

主論文の要旨

**Critical role of rabphilin-3A in the pathophysiology of
experimental lymphocytic neurohypophysitis**

〔 実験的リンパ球性下垂体後葉炎の病態における
ラブフィリン3Aの重要な役割 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態内科学講座 糖尿病・内分泌内科学分野

(指導：有馬 寛 教授)

安田 康紀

【緒言】

リンパ球性漏斗下垂体後葉炎(LINH)は、視床下部漏斗部および下垂体後葉にリンパ球を中心とした炎症細胞浸潤を認める自己免疫疾患と考えられている。しかし LINH は下垂体やその周囲の腫瘍性疾患との鑑別が困難な場合があり、確定診断には下垂体生検が必要であるが、侵襲的であるため施行ができないことも多い。また病因が不明かつ診断マーカーが存在しないという問題があった。そこで我々は LINH 患者の血清を用いた網羅的解析により LINH に特異的な自己抗原の一つとしてラブフィリン 3A を同定し、LINH の診断マーカーの候補として抗ラブフィリン 3A 抗体を報告した。抗ラブフィリン 3A 抗体の感度は 75%、病理診断例における特異度は 100%であった。これらから LINH における抗ラブフィリン 3A 抗体の診断的有用性が示唆されたが、その病態におけるラブフィリン 3A の関与は未だ明らかではない。ラブフィリン 3A の病態への関与を明らかにする目的でラブフィリン 3A 蛋白をマウスに免疫し、視床下部下垂体後葉炎の誘導について解析する。

【対象及び方法】

リコンビナントラブフィリン 3A 蛋白 200 μ g と完全フロイントアジュバント(CFA)とでエマルジョンを作成し 10 週齢雌 SJL/J マウスに day0、7 で皮下投与した(R 群)。1 ヶ月後に尿量、尿浸透圧、尿 AVP 値、下垂体後葉およびバソプレシン(AVP)産生ニューロンの存在する視床下部視索上核(SON)の組織学的変化について CFA を投与した control(C)群と比較検討した。尿量の検討においては、尿量の増加が中枢性によるかを評価するためにデスマプレシン(dDAVP)負荷試験を行った。dDAVP 負荷試験では 24 時間の蓄尿の後、0、30 分で dDAVP 0.4 μ g/kg を投与し 2 時間おきに尿量を測定した。また免疫 4 ヶ月後まで経過を観察した長期群における尿量と下垂体後葉の組織学的変化について免疫染色とトリクローム染色にて評価した。下垂体後葉炎発症における病態を解析するため、両群の血中抗ラブフィリン 3A 抗体、ラブフィリン 3A 特異的 T 細胞についてウェスタンブロット法、抗原抗体反応を利用し抗原特異的な T 細胞の存在を確認する ELISPOT アッセイでそれぞれ解析した。抗ラブフィリン 3A 抗体の病態への関与を検討するため、抗ラブフィリン 3A 抗体(34 種類)3.4mg を WT マウスに腹腔内投与し、1 ヶ月後に下垂体後葉組織を解析した。Control では normal mouse IgG を腹腔内投与し、同様に 1 ヶ月後に下垂体後葉組織を解析した。またラブフィリン 3A 特異的 T 細胞の病態への関与を検討するため、T 細胞活性化を抑制する abatacept をラブフィリン 3A 免疫 14 日後から 1 日おきに 5 回(200 μ g/回)投与し、R 群の尿量、下垂体後葉の組織学的変化および末梢血ラブフィリン 3A 特異的 T 細胞数を解析した。

【結果】

R 群で有意な尿量増加、尿浸透圧低下および尿 AVP 値の低下傾向が認められた。病理組織学的評価では R 群は C 群に比べ下垂体後葉と SON への CD3 陽性 T 細胞浸潤数の増加が認められ、下垂体後葉では CD4 陽性細胞数、CD8 陽性細胞数、B 細胞浸潤を

示す B220 陽性細胞数の有意な増加が認められた。長期群での R 群の下垂体後葉では CD3 陽性 T 細胞浸潤はほぼ認められず、トリクローム染色にて線維化病変が認められた。デスモプレシン負荷試験では一過性の尿量減少が認められたことから、R 群で認められた尿量増加は中枢性と考えられた。また長期群での検討では、R 群は C 群に比べ尿量の増加は認められなかった。R 群においてウエスタンブロット法で血中抗ラブフィリン 3A 抗体および ELISPOT アッセイでラブフィリン 3A 特異的 T 細胞が認められたが、34 種類の抗ラブフィリン 3A 抗体投与で下垂体後葉炎は誘発されず、尿量増加は認められなかった。Abatacept 投与では R 群の下垂体後葉における T 細胞浸潤数およびマウス末梢血におけるラブフィリン 3A 特異的 T 細胞数を減少させ、R 群で認められた尿量増加は認められなかった。

【考察】

ラブフィリン 3A の免疫により下垂体後葉および SON にリンパ球浸潤が誘導されたことからラブフィリン 3A は視床下部下垂体後葉炎の病態に関与する可能性が示唆された。ラブフィリン 3A 免疫マウスに抗ラブフィリン 3A 抗体が認められたが、抗ラブフィリン 3A 抗体投与により下垂体後葉炎は発症しなかったことから、下垂体後葉炎の病態への直接的な抗体の関与は否定的と考えられた。また abatacept 投与により下垂体後葉炎に浸潤した炎症細胞数とラブフィリン 3A 特異的 T 細胞数の減少が認められ、それに伴う尿量の減少が認められたことからラブフィリン 3A 特異的 T 細胞の下垂体後葉炎の病態への関与が示唆された。

【結語】

ラブフィリン 3A 蛋白の免疫により下垂体後葉炎が惹起され、ラブフィリン 3A 特異的 T 細胞の病態への関与が示唆された。