

学位論文審査結果の要旨

氏名	高島 健浩
審査委員	主査 羽藤 直人 副査 安川 正貴 副査 石野 智子 副査 溝上 志朗 副査 加納 誠

論文名 マルチカラーフローサイトメトリーを用いた免疫担当細胞サブセット解析の原発性免疫不全症の診断への応用
審査結果の要旨

【背景・目的】

原発性免疫不全症(PID)はヒトの生体防御機構に破綻をきたした病態であり、易感染性を示すほか、自己免疫疾患、悪性腫瘍、自己炎症疾患、アレルギー性疾患を合併することが知られている。その多くは単一遺伝子の異常により発生し、これまでに300以上の疾患が報告されている。PID患者の予後の改善には早期診断および早期治療が不可欠であるが、比較的頻度の低い疾患であることに加え、臨床的な多様性も存在するため、日常診療で見逃されることも少なくない。

本研究では、マルチカラーフローサイトメトリーを用いて網羅的に免疫担当細胞のサブセット解析ができるパネルを構築すること、構築したパネルを用いて健常人における年齢層別の正常値を検討すること、および様々なPIDにおける免疫担当細胞のフェノタイプを同定することを目的とした。

【対象・方法】

PID患者75例、および健常コントロール59例の末梢血を用いて免疫担当細胞のサブセット解析を行った。PID患者の内訳はX連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)7例、うちmaternal T細胞を持つものが5例、X連鎖無ガンマグロブリン血症(XLA)18例、X連鎖高IgM症候群(X-HIGM)9例、毛細血管拡張性運動失調症(AT)14例、Wiskott-Aldrich症候群(WAS)10例、STAT

3 遺伝子機能喪失型変異による高 IgE 症候群 (HIES) 9 例、*STAT1* 遺伝子機能獲得型変異による慢性皮膚粘膜カンジダ症 (CMCD) 8 例であった。健常コントロールは 4 群 (0-1 歳、2-6 歳、7-19 歳、20 歳以上) に分けて検討を行った。末梢血より分離した末梢血単核細胞 (PBMC) に対して、モノクローナル抗体を組み合わせて 10 カラー染色を行い、BD LSRFortessa を用いて解析した。

【結果と考察】

1) 健常コントロールにおける検討

T 細胞、B 細胞は年齢を問わず一定の比率であったが、NK 細胞は加齢に伴い増加を認めた。T 細胞分画では、helper T (Th) 細胞の比率が 0-1 歳群で有意に高く、加齢に伴い減少する傾向を認めた。一方 cytotoxic T (Tc) 細胞は加齢に伴い増加する傾向を認めた。CD45RA 陽性 naïve T 細胞は加齢に伴い有意な減少を認めた。recent thymic emigrant (RTE) の比率は 20 歳以上の群で有意に低く、制御性 T (Treg) 細胞の比率は同年齢群で高値であった。濾胞性 helper T (T_{FH}) 細胞は加齢により増加する傾向を認めた。B 細胞分画では、memory B 細胞の比率が 0-1 歳群で有意に低く、加齢に伴い増加する傾向を認めた。IgM memory、switched memory B 細胞は加齢により増加する傾向を認めた。樹状細胞は年齢を問わず一定の比率であった。

2) PID 患者における検討

X-SCID 患者では T 細胞の著明な減少および B 細胞の増加を認めた。maternal T 細胞を持つ X-SCID 患者では Th 細胞の減少、Tc 細胞の増加、naïve T 細胞の減少、活性化 T 細胞の増加を認めた。XLA 患者では B 細胞の欠損を認めたが、そのほかのサブセットでは異常を認めなかった。X-HIGM 患者では Tc 細胞の増加、switched memory B 細胞および IgG 陽性 memory B 細胞の減少を認めた。AT 患者では T 細胞の減少、NK 細胞の増加を認めた。WAS 患者では全てのサブセットで有意差を認めなかった。HIES 患者では Th1 細胞の増加および Th2 細胞、Th17 細胞の減少を認めた。CMCD 患者では Th17 細胞、Th 細胞および naïve T 細胞の減少、DNT 細胞および T_{FH} 細胞の増加を認めた。

本法を利用することで末梢血中の免疫担当細胞を網羅的に検出することが可能となり、そのフェノタイプと臨床情報とを併せて評価することが、PID 患者を診断するうえで有用である。

本論文の公開審査会は、平成 28 年 12 月 26 日に開催され、申請者は、研究内容を英語と日本語で明確に発表し、以下の内容を含む多くの質問に対し日本語で的確に応答した。1) マルチカラーフローサイトメトリーの特徴、2) 遺伝子診断不能な PID 患者への応用、3) 末梢血サンプルの問題点、4) 検体採取時の患者コンディションによる影響、5) 統計処理法選択の理由、6) 健常コントロール結果の解釈、7) 対象患者の年齢と影響、8) PID 患者における免疫担当細胞サブセット解析の現状での限界と問題点、9) 将来展望など。

審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。