

Title	発作性夜間血色素尿症における補体系decay-accelerating factorとacetylcholinesteraseの欠損状態の解析
Author(s)	植田, 悦子
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35994">https://hdl.handle.net/11094/35994</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	うえ 植	だ 田	えつ 悦	こ 子
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8112	号	
学位授与の日付	昭和63年3月25日			
学位授与の要件	医学研究科内科系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	発作性夜間血色素尿症における補体系decay-accelerating factor とacetylcholinesteraseの欠損状態の解析			
論文審査委員	(主査) 教授	木谷 照夫		
	(副査) 教授	垂井清一郎	教授	井上 公蔵

### 論文内容の要旨

#### 〔目 的〕

発作性夜間血色素尿症 (PNH) は後天性の somatic mutation による膜異常のためにおこる溶血性貧血であり、赤血球の補体感受性異常亢進を特徴とする clonal disease である。PNH 補体異常感受性赤血球 (PNH 赤血球) においては、decay-accelerating factor (DAF), acetylcholinesterase (AChE) を含む複数のタンパク質の欠損が知られている。近年、DAF および AChE が共に phosphatidylinositol を含む anchor 構造 (P1-anchor) を持つことが明らかとなり、PNH はこの P1-anchor の異常のために、P1-anchor をもつ複数の蛋白欠損をきたしている可能性が指摘されている。本研究は flow cytometry を用いて PNH 赤血球上に DAF および AChE 両蛋白の欠損が常に共存するか否かを検討し、さらに、これら蛋白の欠損出現メカニズムについて解析した。

#### 〔方法並びに成績〕

##### 1. monoclonal antibodies

mouse monoclonal anti-DAF antibodies (IA10, I1H6, VIIIA7 を混合, anti-DAF), mouse monoclonal anti-AChE ascites (AE1, AE2 を混合, anti-AChE) を用いて染色し、Spectrum III で測定した。

##### 2. DAF 完全欠損 PNH 赤血球での AChE の発現

anti-AChE を FITC-conjugated anti-mouse IgG で、また、anti-DAF は biotin 化し、PE-Streptoavidin で染色し、4 人の PNH 患者赤血球の DAF と AChE の two parameter analysis を行った。DAF, AChE 共に膜上抗原量が少なく、正常人赤血球においても false negative (DAF(-) and

／or AchE (-)) が比較的多くみられたが、AchE (+) 赤血球中の DAF (-) 赤血球の占める割合が、正常で11.7% PNH症例ではそれぞれの21.1%, 25.5%, 90.5%, 44.1%となり、後二者では明らかに多く、DAF (-) AchE (+) 赤血球の存在する可能性が疑われた。

この点をより明らかにするために、上記4例を含むPNH患者7例の赤血球をIA10で処理後、protein A-Sepharose 6 MB column chromatographyを用いて、DAF (+) 赤血球からDAF (-) 赤血球を分離した。anti-DAFを用いたone parameter analysisでこの赤血球集団は染色されず、DAF (-) 赤血球がほぼ単離されていることが示された。また、anti-AchEによる染色では、4例では染色patternが無染色patternとほぼ一致したのに対し、残る3例では、正常赤血球のAchEに比べては低い、明らかに蛍光が認められた。

以上二つの実験より、PNH患者の中には、DAF (-) 赤血球膜上に正常値以下のAchE分子が存在する症例があることが明らかになった。このDAF欠損赤血球の持つAchEは正常値以下であったので、AchEの発現も正常とは考えられないが、このDAF完全欠損赤血球では赤血球の成熟過程で少なくともAchEは合成されたことを示している。

### 3. 赤血球agingにおけるAchE (+) 赤血球の変動

DAF (-) AchE (+) 赤血球の存在する症例のうち1例を、赤血球のagingによって分離した。すなわち、81% Percoll isotonic solution 5 mlに50% RBC浮遊液1 mlを加え、4°C30,000 gで15分間遠心した。中間に浮かぶ最も厚い層をmiddle赤血球 (ME)、それより上層をyoung赤血球 (YE)、下層をaged赤血球 (AE) とした。各分画中網赤血球%はYE 49.5, ME 1.0, AE 1.0であり、agingにより赤血球が分離されていることが示された。anti-AchEを用いたone parameter analysisでAchE (+) 赤血球の占める割合はYEに比べAEでは明らかに低値であった。PNH赤血球は正常クローン由来赤血球より寿命は短く、AEに含まれる正常クローン由来赤血球 (AchEを持つ) はYEに比べ増加していると考えられるにも関わらず、AEでAchE (+) 赤血球の占める割合が低値を示すのは、DAF完全欠損PNH赤血球の中で、AchE (+) 赤血球がYEに比べAEで少ないためと考えられる。AchE保持により赤血球寿命の短縮がおこるとは考えにくく、DAF (-) AchE (+) 赤血球の割合がAEで低値を示すのは、DAF (-) AchE (+) 赤血球からDAF (-) AchE (-) 赤血球へと移行してゆくためと考えられた。従って、DAF完全欠損PNH赤血球膜に存在するAchEはagingに伴って減少消失し、ついには完全欠損に至ると考えられた。

#### [総括]

PNH患者DAF, AchE完全欠損赤血球においても成熟過程のどこかでAchEの合成があったこと、および赤血球の成熟老化過程でAchEの欠損が完成してゆく症例が存在すること、が示された。これは、正常値以下のDAFを持つPNH赤血球の存在の報告とあわせ、DAFおよびAchEについてはPI-anchor含有タンパク質のPNH赤血球における完全欠損は、一度も合成されなかった場合だけではなく、合成停止とその後の分裂に伴う希釈やagingに伴う消失によっても、もたらされうることを示している。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、共通構造をしている膜への anchor 部分異常が発作性夜間血色素尿症 (PNH) の病因であると考えられている二つの蛋白, decay-accelerating factor (DAF) と acetylcholinesterase (AChE) の PNH 赤血球上での欠損出現状態を解析し, 両分子の欠損は必ずしも同一赤血球上に共存せず, また, DAF 完全欠損赤血球上に存在する AChE が赤血球の aging に伴って減少していく現象を明らかにした。このことは, DAF および AChE, ひいてはこの anchor 部分を有する蛋白の PNH 赤血球における完全欠損は, このような構造の蛋白の合成不全だけでなく, 合成停止とその後の欠失によってももたらされうることを示すものである。従って, 本論文は PNH の表現形質出現メカニズムの解明に寄与するところ大であり, 学位に値するものと考えられる。