

学位論文の要約
(研究成果のまとめ)

氏名 高島 健浩

学位論文名 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

学位論文の要約

【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、*STAT3* 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、FITC、PE、ECD、PerCP/Cy5.5 または PC5、PE-Vio770 または PC7、APC、AF700、APC-Vio770、Vio Blue、および Vio Green で標識した

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™(3 レーザー 405nm/488nm/640nm, Becton Dickinson)を用いて解析した。

【結果】

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。それに対し 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。 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、および Th1 細胞、Th2 細胞、Th17 細胞は年齢を問わず一定であった。iNKT 細胞、活性化 T 細胞、double negative T (DNT)細胞は末梢血中にほとんど認めなかった。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 細胞分画の中では、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。transitional B 細胞は全年齢で概ね低値であったが、0-1 歳群の一部で高値のものが存在した。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ほか、T 細胞分画では Th 細胞、naïve T 細胞、RTE の減少、 $\gamma\delta$ T 細胞、Treg 細胞の増加を認めた。B 細胞分画では memory B 細胞、特に IgM memory B 細胞および switched memory B 細胞の増加を認めた。WAS 患者では健常コントロールと比較して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が、そのほかのサブセットでは異常を認めなかった。CMCD 患者では HIES 患者と同様に Th17 細胞の減少を認めたほか、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。

【結論】

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。なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

主論文 : Takashima T, Okamura M, Yeh TW, Okano T, Yamashita M, Tanaka K, Hoshino A, Mitsuiki N, Takagi M, Ishii E, Imai K, Kanegane H, Morio T. Journal of Clinical Immunology. Epub 2017 June 08. DOI: 10.1007/s10875-017-0405-7