

Title	好酸球性多発血管炎性肉芽腫症における好酸球細胞外トラップおよび抗好酸球抗体の証明
Sub Title	Eosinophil extracellular traps in eosinophilic polyangiitis granulomatosis and evidence for anti-eosinophil antibodies
Author	鈴木, 勝也(Suzuki, Katsuya)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2020
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2019.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>申請書の通り、2019年度は以下の事業を計画していた。</p> <p>(1) 好酸球性多発血管炎性肉芽腫症 (EGPA) 患者血清が健常者由来好酸球を活性化し、DNAトラップを誘導することを明らかにする。</p> <p>(2) EGPA患者の生検組織を用いて好酸球顆粒蛋白およびシトルリン化ヒストンの共染色を行い、血管炎局所で好酸球細胞外トラップ (EETs) が起きていることを明らかにする。</p> <p>(3) 抗好酸球抗体を検出するためのキットを作成し、EGPA患者血清中のIgGが好酸球を標的とすることを確認する。</p> <p>(4) 抗好酸球抗体を測定するELISAキットを作成し、EGPA患者血清の抗好酸球抗体を定量する。</p> <p>それぞれの進捗は以下の通りである。</p> <p>(1) 細胞膜非透過性ds-DNA染色およびROSを観察・定量する手法によって好中球細胞外DNAトラップを捉える実験系を確立しており、EETsについても同様の手法で観察・定量することが出来た。予備検討として、未治療のEGPA患者由来好酸球を分離後に観察した結果、EETsを起こしていることを明らかとした。また、数例のEGPA患者血清による刺激による健常者由来好酸球の変化を観察した結果、同様にEETsが誘導されることを確認した。</p> <p>(2) EGPA患者の腎臓組織を提供いただき、保管している。必要な抗体を準備出来たため、2020年度に組織染色を行い、血管炎局所でEETsが起きていることを明らかにする。</p> <p>(3) (4) 抗好酸球抗体を検出するためのキットの作成は進捗が遅れている。代替の方法として、実験用のビーズに抗原を発現させ、血清中の自己抗体を検出するシステムを確立した。このシステムによって、好酸球を標的とするIgGおよびIgAを認識することができるようになった。2020年度は、(2) (3) (4) の進捗を進めるとともに、EGPA患者血清から抗好酸球抗体を回収し、抗好酸球抗体の構造および反応部位を同定する予定である。</p> <p>As stated in the application form, the following projects were planned in 2019.</p> <p>(1) To elucidate that serum from eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA) patients activates eosinophils from healthy individuals and induces DNA traps.</p> <p>(2) Using co-staining of eosinophil granule protein and citrullinated histone using biopsy tissue of EGPA patients, we will clarify that eosinophil extracellular traps (EETs) occur locally in vasculitis.</p> <p>(3) Prepare a kit for detecting anti-eosinophil antibodies and confirm that IgG in the serum of EGPA patients targets eosinophils.</p> <p>(4) Prepare an ELISA kit for measuring anti-eosinophil antibodies and quantify anti-eosinophil antibodies in EGPA patient serum.</p> <p>The progress of each is as follows.</p> <p>(1) We have established an experimental system for capturing EETs by observing and quantifying plasma membrane non-permeable ds-DNA staining and ROS, applying the technologies used in detecting neutrophil extracellular traps. As a preliminary study, observation of eosinophils from untreated EGPA patients after isolation revealed that EETs had occurred. In addition, as a result of observing changes in eosinophils derived from healthy subjects due to stimulation with the serum of several EGPA patients, it was confirmed that EETs were similarly induced.</p> <p>(2) The kidney tissue of EGPA patients is provided and stored. Since the necessary antibodies have been prepared, tissue staining will be performed in 2020 to clarify that EETs are occurring locally in vasculitis.</p> <p>(3) (4) Progress in making kits for detecting anti-eosinophil antibodies has been delayed. As an alternative, a system was developed to express antigens on experimental beads and detect autoantibodies in serum. This system allowed the recognition of IgG and IgA targeting eosinophils. In 2020, we plan to proceed (2), (3), (4), and will collect anti-eosinophil antibodies from the serum of EGPA patients, and identify the structure and reaction sites of the anti-eosinophil antibodies.</p>
Notes	
Genre	Research Paper

URL

https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000007-20190003

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師(有期・医学部)	補助額	500 (特B)千円
	氏名	鈴木 勝也	氏名 (英語)	Katsuya Suzuki		
研究課題 (日本語)						
好酸球性多発血管炎性肉芽腫症における好酸球細胞外トラップおよび抗好酸球抗体の証明						
研究課題 (英訳)						
Eosinophil extracellular traps in eosinophilic polyangiitis granulomatosis and evidence for anti-eosinophil antibodies						
1. 研究成果実績の概要						
<p>申請書の通り、2019 年度は以下の事業を計画していた。</p> <p>(1) 好酸球性多発血管炎性肉芽腫症 (EGPA) 患者血清が健常者由来好酸球を活性化し、DNA トラップを誘導することを明らかにする。</p> <p>(2) EGPA 患者の生検組織を用いて好酸球顆粒蛋白およびシトルリ化ヒストンの共染色を行い、血管炎局所で好酸球細胞外トラップ (EETs) が起きていることを明らかにする。</p> <p>(3) 抗好酸球抗体を検出するためのキットを作成し、EGPA 患者血清中の IgG が好酸球を標的とすることを確認する。</p> <p>(4) 抗好酸球抗体を測定する ELISA キットを作成し、EGPA 患者血清の抗好酸球抗体を定量する。</p> <p>それぞれの進捗は以下の通りである。</p> <p>(1) 細胞膜非透過性 ds-DNA 染色および ROS を観察・定量する手法によって好中球細胞外 DNA トラップを捉える実験系を確立しており、EETs についても同様の手法で観察・定量することが出来た。予備検討として、未治療の EGPA 患者由来好酸球を分離後に観察した結果、EETs を起こしていることを明らかとした。また、数例の EGPA 患者血清による刺激による健常者由来好酸球の変化を観察した結果、同様に EETs が誘導されることを確認した。</p> <p>(2) EGPA 患者の腎臓組織を提供いただき、保管している。必要な抗体を準備出来たため、2020 年度に組織染色を行い、血管炎局所で EETs が起きていることを明らかにする。</p> <p>(3) (4) 抗好酸球抗体を検出するためのキットの作成は進捗が遅れている。代替の方法として、実験用のビーズに抗原を発現させ、血清中の自己抗体を検出するシステムを確立した。このシステムによって、好酸球を標的とする IgG および IgA を認識することができるようになった。</p> <p>2020 年度は、(2) (3) (4) の進捗を進めるとともに、EGPA 患者血清から抗好酸球抗体を回収し、抗好酸球抗体の構造および反応部位を同定する予定である。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>As stated in the application form, the following projects were planned in 2019.</p> <p>(1) To elucidate that serum from eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA) patients activates eosinophils from healthy individuals and induces DNA traps.</p> <p>(2) Using co-staining of eosinophil granule protein and citrullinated histone using biopsy tissue of EGPA patients, we will clarify that eosinophil extracellular traps (EETs) occur locally in vasculitis.</p> <p>(3) Prepare a kit for detecting anti-eosinophil antibodies and confirm that IgG in the serum of EGPA patients targets eosinophils.</p> <p>(4) Prepare an ELISA kit for measuring anti-eosinophil antibodies and quantify anti-eosinophil antibodies in EGPA patient serum.</p> <p>The progress of each is as follows.</p> <p>(1) We have established an experimental system for capturing EETs by observing and quantifying plasma membrane non-permeable ds-DNA staining and ROS, applying the technologies used in detecting neutrophil extracellular traps. As a preliminary study, observation of eosinophils from untreated EGPA patients after isolation revealed that EETs had occurred. In addition, as a result of observing changes in eosinophils derived from healthy subjects due to stimulation with the serum of several EGPA patients, it was confirmed that EETs were similarly induced.</p> <p>(2) The kidney tissue of EGPA patients is provided and stored. Since the necessary antibodies have been prepared, tissue staining will be performed in 2020 to clarify that EETs are occurring locally in vasculitis.</p> <p>(3) (4) Progress in making kits for detecting anti-eosinophil antibodies has been delayed. As an alternative, a system was developed to express antigens on experimental beads and detect autoantibodies in serum. This system allowed the recognition of IgG and IgA targeting eosinophils.</p> <p>In 2020, we plan to proceed (2), (3), (4), and will collect anti-eosinophil antibodies from the serum of EGPA patients, and identify the structure and reaction sites of the anti-eosinophil antibodies.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			