

|                  |   |
|------------------|---|
| Title            | A Novel Protein Highly Expressed in Testis Is Overexpressed in Systemic Sclerosis Fibroblasts and Targeted by Autoantibodies.   |
| Sub Title        | 精巣で高発現する新規蛋白は強皮症線維芽細胞で高発現し、自己抗体の標的となる   |
| Author           | 安岡, 秀剛(Yasuoka, Hidekata)   |
| Publisher        | 慶應医学会   |
| Publication year | 2004  |
| Jtitle           | 慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.14-   |
| JaLC DOI         |   |
| Abstract         |   |
| Notes            | 号外  |
| Genre            | Journal Article   |
| URL              | <a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0014">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0014</a> |

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.

# A Novel Protein Highly Expressed in Testis Is Overexpressed in Systemic Sclerosis Fibroblasts and Targeted by Autoantibodies.

(精巣で高発現する新規蛋白は強皮症線維芽細胞で高発現し、自己抗体の標的となる)

安 岡 秀 剛

## 内容の要旨

強皮症患者で検出されるほとんどの自己抗体は普遍的にすべての細胞に発現する蛋白を標的とし、病変部に限局した発現を示す蛋白を標的とするものはこれまで同定されていない。我々は、精巣に高発現する新規蛋白PHET (protein highly expressed in testis) に対する自己抗体が強皮症患者血清中に特異的に検出され、PHETが強皮症線維芽細胞で異所性に高発現していることを示した。

強皮症患者血清を用いたcDNAライブラリーのスクリーニングにより、陽性クローン9pを単離した。9pはその塩基配列からUniGeneクラスターHs.129872に属する遺伝子と考えられたが、特有のエクソンを1つ含む点が他のvariantと異なった。正常組織パネルを用いたRT-PCRでは9p mRNAが精巣にのみ高発現したことから、PHET (protein highly expressed in testis) と名付けた。抗PHET抗体は強皮症患者の8.4%に特異的に検出され、全身性エリテマトーデスおよび健康人では検出されなかった。抗PHET抗体陽性例は広汎な皮膚硬化を伴うdiffuse型および肺線維症と関連し、より強い線維化病態との関連が示唆された。

抗PHET抗体は女性例でも検出され、またPHETは癌細胞株や形質転換した細胞株で高発現されていたことから、強皮症の病変部皮膚の線維芽細胞でPHETが異所性に発現される可能性を考えた。この仮説を証明するため、強皮症病変部および他疾患の健康部皮膚由来の培養皮膚線維芽細胞におけるPHETの発現をmRNAおよび蛋白レベルで検討した。デンシトメトリーおよびTaqMan™を用いた定量的PCRでは強皮症線維芽細胞におけるPHETの高発現が確認された。間接蛍光抗体法ならびに免疫ブロットを用いた蛋白レベルの解析でも強皮症線維芽細胞の細胞質でPHETが高発現していた。更に、組織でのPHETの発現をin situ hybridizationにより検討したところ、PHET mRNAは強皮症6例中4例で真皮深層の線維芽細胞および血管内皮細胞に検出されたが、健康皮膚5例には検出されなかった。

以上の結果より、強皮症病変部線維芽細胞に発現し、自己抗体の標的となる分子としてPHETを同定した。また、本来は精巣に限局するPHETが強皮症病変部に異所性に高発現することにより、自己抗体産生が誘導される可能性が示された。したがってPHETの異所性発現は自己抗体産生と線維化という強皮症に特徴的な2つの現象を同時に説明しうる可能性があることから、線維芽細胞におけるPHETの発現機構および機能的役割の追究により、強皮症の病態に迫ることができるかもしれない。

## 論文審査の要旨

強皮症は線維化および微小血管障害を特徴とするが、自己抗体産生という免疫学的特徴を持つ。一方強皮症の線維化では線維芽細胞が中心的役割を担っている。これまで線維芽細胞と自己抗体に関する研究は別々に検討され、これら二つを同時に説明する機序の報告はない。本研究では、強皮症患者血清を用いたcDNAライブラリーのスクリーニングにより得られたクローンの1つがUniGeneクラスターHs.129872に属し、特有のエクソンを有するalternative splice variantの1つで、正常組織では精巣のみに高発現することが示され、protein highly expressed in testis (PHET) と命名された。また、抗PHET抗体は強皮症の8.4%で特異的に検出され、広汎かつ強い線維化病態との関連が示された。更に培養皮膚線維芽細胞におけるPHET mRNAおよび蛋白の発現レベルが検討され、いずれも強皮症皮膚由来培養線維芽細胞で高発現されることが示された。以上より抗PHET抗体は強い線維化病態と関連し、PHETが皮膚線維芽細胞で異所性に高発現されることにより免疫系に曝露され抗体産生が誘導されることが推測され、線維化と自己抗体産生の両方を説明しうる抗原である可能性が示唆された。

審査では抗RNAポリメラーゼ抗体陽性血清を用いたHepG2 cDNAライブラリーのスクリーニングにつき質問され、当初RNAポリメラーゼ I/III のクローニングを目的として利用可能なライブラリーを用いて行われたことが回答された。またPHETの発現調節の検討のためにプロモーターの検討が必要となることから真のinitiation codonの位置を明確にすることを指摘された。PHETが限局型強皮症の線維芽細胞で検出されうるか質問され、PHETが癌細胞株などの増殖細胞に発現する知見から、進行例では検出されうると回答された。また抗PHET抗体が女性例においては“自己”抗体ではないのではという指摘に対し、PHETがレベルは低いものの精巣以外でも発現されている可能性、およびその他のvariantが普遍的に発現されることから自己免疫と考えてよいと回答された。また抗PHET抗体陽性率が低いこと、線維芽細胞でPHETの発現を認めるものの、抗体陰性となる理由につき質問され、強皮症特異的自己抗体の頻度も各20%前後であること、今回の検出系はpartialなfragmentを用いており、陽性率が過小評価される可能性、およびPHETの高発現によりcrypticなエピトープが出現しやすいが、HLAによってPHETが免疫系に提示されず、抗体産生が誘導されない可能性が回答された。

以上のように、本研究はなお検討を要する点が残されているものの、強皮症の病態を解明する上で重要な知見となりうる可能性があり非常に重要な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 池田 康夫

微生物学・免疫学 小安 重夫 皮膚科学 西川 武二  
病理学 岡田 保典

学力確認担当者：

審査委員長：小安 重夫

試問日：平成16年2月18日