

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

狼瘡病人血清中抗中性白血球抗體的免疫活性,對應抗原的
鑑定,及臨床應用(2/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2314-B-002-129-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：國立臺灣大學醫學院分子醫學研究所

計畫主持人：余家利

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 5 月 21 日

計劃題目：狼瘡病人血清中抗中性白血球抗體的免疫活性，對應抗原的鑑定及臨床應用（2/3）

計劃編號：NSC91-2314-B002-129

主持人：余家利

單位：台大醫學院分子醫學研究所

繳交日期：92. 5. 25

(I) 中文摘要

關鍵詞：抗中性球自體抗體、細菌性感染、中性球減少症、全身性紅斑狼瘡、抗 SSB/La 抗體

由於血清中有抗中性白血球抗體(anti-PMN antibodies)的存在，引起中性球數目的減少以及功能上的缺陷，致使全身性紅斑狼瘡病人(SLE)易受細菌的感染。然而 SLE 病人血清中的 anti-PMN 的對應抗原以及病理機轉為何？在文獻上很少報告。在本研究中，我們以 PMN cellular ELISA 法發現約有 20% 的 SLE 病人血清中含有 anti-PMN 抗體。我們也發現在 PMN 細胞表面的 50kDa 分子為 anti-PMN 抗體的對應抗原之一。以免疫抗體篩選法，基因選殖及核苷酸序列分析證實 50kDa 蛋白是為 SSB/La 分子。我們將活動性 SLE 病人的血清流經 SSB/La-結合的親和性層析管柱純化出抗 SSB/La 抗體。本抗體會結合於 PMN 細胞表面而後貫穿進入細胞內，引起很多的生物活性，包括抑制吞食作用、加速細胞凋亡、以及增加 IL-8 的產生。這些生體外的結果顯示 anti-SSB/La 抗體乃屬 anti-PMN autoantibodies 的一種，會進入白血球內引起 SLE 病人的白血球減少及機能異常。

(II) 英文摘要

key words : anti-neutrophil autoantibodies, bacterial infection, neutropenia, systemic lupus erythematosus, SSB/La

Decreased number and impaired functions of polymorphonuclear neutrophils (PMN) due to the presence of anti-PMN autoantibodies in the serum render patients with systemic lupus erythematosus susceptible to bacterial infections. However, the cognate antigens and pathological mechanisms of anti-PMN autoantibodies in SLE are rarely reported in the literature. In this study, we found approximately 20% of SLE sera contained anti-PMN autoantibodies detected by human PMN-coated cellular ELISA. A membrane protein with molecular weight of 50 kDa was identified as the cognate antigen of anti-PMN in Western blot after membrane-biotinylation and streptavidin column elution. The 50kDa molecule was proved to be SSB/La after immunoscreening, molecular cloning and nucleotide sequencing of the gene from the human leukocyte cDNA library. Human anti-SSB/La autoantibodies purified from active SLE sera passing through the recombinant SSB/La conjugated Sepharose 4B affinity column could bound and penetrate into normal human PMN. Functional analysis revealed that the anti-SSB/La autoantibodies exerted a number of potent effects on human PMN, including

suppressed phagocytosis, accelerated apoptosis and enhanced IL-8 production. These *in vitro* results suggest that anti-SSB/La is one of the anti-PMN autoantibodies capable of penetrating into PMN and responsible for neutropenia and functional impairment of PMN in patients with SLE.

(III) 前言及研究目的

SLE 的主要免疫異常之一是會產生各式各樣的自體抗體。其中抗中性白血球抗體(anti-PMN)的存在被認為是引起病人白血球減少以及機能異常的原因之一。但是 anti-PMN autoantibodies 抗體所對抗的抗原是什麼？本抗體會引起白血球的何種機能異常？在文獻上幾乎沒有報告。在本研究中，我們首先以 PMN cellular ELISA 法先來篩選 active SLE serum 中(患者的白血球數目均少於 3500/ul)是否含有會與健常 PMN 結合抗體的存在。而後再以抗體陽性的血清由 human leukocyte cDNA library 來選殖會產生對應抗原的基因。再以核甘酸序列分析來比對基因的本質。我們研究的目的是在於鑑定出在白血球細胞膜上的 anti-PMN 抗體的對應抗原的存在，並證明此種抗體對白血球功能會有影響。經由這一系列的探討從而找出治療白血球異常的方法。

(IV) 結果與討論

我們的結果已經發表於 *Clinical and Experimental Immunology* 131:506-16,2003。其中重要的發現如下：

- (1) 16/71 (22.5%) 的 SLE 病人的血清中含有 anti-PMN autoantibodies
- (2) PMN 細胞表面上有二種分子；20kDa 及 50kDa 的蛋白質會成為 anti-PMN 抗體的對應抗原。前者約佔 30%，後者約佔 50%，而兩者皆有約佔 20%。
- (3) 以 human leukocyte cDNA library 進行免疫篩選，基因選殖及核甘酸序列分析，發現 0.8kb 的 clone 有 97% 與 SSB/La 相同，而 0.9kb clone 有 99% 與 human histone 3。另有一個 0.9kb clone 則為 hypothetical gene。
- (4) 以 SSB/La-affinity column 純化而來的 anti-SSB/La autoantibodies 對 PMN 具有如下的作用：
 - (a) 抑制 PMN 的吞食機能。
 - (b) 促進 PMN 的細胞凋亡。

- (c) 增加 IL-8 的產生。
- (d) Anti-PMN 抗體會與 PMN 細胞膜結合之後進入細胞內引起細胞的機能障害。

(V) 結論：

我們是第一位發現 anti-SSB/La 抗體是抗白血球抗體的一種，會與表現在中性球表面的 SSB/La 分子結合，而且會進入細胞內，引起 SLE 病人白血球減少及機能障害。本抗體的存在會使病人易受病原菌感染。本研究的結果在學術理論的建立及臨床應用方面，應有相當的價值。本論文成為該期刊當期的 editorial 專文，應該值得重視。