

Title	アルツハイマー病患者末梢リンパ球のグリア線維酸性蛋白刺激下における免疫グロブリン産生能についての検討
Author(s)	中村, 和子
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37202
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

氏名・（本籍）	なかむらかずこ
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9688 号
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 26 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	アルツハイマー病患者末梢リンパ球のグリア線維酸性蛋白刺激下における免疫グロブリン産生能についての検討
論文審査委員	(主査) 教授 西村 健 (副査) 教授 白石 純三 教授 萩原 俊男

論文内容の要旨

（目 的）

アルツハイマー病患者血清中ではグリア線維酸性蛋白（glial fibrillary acidic protein：GFAP）に対する抗体価が上昇している。本研究ではこの機序を明らかにすることを目的として、患者血清中の抗GFAP抗体価と病態との関連性について検討した。また、アルツハイマー病患者末梢血から分離したリンパ球の反応性に関する *in vitro* の実験を行い、アルツハイマー病における免疫系の異常について検討した。

（方 法）

対象はアルツハイマー病患者 8 例、多発梗塞性痴呆患者 5 例、健常対照者 7 例を選んだ。①GFAP の精製：牛脊髄から得た粗ニューロフィラメント分画を尿素を含む緩衝液にて可溶化し、DE-52 カラム、ヒドロキシアパタイトカラムにて精製した。②抗GFAP抗体価の測定：精製したGFAPを固相化抗原として、被験者血清を第 1 抗血清としてELISA法により測定した。③GFAPによるリンパ球刺激：末梢血より分離したリンパ球を、GFAPあるいは、GFAPと250 IU/mlのインターロイキン 2（IL-2）を加えた血清加培養液中で培養した。GFAPは終濃度10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように加え、pokeweed mitogen（PWM）刺激をポジティブコントロールとした。④MTT法：GFAPおよびIL-2刺激後のリンパ球の増殖をMosmannの方法に従いMTT法により検討した。⑤ウェスタンブロット法：PWMを加えて培養したアルツハイマー病患者リンパ球の培養上清を用いて粗ニューロフィラメント分画に対して行った。⑥培養上清中のIgGの定量：抗ヒトIgGを固相化した後、ヒトIgGの希釈系列を入れてELISA法により標準曲線を描き、抗体価の定量が可能であることを確認し

た。その後、刺激したリンパ球培養上清を用いて吸光度を測定し、先の標準曲線からのIgGの濃度を計算により求めた。

(成 績)

①アルツハイマー病患者血清中のGFAP抗体価：アルツハイマー病患者の抗GFAP抗体価は変動しており、FASTステージによる臨床重症度と高い正の相関($r=0.821$)が認められた。ピック病、パーキンソン病、脊髄小脳変性症など他の中枢神経変性疾患でも一部の患者については高い抗GFAP抗体価が認められた。②GFAP刺激によるリンパ球の増殖：アルツハイマー病患者リンパ球は $50\mu\text{g}/\text{ml}$ までのGFAPによる刺激に対して用量依存性に増殖反応を示した。IL-2刺激に加えてGFAPを添加した場合にも、アルツハイマー病患者についてはGFAPの添加量に応じた増殖反応が認められた。③アルツハイマー病患者リンパ球培養上清中のIgG抗体：ウェスタンブロットにより、アルツハイマー病患者リンパ球培養上清中にはGFAPと反応するもの、ニューロフィラメント200Kと特異的に反応するもの、ニューロフィラメント各サブユニットおよびGFAPとに反応するものが認められた。④IL-2およびGFAP刺激によるIgG分泌：アルツハイマー病患者リンパ球は、添加GFAP濃度を0, 10, 50, $100\mu\text{g}/\text{ml}$ と上げるに従って培養上清中のIgG量が上昇していた。さらにIL-2刺激存在下でGFAP添加の効果を調べたところ明瞭なIgG分泌量の上昇が認められた。IgG量の増加直線を描き、その傾きからIL-2添加前後のIgG産生量の比を求めると、IL-2刺激の効果は明らかにアルツハイマー病患者群で高く、健常対照群と比較して有意差が認められた。

(総 括)

①アルツハイマー病患者血清中の抗GFAP自己抗体価が、臨床病期と相関することを示した。②末梢血リンパ球のGFAPおよびIL-2刺激により、アルツハイマー病では健常対照群よりも強いリンパ球増殖反応を呈することを示した。③ウェスタンブロットにより、アルツハイマー病末梢血リンパ球はGFAPのみならず他の細胞骨格蛋白に対するIgG抗体を分泌していることを明らかにした。④アルツハイマー病患者末梢血リンパ球はGFAP刺激によるIgG産生が亢進しており、さらにGFAP存在下でのIL-2刺激の効果も健常対照者と比較して有意に高いことを示した。⑤アルツハイマー病患者末梢血において抗GFAP抗体価が変動していること、GFAP刺激に特異的に反応するT細胞を介すると考えられるIgG産生が亢進していることを明らかにし、これらの結果からアルツハイマー病における免疫反応の異常が病態と関連していることを示唆した。

論文審査の結果の要旨

アルツハイマー病は、脳全体に出現する多数の神経原線維変化や老人斑と進行性の神経細胞脱落を特徴とする原因不明の疾患であるが、神経細胞の消失に伴ってグリア細胞の増殖が認められる。

本研究では、アルツハイマー病患者血清中ではアストログリア細胞中の主要な細胞骨格を形成するグリア線維酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein : GFAP) に対する抗体価が上昇しており、この

抗GFAP抗体価の上昇が、臨床病期と相関することを示した。また、末梢血リンパ球のGFAP刺激により、アルツハイマー病では健常対照群よりも強いリンパ球増殖反応を呈すること、さらに、アルツハイマー病患者末梢血リンパ球はGFAP刺激によるIgG産生が亢進しており、GFAP存在下でのIL-2刺激の効果も健常対照者と比較して有意に高いことを示した。

本研究は、GFAPがアルツハイマー病患者リンパ球に対して直接刺激を及ぼすことを示した点で意義があり、アルツハイマー病脳内のグリア細胞増殖が、免疫機序を介してアルツハイマー病の病理過程に関与している可能性を示すものであり、学位の授与に値すると考える。