

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461507

研究課題名(和文) 抗インターフェロン 自己抗体の臨床的意義-新たな後天性免疫不全の概念として-

研究課題名(英文) Clinical importance of anti interferon-gamma autoantibodies

研究代表者

長谷川 隆志 (Hasegawa, Takashi)

新潟大学・医歯学総合病院・准教授

研究者番号：90361906

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は近年増加傾向にある非結核性抗酸菌症において、特に抗インターフェロンガンマ中和自己抗体を保持し播種性病態を呈する症例での抗体の検出法の確立と臨床背景を明らかにすることを目的として計画された。期間内に、患者血清もしくは血漿でのインターフェロンガンマに対しての中和能の定性評価法と、ELISAによる定量評価法を確立した。

現在までに26例の抗体陽性例を同定し、その臨床的な特徴を明らかにした。非結核性抗酸菌症の病勢に応じて抗体価は増減する傾向があり、病勢を反映するマーカーとしても有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the recent years, we have an increasing trend non-tuberculous mycobacterial disease around the world. Anti-interferon gamma autoantibodies were often found in formerly healthy patients with disseminated NTM infections. In this study we intend to establish the measurement method of the autoantibodies in clinical specimens from patients.

We have developed the method to evaluate the neutralizing capacity to interferon-gamma of sera and to quantify the relative concentrations of the autoantibodies. Twenty-six antibody-positive cases were observed so far and also clarified their clinical characteristics. Antibody titer in response to the disease of non-tuberculous mycobacterial disease tend to increase or decrease, it is also useful as a marker to reflect the disease has been suggested.

研究分野：呼吸器内科学、感染症学

キーワード：播種性非結核性抗酸菌症 抗インターフェロンガンマ抗体 中和能 日和見感染症

1. 研究開始当初の背景

非結核性抗酸菌 (Non-Tuberculosis Mycobacterium: NTM) 症は結核の影に隠れがちであるが、1994 年の年間発生率は人口 10 万に対して 4.06 と 30 年間に約 4 倍の増加が見られ、さらに 2005 年には人口 10 万対 5.6 人と更なる増加がみられている。かつては肺結核後遺症などの、肺に器質的疾患を持つ人がおこしやすいと言われていた。しかし近年では肺に器質的疾患を持たず、免疫力も正常な人に NTM による肺感染症が増加していると世界各地で報告されている (Am J Respir Crit Care Med 2007;175:367-416.)。

本邦での感染者は中高年 (平均年齢 68 歳) の女性に多く、肺結核後遺症、胸膜炎、肺炎腫、気管支拡張症などの基礎疾患を持つことが多いが、各国での報告同様に基礎疾患のない人に起こることも皆無ではない。本邦の NTM 症の中で 70-80% を占める Mycobacterium Avium Complex (MAC) は難治性であり、標準的治療では抗結核薬を中心とした複数の薬を用いた化学療法が行なわれるがその効果は乏しいのが現況である。数十年にわたり宿主と共存しながら肺に感染巣を作ることが典型例であるが、宿主の免疫状況が低下している HIV 感染症に合併した NTM 症では播種性に全身性の感染症をきたし予後を決定的にすることが知られている。このように肺外に広がった NTM 症は、脊椎炎や筋肉内膿瘍などの骨軟部組織などを侵し患者の生活の質を著しく損なう。

2000 年台中盤より、既往として免疫不全のない個人に肺外病変を主体とした播種性 NTM 症が認められ、そのなかに抗細胞内寄生菌作用に強く関連するサイトカインであるインターフェロン (Interferon-gamma: IFN) に対しての中和自己抗体 (抗 INF 自己抗体) が認められることが報告され始めた。患者は日本を含む東アジアに集中し遺伝学的な背景の関与も考えられており、2012 年には NEJM 誌に数十例の陽性例をまとめた新たな後天性免疫不全の概念としての報告もなされた。自然発生的な抗サイトカイン抗体と疾患の関係として確立されたものには、抗 GM-CSF 自己抗体による自己免疫性肺胞蛋白症 (aPAP) があり、本抗体陽性例においても好中球機能の低下することが知られ後天性免疫不全の一側面を持つ。このように抗サイトカイン自己抗体の存在は後天性免疫不全の新たなカテゴリーとしての位置づけがなされようとしている。また一方で、抗サイトカイン自己抗体は健常人にもひろく存在し、その病因的意義に関しては確固たる結論が出ていない (FEBS Lett 2007;581:2017-21.)。今までの報告によれば抗 IFN 自己抗体は健常者でも検出されることがあり、例え存在したとしても播種性 NTM 症の病因として 1 体 1 の関係として帰結できるものではない。その要因としては、抗体側としては中和能をはじめとしたキヤ

クターといった質的な相違や、単純に量的な相違が影響する可能性が考えられる。また宿主側の要因としても自己サイトカインに対しての免疫寛容の破綻が考えられるが、その産生機序に関しては全く明らかになっていない。

2. 研究の目的

上記のような背景の中で、抗 IFN 自己抗体の病理学的、生理学的意義を検討するためにも、本抗体の検出法が確立された状況ではなかったために、

(1) 生体資料からの抗 IFN 自己抗体検出法の確立

それを踏まえたうえで

(2) 本抗体の NTM 症をはじめとした種々の疾患、または健常者での存在頻度の検討

(3) 抗体陽性の播種性 NTM 症の臨床的特徴を明らかにする。

という 2 点を明らかにすることを目標とした。

3. 研究の方法

生体資料からの抗 IFN 抗体検出法の確立患者全血、血清を用いて IFN に対する中和能を測定する定性検出法と、比色定量法 (ELISA 法) による相対的な定量法を構築した。

肺のみの NTM 症、抗酸菌症以外の肺疾患 (細菌性肺炎、間質性肺炎、喘息など)、健常者の血清での抗 IFN 自己抗体の測定を行った。国内の各施設より検体を収集し解析した。

4. 研究成果

(1) 保存検体を用いて解析可能となる系を確立した。 ヒト不死化リンパ球に IFN を添加すると細胞内シグナル伝達として STAT1 のリン酸化が生じる。中和抗体が存在した場合には添加した IFN はすべて生物学的に中和されリン酸化は生じない。この反応をリン酸化 STAT1 をフローサイトメトリ で検出した。これを利用し、患者血清を添加した培地の中で 10ng/ml の IFN 刺激を細胞に加えたところ、STAT1 リン酸化反応は全く認められなかった。健常者の血清ではリン酸化反応が生じ、生物学的な IFN に対する中和能の存在が定性的に示された。抗体陽性の播種性例では全例で IFN に対しての生物学的中和能を有していた。また、IFN- を固相化したプレートをを用いての ELISA を開発し、それにより抗体の定量化を行った。標準抗体が存在しないことから相対的な定量となるが、健常者と比較した場合には明らかに抗体価が上昇する事が確認され、前述の定性法を合わせて抗体検出システムが確立された。

(2) 国内各施設からの検体収集を行い、肺のみの NTM 症、抗酸菌症以外の肺疾患 (細菌性肺炎、間質性肺炎、喘息など)、健常者の血清での抗 IFN 自己抗体の測定を行った。 確立した系を用いて収集した検体の抗体定

量、定性を行った。以下に結果をしめす。

図1. IFN- γ に対する中和能の評価

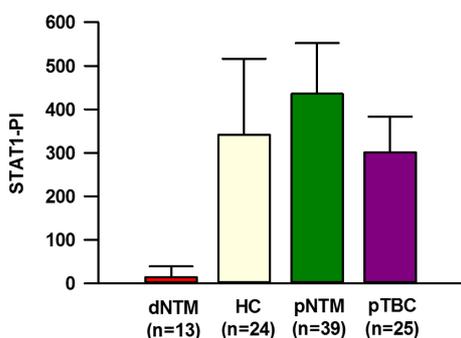


図2. IFN- γ 抗体の相対的定量結果

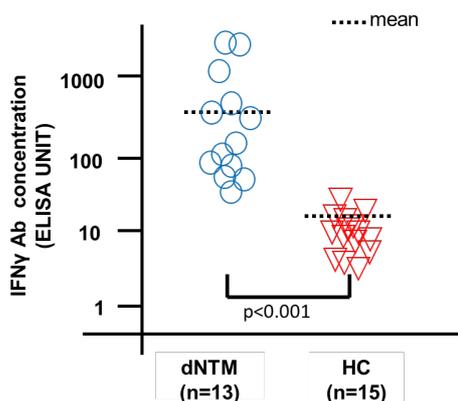


図1では抗体陽性の播種性NTM症例(dNTM)、健常者(HC)、肺限局NTM症例(pNTM)、肺結核症例(pTBC)から採取した血清のIFN- γ に対しての中和能を示す。抗体陽性例ではIFN- γ 刺激によるSTAT1のリン酸化は完全に抑制され、血清の中和能が確認できた。また図2では抗体価の定量が行われることを示している。pNTM、pTBCにても定量評価を行ったが、いずれの例でも抗体高値例は認められなかった。

(3) 抗体陽性の播種性NTM症の臨床的特徴

国内各施設から収集した検体より26例の抗体陽性例を見出した。そのうち臨床背景のデータが存在する症例は13例であった。その内訳は、男性6名、女性6名、発症年齢中央値は65.8歳(43-81歳)であった。病変を画像的に認めた部位としては骨病辺が9名であり罹患部位としては最も多かった。肺に病変を認めない症例も5例で認め、NTMの侵入門戸は呼吸器系でないことが示唆された。検出菌種はMACが10例と最大であった。全例に多剤併用の抗菌化学療法が行なわれており、外科的なドレナージは5例に行われた。死亡は1例であり、治療の自己中断例であった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計4件)

1. 抗 Interferon- γ 中和自己抗体陽性の播種性非結核性抗酸菌症 宿主要因からの新たな疾患概念. 坂上 拓郎: (査読なし) 結核 90 巻 6 号 Page561-564(2015.06)
2. Disseminated Mycobacterium gordonae and Mycobacterium mantanii infection with elevated anti-IFN- γ neutralizing autoantibodies. Hase I, Morimoto K, Sakagami T, Kazumi Y, Ishii Y, van Ingen J.J (査読あり) Infect Chemother. 2015;21(6):468-72
3. Recurrence of disseminated Mycobacterium avium complex disease in a patient with anti-gamma interferon autoantibodies by reinfection. Nishimura T, Fujita-Suzuki Y, Yonemaru M, Ohkusu K, Sakagami T, Carpenter SM, Otsuka Y, Namkoong H, Yano I, Hasegawa N. (査読あり) J Clin Microbiol. 2015;53(4):1436-8.
4. Novel assay to detect increased level of neutralizing anti-interferon gamma autoantibodies in non-tuberculous mycobacterial patients. Shima K, Sakagami T, Tanabe Y, Aoki N, Moro H, Koya T, Kagamu H, Hasegawa T, Suzuki E, Narita I. (査読あり) J Infect Chemother. 2014;20(1):52-6.

[学会発表](計7件)

1. 抗 IFN- γ 自己抗体価と播種性非結核性抗酸菌症の病勢. 青木亜美、坂上拓郎、島賢治郎、青木信将、茂呂寛、田邊嘉也、小屋俊之、各務博、菊地利明. 第64回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 2015.10.22. ロイトン札幌(北海道札幌市)
2. Anti-Interferon- γ Autoantibodies in Patients with Pulmonary Nontuberculous Mycobacterial Infections and Pulmonary Tuberculosis. Ami Aoki, Takuro Sakagami, Kenjiro Shima, Nobumasa Aoki, Hiroshi Moro, Yoshinari Tanabe, Toshiyuki Koya, Hiroshi Kagamu, Takashi Hasegawa, Ichiei Narita, Yoshihiko Hoshino, Kouzou Morimoto, Atsuyuki Kurashima. American Thoracic Society International Conference 2015、2015.5.18. Denver(米国).
3. 肺非結核性抗酸菌症、肺結核症における抗 Interferon- γ 自己抗体に関する検討. 青木 亜美、坂上 拓郎、島 賢治郎、青木 信将、茂呂 寛、田邊 嘉也、小屋 俊之、各務 博、成田 一衛、星野 仁彦、森本 耕三、倉島 繁行. 第55回日本呼吸器学会学術講演会. 2015.4.17. 東京国際フォーラム(東京都)

4. 肺非結核性抗酸菌症、肺結核症における抗 Interferon- 自己抗体に関する検討. 青木 亜美, 坂上 拓郎, 島 賢治郎, 青木 信将, 茂呂 寛, 田邊 嘉也, 小屋 俊之, 各務 博, 成田 一衛, 星野 仁彦, 森本 耕三, 倉島 繁行. 第 90 回日本結核病学会総会. 2015.3.27. 長崎ブリックホール(長崎県長崎市)
5. 抗 Interferon- 中和自己抗体陽性の播種性非結核性抗酸菌症 宿主要因からの新たな疾患概念. 坂上 拓郎. 89 回日本結核病学会総会. 2014.5.10. 長良川国際会議場(岐阜県岐阜市)
6. Characteristic Phenotypes Of Disseminated Non-Tuberculous Mycobacterium Infection With Anti Interferon- Autoantibodies In Japan. Takuro Sakagami, Kenjiro Shima, Yoshinari Tanabe, Nobumasa Aoki, Hiroshi Moro, Toshiyuki Koya, Takashi Hasegawa, Hiroshi Kagamu, Ichiei Narita. American Thoracic Society International Conference 2014、2014.5.21. San Diego(米国)
7. 抗 Interferon- 中和自己抗体陽性の播種性非結核性抗酸菌症 新たな疾患概念. 島 賢治郎, 坂上 拓郎, 青木 信将, 茂呂 寛, 田邊 嘉也, 各務 博, 長谷川 隆志, 高田 俊範, 成田 一衛. 第 111 回日本内科学会総会 2014.4.12. 東京国際フォーラム(東京都)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

長谷川 隆志 (HASEGAWA TAKASHI)

新潟大学・医歯学総合病院・准教授
研究者番号：90361906

(2)研究分担者

坂上 拓郎 (SAKAGAMI TAKURO)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：00444159

田邊 嘉也 (TANABE YOSHINARI)

新潟大学・医歯学総合病院・准教授

研究者番号：40444161