

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

| | |
|-----------|---|
| 氏 名 | 濱 菜摘 |
| 学 位 | 博士 (医学) |
| 学 位 記 番 号 | 新大博 (医) 第 1815 号 |
| 学位授与の日付 | 令和2年3月23日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当 |
| 博 士 論 文 名 | Galectin-7 as a potential biomarker of Stevens-Johnson syndrome/ toxic epidermal necrolysis: Identification by targeted proteomics using causative drug-exposed peripheral blood cells (スティーブンス・ジョンソン症候群/中毒性表皮壊死症のバイオマーカーとしての galectin-7: 原因薬剤添加末梢血単核球培養上清を用いたプロテオーム解析による同定) |
| 論文審査委員 | 主査 教授 福地 健郎 副査 教授 平島 正則 副査 講師 藤本 篤 |

博士論文の要旨

【背景】

重症薬疹であるスティーブンス・ジョンソン症候群 (Stevens-Johnson syndrome: SJS) および中毒性表皮壊死症 (toxic epidermal necrolysis: TEN) は、非常に稀であるが致死的な疾患であり、時に眼後遺症などを残す。SJS/TEN の発症初期では通常型薬疹 (重篤な経過をたどらず治癒する薬疹) と非常に類似した皮膚症状を呈するため、現状では早期診断を臨床症状から行うことは極めて困難である。これまでも疾患特異的なバイオマーカーが検討されてきたが、一例として SJS/TEN の表皮角化細胞の細胞死に関連する granulysin は SJS/TEN の発症早期に上昇するマーカーであるが、他の重症薬疹である薬剤性過敏症症候群などでも高値となることが判明した。そのため早期診断に必要とされる特異度・感度ともに高いバイオマーカーが求められている。

近年、プロテオーム解析により様々な疾患において特異的なバイオマーカーが同定されているが、SJS/TEN では殆ど研究されていない。SJS/TEN では全身性の炎症が引き起こされ、様々な分子が血清内にみられるが、血清内にはアルブミンなどの様々な夾雑物が混在しているためプロテオーム解析は困難である。そのため原因薬剤の刺激により薬剤特異的なリンパ球から分泌されるタンパク質に着目した。

【目的】

原因薬剤を添加した末梢血単核球の培養上清をプロテオーム解析することにより SJS/TEN の診断に有用なバイオマーカーを同定する。

【方法】

SJS/TEN 患者と、通常型薬疹患者の末梢血単核球に原因薬剤を添加して培養した上清を質量分析し、SJS/TEN のみに含まれるタンパク質を同定した。その後、定量プロテオミクス:Selected/Multiple Reaction

Monitoring (SRM/MRM) を行って SJS/TEN 患者の血液中のタンパク質の量を定量し、候補を絞り込んだ。その後、実際の患者血清で ELISA 法を用いて測定し SJS/TEN に特異度の高いタンパク質を同定した。

【結果】

SJS/TEN および通常型薬疹患者の末梢血単核球にそれぞれ原因薬剤を添加して培養した上清を質量分析（ショットガン解析）したところ、510 種類のタンパク質を同定した。その中で SJS/TEN 患者のみにみられるタンパク質は 47 種類であり、それらを SRM/MRM により定量解析したところ、通常型より明らかに上昇していたタンパク質が 7 種類に絞り込まれた。その後、SJS/TEN 7 名分と健常者 5 名分の血清を、上記 7 種類のタンパク質に対し ELISA 法で直接測定したところ、前段階で絞り込まれた 7 種のうち CALML5 と galectin-7 のみが SJS/TEN だけに上昇していた。さらにその 2 種類のタンパク質に対し、サンプル数を増やして（SJS/TEN 24 名、通常型薬疹 19 名、健常者 8 名）ELISA による測定をしたところ、galectin-7 のみが有意差をもって SJS/TEN で上昇していた。Galectin-7 は、水疱を来しうる他疾患の自己免疫性水疱症やウイルス疾患での上昇はみられず、病変部の水疱内用液では血清よりも顕著な上昇がみられた。また、ステロイド治療後には血中濃度の低下を認め、重症度との関連も考えられた。これらのことから、galectin-7 は SJS/TEN に有用なマーカーとなりうるということがわかった。

【考察と結論】

申請者らはプロテオーム解析を用いて SJS/TEN に特異的なマーカーを検索したが、galectin-7 の病態への関与は明らかではない。しかし galectin-7 は主に重層扁平上皮に発現するタンパク質であり、アポトーシスに陥った表皮角化細胞に強く発現しているという報告や galectin-7 自体がアポトーシスを引き起こすという報告もあることから、galectin-7 は表皮角化細胞の広範な壊死を本態とする SJS/TEN の病因に関わっている可能性がある。さらに、他のマーカーである granulysin と組み合わせて検討したところ、明らかな相関関係は見られなかったが、galectin-7 と granulysin のいずれかのみが上昇している SJS/TEN 症例もみられたことから、今後のさらなる検討を要す。

以上のことから、プロテオーム解析により同定した galectin-7 が SJS/TEN のバイオマーカーとして有用であり、SJS/TEN の病因に関わる可能性があると考えた。

審査結果の要旨

この研究は、重症薬疹（スティーブンス・ジョンソン症候群・SJS、中毒性表皮壊死症・TEN）を通常型薬疹と鑑別診断するためのバイオマーカーを探索することを目的としたものである。方法は、SJS/TEN 患者と、通常型薬疹患者の末梢血単核球に原因薬剤を添加して培養した上清を質量分析、SJS/TEN のみに含まれるタンパク質を同定、定量プロテオミクスによって SJS/TEN 患者血液中のタンパク質量を定量し、候補を絞り込んだ。実際の患者血清に対する ELISA 法で測定し SJS/TEN に特異度の高いタンパク質を同定した。結果として、質量分析によって 510 種類のタンパク質を同定され、最終的に SJS/TEN だけに上昇していたのは CALML5 と galectin-7 のみであった。患者血清の ELISA 測定で galectin-7 のみが有意差をもって SJS/TEN で上昇していた。Galectin-7 は水疱を来す他疾患での上昇はみられず、病変部水疱内用液では血清よりも顕著な上昇がみられた。ステロイド治療後には血中濃度は低下し、重症度との関連も考えられた。以上から galectin-7 は SJS/TEN に有用なマーカーとなりうることが明らかとなった。

本研究によって重症薬疹の有力なバイオマーカーが特定され、今後の早期治療と予後改善にとって重要な研究となる可能性が高い。以上より学位論文として十分に価値のあるものと認める。