

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 島 賢治郎
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 635 号
学位授与の日付 平成 27 年 3 月 23 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 Novel assay to detect increased level of neutralizing anti-interferon gamma autoantibodies in non-tuberculous mycobacterial patients
(非結核性抗酸菌症患者における抗インターフェロン γ 中和自己抗体検出法)

論文審査委員 主査 教授 松本 壮吉
副査 教授 成田 一衛
副査 准教授 田澤 立之

博士論文の要旨

【背景と目的】非結核性抗酸菌感染症の臨床像としては、中高年者における緩徐進行型の肺疾患が大半を占めるが、後天性免疫不全症候群や、インターフェロン γ や IL-12 等のサイトカイン産生異常や受容体欠損などの免疫不全症患者においては、播種性の病態を呈し重症化する。治療においても、長期の多剤併用抗菌化学療法に対し抵抗性を示す例も少なくない。近年、明らかな免疫不全症を有さないにも関わらず、非結核性抗酸菌感染症が重症化する患者が存在し、その原因としてインターフェロン γ に対する中和自己抗体産生例が報告されている。インターフェロン γ は、細胞表面に存在するインターフェロン γ 受容体に結合後、Signal Transducer and Activation of Transcription 1 (STAT1) のリン酸化等の細胞内シグナルを介し、抗酸菌に対する防御機構として重要な役割を果たしている。健常者においてもインターフェロン γ に対する自己抗体の存在は確認されているが、中和能を有しているかどうかは明確でない。播種性非結核性抗酸菌症の発症には、自己抗体が中和能を有していることが重要であると推測される。申請者は、患者全血や血漿を用いた 2 つの方法で、インターフェロン γ 自己抗体の存在とその中和能を評価した。フローサイトメトリーを用いてインターフェロン γ の細胞内シグナルが保たれているかどうかを評価することで中和能を測定し、インターフェロン γ とヒト IgG に対する抗体によるサンドイッチ ELISA 法を用いてインターフェロン γ 自己抗体の相対的定量を測定した。

【方法】新潟大学医学部倫理委員会の承認を得て行った。明らかな免疫不全症を有さない、播種性非結核性抗酸菌症 4 例、肺非結核性抗酸菌症 5 例、健常者 7 例より検体を得た。

中和能を評価するため、対象より得たヘパリン化全血を種々の濃度のヒトインターフェロン γ 溶液で刺激し、溶血・固定・細胞膜透過処理後に抗リン酸化 STAT1 抗体で標識し、フローサイトメトリーで測定した。数値化するため、インターフェロン γ で刺激しなかった場合の平均蛍光強度を基準とし、任意のインターフェロン γ で刺激した場合の平均蛍光強度の上昇率を STAT1 phosphorylation index (STAT1-PI) と設定した。

インターフェロン γ 自己抗体を相対的定量するため、遺伝子組み換えヒトインターフェロン γ をコーテ

イングしたプレートに希釈した血清を加え、洗浄後にマウス抗ヒト IgG 抗体を加えるサンドイッチ ELISA 法を行った。

【結果】健常者全血では、刺激に用いたヒトインターフェロン γ 濃度が高くなるにつれて STAT1 がよりリン酸化され、STAT1-PI が上昇した。100ng/ml インターフェロン γ 溶液を標準的濃度と設定し、この濃度における STAT1-PI を比較した。肺非結核性抗酸菌症患者全血においても、健常者同様に濃度依存性の STAT1-PI 上昇を認めたが、播種性非結核性抗酸菌症患者全血では STAT1-PI の上昇が抑制され、健常者・肺非結核性抗酸菌症患者と比較して優位に低値であった (n=7: 114.2 \pm 79.2, n=5: 78.6 \pm 29.1, n=4: -0.4 \pm 13.2)。

インターフェロン γ およびマウス抗ヒト IgG 抗体を用いたサンドイッチ ELISA 法において、播種性非結核性抗酸菌症患者全例の血清中に高力価のインターフェロン γ 自己抗体を認め、健常者および肺結核性抗酸菌症患者の血清中には認められなかった。

以上のことから、播種性非結核性抗酸菌症患者がインターフェロン γ 中和自己抗体を有していると結論付けた。

【考察と結論】非結核性抗酸菌症の臨床像として多く経験される緩徐進行型の肺疾患においても、従来の多剤併用抗菌化学療法に対して抵抗性を示し、治療に難渋する症例も少なからず存在する。しかし、罹患しやすい集団の特徴は不明であり、効果的な治療法の確立も困難である。

播種性非結核性抗酸菌症は診断が困難であることに加え、難治性や頻回の再発を呈する症例も多く、多剤併用抗菌化学療法や膿瘍切除等の外科的治療を併用しても致死的となりうる。近年、インターフェロン γ 中和自己抗体を有する播種性非結核性抗酸菌症症例に対し、抗 CD20 抗体であるリツキシマブが有用であったとの報告があり、感染症から自己免疫疾患へという疾患概念の大きなパラダイムシフトとなる可能性も考慮される。インターフェロン γ 中和自己抗体検出法の確立が重要であると考えられる中で、今回申請者らが試みたフローサイトメトリーおよびサンドイッチ ELISA 法は簡便なスクリーニングおよび相対的な定量が可能であり、有用であると考えられた。

審査結果の要旨

明らかな免疫不全を有さないにも関わらず、播種性非結核性抗酸菌症を発症する患者においてインターフェロン γ 中和自己抗体産生例が報告されている。申請者らは、フローサイトメトリーおよび ELISA を用いた抗インターフェロン γ 中和自己抗体検出法の確立を試みた。

全血を種々の濃度のインターフェロン γ 溶液で刺激し、抗リン酸化 STAT1 抗体で標識後、フローサイトメトリーで測定した。ヒトインターフェロン γ とマウス抗ヒト IgG 抗体によるサンドイッチ ELISA により、血漿中の抗インターフェロン自己抗体濃度を相対的に定量した。

健常者および肺非結核性抗酸菌症患者全血では、刺激に用いたインターフェロン γ 濃度依存性に STAT1 のリン酸化が認められたが播種性非結核性抗酸菌症患者全血では抑制された。また ELISA により、播種性非結核性抗酸菌症患者全例の血漿中に高力価のインターフェロン γ 自己抗体を認め、相対的定量を行い得た。

フローサイトメトリーにて簡便なスクリーニング、ELISA にて相対的な定量が可能であることを示した。

以上により、播種性非結核性抗酸菌症例の病因を判定する有用な方法を確立した点で、学位論文としての価値を認める。