



Title	特発性血小板減少性紫斑病の自己抗原としての血小板膜 Glycoprotein IIb の検討
Author(s)	富山, 佳昭
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36909
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【15】

氏名・(本籍)	とみ 富	やま 山	よし 佳	あき 昭
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8 7 3 6	号	
学位授与の日付	平成元年 5 月 19 日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	特発性血小板減少性紫斑病の自己抗原としての血小板膜 Glycoprotein IIb の検討			
論文審査委員	(主査) 教授	垂井清一郎		
	(副査) 教授	岸本	進	教授 木谷 照夫

論文内容の要旨

(目 的)

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) は、自己血小板に対する抗体が産生される自己免疫疾患として位置づけられている。近年、本疾患の自己抗体が認識する血小板抗原 (自己抗原) についての検索がはじまり、血小板膜 Glycoprotein (GP) Ib および GP II/IIIa 複合体が ITP の自己抗原として注目されているが、その詳細はいまだ明らかではない。本研究は、多数の ITP 症例につき immunoblotting 法を用いて血小板自己抗原について分析するとともに、GP IIb に対する自己抗体の存在を初めて証明しえた症例については、GP IIb 上での自己抗原の局在部位を明らかにすることを目的とした。

(方 法)

対象は慢性 ITP 40 例。対照として再生不良性貧血 11 例, SLE 5 例, 正常人 23 例を用いた。Platelet lysate は、正常 O 型 6 例のプール血小板および血小板無力症血小板 (GT 血小板) を 1% Triton X-100 にて溶解し作成した。対応抗原は、platelet lysate を非還元下, 7.5% SDS-PAGE 後ニトロセルロース膜に転写し、20 倍希釈患者血漿を感作し結合した IgG を Avidin-Biotin Peroxidase Complex (ABC) 法により検出した。膜上に検出されたバンドのうち、正常血漿では検出されないものを ITP の対応抗原とした。GP IIb 上の自己抗原の局在部位の同定には、Concanavalin A (Con A) カラムを用い粗精製した GP IIb/IIIa 複合体を用い、非還元-還元系二次元 SDS-PAGE 後の immunoblotting 法にて解析した。

(成 績)

ITP 40 例中 11 例に、血小板抗原と結合する抗体を検出した。抗体の対応抗原は、症例間で異なっ

おり、分子量167, 160, 145, 135, 124, 102, 92, 80kDの計8種類の抗原が検出された。複数の症例に検出された抗原は、145kD (2例), 124kD (6例), 92kD (4例)の3種類であった。正常およびGT血小板のCon A染色の成績により、145kDはGPⅡbに、92kDはGPⅢaにそれぞれ相当すると考えられた。さらに145kDおよび124kDの抗原に対する抗体を有する症例(以下RY症例)について分析した。本症例の145kDに対する抗体はRY自身の血小板とも結合すること、およびGT血小板とは結合しないことより、GPⅡbに対する自己抗体と同定された。正常血小板による抗体の吸収試験では、GPⅡbに対する抗体は吸収されたが、124kDに対する抗体は吸収されなかった。このことより、GPⅡbは血小板表面に存在するが、124kDの抗原は血小板内部に存在すると考えられた。再生不良性貧血およびSLEの計16例の検討では、GPⅡbに対する抗体は検出されなかったが、124kDに対する抗体は5例に検出された。以上よりGPⅡbに対する自己抗体はITPに特異的に出現するが、124kDに対する抗体はITPに特異的とはいえないと考えられた。

次に粗精製GPⅡb/Ⅲa複合体を用い、RY症例におけるGPⅡb上の自己抗原の局在部位を同定し、さらに血小板特異抗原の一つであるBak^a同種抗原の局在部位とも比較検討した。GPⅡb/Ⅲa複合体の還元下でのimmunoblotting法にて、自己抗原はGPⅡbの α 鎖上に存在することが示された。キモトリプシン処理にてフラグメントに分解したGPⅡb/Ⅲa複合体を、二次元SDS-PAGE後のimmunoblotting法により検討すると、自己抗原はGPⅡb α 由来の非還元時80kD、還元時65kDのフラグメント上に同定された。また、キモトリプシン処理血小板を用いて検索すると、自己抗原が存在するフラグメントはGPⅡb α 上のキモトリプシン切断部位より血小板膜側の部分であることが明らかになった。なお、Bak^a同種抗原も自己抗原と同一のフラグメント上に同定された。

(総括)

1. ITP 40例中2例において血小板抗体の対応抗原として分子量145kDの抗原、すなわちGPⅡbを初めて同定した。
2. GPⅡb上の自己抗原はGPⅡbの α 鎖上のキモトリプシン切断部位より血小板膜側65kDフラグメント上にあることを明らかにした。

論文の審査結果の要旨

本研究は、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)における血小板自己抗原をimmunoblotting法により分析し、一部のITP症例においては、血小板膜Glycoprotein(GP)Ⅱbが自己抗原として重要であることを初めて明らかにした。さらにGPⅡb上の自己抗原が、GPⅡbの α 鎖上のキモトリプシン切断部位より血小板膜側の65kDフラグメントに局在する事を示した。ITPの自己抗原の局在部位を詳細に検討し同定した本研究は、ITPの成因を研究する上で貴重な知見であり、学位に値する業績と認められる。