RA) の新たな診断バイオマーカーとして期待されているが、その対応抗原の 1 つがカルバミル化アルブミン (CarALB) であることが示された。

また、抗 CarP 抗体は RA の診断バイオマーカーとして確立された抗シトルリン化蛋白抗体との交差反応が指摘されているが、抗 CarALB 抗体の検出系はシトルリン化アルブミンによる阻害を受けず、交差反応ではないことも示された。

蛋白のカルバミル化はミエロペルオキシダーゼ (MPO) の触媒で起こることから血清 MPO 値と抗 CarALB 抗体の関係が調べられ、血清 MPO 値は抗 CarALB 抗体陽性 RA 患者、陰性 RA 患者、健常人の順に統計学的有意差をもって高かったことから、抗体産生には好中球が関与する可能性が示唆された。一方、質量分析で血清中にカルバミル化アルブミンが存在することが示されたが、その量は RA 患者と健常人で変わらず、単に抗原が存在するだけでは抗体の産生は起こらないと考えられ、今後さらなる解析が必要である。

また、RA 患者 493 名の臨床情報を用いて抗 CarALB 抗体の臨床的意義について検討し、心血管系イベント既往の有無と相関することが示された。

以上の研究は抗カルバミル化蛋白抗体の産生機序の解明に貢献し、関節リウマチの病因の理解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、平成 29 年 5 月 17 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。