

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	市川 貴規
論文審査担当者	主査 梅村 武司 副査 瀧 伸介・矢崎 正英・向井 知之
論文題目	The implication of interferon- $\gamma$ -producing immunocompetent cells for evaluating disease activity and severity in adult-onset Still's disease (成人スチル病における IFN- $\gamma$ 産生免疫担当細胞の疾患活動性および重症度への関連解析研究)
(論文の内容の要旨)	<p>[背景] 成人スチル病 (AOSD) は、マクロファージの活性化と高サイトカイン血症を病態背景として、発熱や皮疹、多発関節炎を呈する全身性の炎症性自己免疫疾患である。既存の免疫抑制療法を継続しても、再発を繰り返す AOSD 患者が多く経験される。また重症患者では、マクロファージ活性化症候群や重要臓器障害を合併し生命予後に直結する。炎症性サイトカインである interferon (IFN)-<math>\gamma</math> は、T 細胞や natural killer (NK) 細胞などから分泌されマクロファージ活性に寄与する。疾患活動性の高い AOSD 患者で IFN-<math>\gamma</math> の有意な産生亢進が報告され、病態の中核をなすサイトカインとして知られるが、IFN-<math>\gamma</math> を介した免疫応答や IFN-<math>\gamma</math> 産生細胞の動態が AOSD の臨床的特徴や予後とどのように関連するかは未だ分かっていない。</p> <p>[目的] 本研究では AOSD の臨床的特徴と、IFN-<math>\gamma</math> の血清レベルおよび IFN-<math>\gamma</math> 産生細胞の動態との関連性を明らかにすることを目的とした。また、IFN-<math>\gamma</math> 産生細胞を誘導する関連サイトカインの関与についても評価した。</p> <p>[方法] 研究対象は、当科で診療した治療導入前の急性期 AOSD 患者 (急性期 AOSD 群) 25 名 (年齢中央値 51 歳、男性 6 名/女性 19 名)。AOSD の診断は山口らの分類基準を用いた。急性期 AOSD 群 25 名の中で、Pouchot score (systemic score) が 0 点の寛解患者 9 名 (寛解群) および患者群と同齢の健常者 (HC) 12 名を比較対象とした。初期治療に抵抗性を示した患者は難治群と定義した。提供された末梢血を用いて、以下の手法にて実験的測定・解析を行った。末梢血から末梢血単核細胞 (PBMCs) および血清を分離。PBMCs は PMA および ionomycin で刺激を行った後、表面抗原の蛍光色素標識抗体で染色。細胞膜透過処理を行い染色処置後、フローサイトメトリーで CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および NK (CD3-CD16+CD56+) 細胞の細胞内に発現する IFN-<math>\gamma</math> を測定した。また市販の測定キットを用いた enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA 法) で、血清 IFN-<math>\gamma</math>、IL-6、IL-12 および IL-18 の値を測定した。実験的測定値は急性期 AOSD 群と HC で比較するとともに、寛解群 9 名では急性期の値と比較、臨床所見との相関関係を解析した。また、難治群は非難治群と比較して、臨床所見および実験的測定値との有意差を検討した。</p> <p>[結果] 急性期 AOSD 群 25 名中、18 名 (72%) が難治群に分類された。臨床所見の項目では白血球数が難治群で有意に高値であったが、他の項目に有意差は認めなかった。CD4 陽性細胞の発現比率は急性期 AOSD 群と HC で有意差はなかったが、CD4+IFN-<math>\gamma</math>+細胞の発現比率は有意上昇していた (中央値 5.89% vs. 1.06%, <math>P=0.0002</math>)。また細胞内 IFN-<math>\gamma</math> 発現および平均蛍光強度 (MFI) は急性期 AOSD 群で HC に比して有意に高値であった (中央値 5.84% vs. 1.75%, <math>P=0.0002</math>, <math>P&lt;0.0001</math>)。CD8 陽性細胞の発現比率は急性期 AOSD 群で HC に比し有意に低値であったが (中央値 13.8% vs. 19.4%, <math>P=0.003</math>)、CD8+IFN-<math>\gamma</math>+細胞の発現比率は有意上昇していた (中央値 7.90% vs. 4.20%, <math>P=0.041</math>)。また細胞内の IFN-<math>\gamma</math> 発現および MFI は急性期 AOSD 患者群で有意に高値であった (中央値 72.8% vs. 23.6%, <math>P=0.0002</math>, <math>P=0.0002</math>)。NK 細胞では、発現比率が急性期 AOSD 群で HC に比して有意に低値であったが (中央値 8.42% vs. 14.28%, <math>P=0.0026</math>)、IFN-<math>\gamma</math> の細胞内発現および MFI は有意に高値であった (中央値 41.5% vs. 23.1%, <math>P=0.0001</math>, <math>P&lt;0.0001</math>)。寛解群 9 例では、CD4、CD8 陽性細胞および NK 細胞における</p>

IFN- $\gamma$  の発現は有意に低下し（中央値 5.84% vs. 2.84%,  $P=0.028$ 、72.8% vs. 27.0%,  $P=0.027$ 、41.5% vs. 17.5%,  $P=0.008$ ）、NK 細胞の発現比率は有意に増加した（中央値 8.42% vs. 10.75%,  $P=0.038$ ）。血清 IFN- $\gamma$ 、IL-6、IL-12 および IL-18 の値は急性期 AOSD 群で HC に比して有意に高値であった。寛解後に血清 IL-6 および IL-18 の値は有意に低下した（中央値 15.84pg/mL vs. 3.53pg/mL,  $P=0.008$ 、2271pg/mL vs. 98.5pg/mL,  $P=0.011$ ）が、HC との比較では寛解後も有意に高値を示した（中央値 3.53pg/mL vs. 1.82pg/mL,  $P=0.024$ 、98.5pg/mL vs. 71.6pg/mL,  $P=0.006$ ）。血清 IL-12 値は寛解後も有意差を認めず（中央値 1.55pg/mL vs. 1.34pg/mL,  $P=0.313$ ）、HC との比較でも有意高値であった（中央値 1.34pg/mL vs. 0.59pg/mL,  $P=0.0001$ ）。血清 IL-15 値は 3 群間で有意差がなかった。臨床項目との相関解析では、血清 IFN- $\gamma$  値、CD4 陽性細胞の細胞内 IFN- $\gamma$  発現および MFI がそれぞれ血清フェリチン値と正の相関を示した（ $P=0.026$ 、 $P=0.016$ 、 $P=0.035$ ）。血清 IFN- $\gamma$  値と NK 細胞の発現比率は逆相関を示した（ $P=0.038$ ）。難治群は非難治群に比して NK 細胞割合が有意に低値であった（中央値 5.6% vs. 14.1%,  $P=0.025$ ）。

〔結論〕 血清 IFN- $\gamma$  値および CD4 陽性細胞内産生 IFN- $\gamma$  の増加、NK 細胞発現比率の低下は、AOSD の疾患活動性を反映する結果であった。また、NK 細胞発現比率の低下は、治療抵抗性の経過を予測し得る可能性が示された。寛解後も血清 IL-6、IL-12 および IL-18 値の上昇は残存しており、INF- $\gamma$  産生やマクロファージの再活性化の病態機序に作用して、疾患の再燃に寄与する因子となり得る可能性が示唆された。