

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	堀 雅之
論文題目	A CD57+ CTL Degranulation Assay Effectively Identifies Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Type 3 Patients （CD57 陽性細胞傷害性 T リンパ球脱顆粒機能評価は家族性血球貪食性リンパ組織球症 3 型患者を効果的に同定する）		
（論文内容の要旨）			
<p>血球貪食性リンパ組織球症（hemophagocytic lymphohistiocytosis: HLH）は、発熱・汎血球減少・多臓器不全などを主症状とする致死的な炎症症候群であり、遺伝子異常による原発性 HLH と感染・自己免疫疾患などに続発する二次性 HLH とに大別される。前者の代表として家族性血球貪食性リンパ組織球症（familial HLH: FHL）が挙げられるが、その治療には造血幹細胞移植が必須であり、迅速な診断法の確立が模索されている。</p> <p>FHL は FHL2-5 の 4 型に分類され、何れも細胞傷害性 T 細胞(CTL)及び Natural Killer (NK) 細胞の細胞傷害活性の欠損・低下を特徴とする。FHL2 の原因は標的細胞に細胞死を誘導する perforin 分子の異常であり、FHL3-5 の原因は perforin を含む細胞傷害性顆粒の放出に関わる分子の異常である。本邦 FHL 症例の殆どを FHL2 と FHL3 が占め、FHL2 に対しては NK 細胞内 perforin 発現解析による迅速診断法が確立している。FHL3 に関しては NK 細胞を用いた脱顆粒機能解析によるスクリーニングが広く行われているが、NK 細胞脱顆粒機能低下は二次性症例にも認められ、その評価には注意を要する。又、CTL を用いた脱顆粒機能評価は標準化されておらず、より信頼性の高いスクリーニング系の開発が望まれる。</p> <p>本論文では、まず責任遺伝子 <i>UNC13D</i> の新規ミスセンス変異を有する遅発型 FHL3 の 2 症例に対し、NK 細胞と CTL を用いた脱顆粒機能解析を行った。これらの症例では、採血後無刺激状態の NK 細胞を用いた脱顆粒機能は低下していたものの、IL-2 添加下で 2 日間培養した NK 細胞を用いた脱顆粒機能は正常であり、相反する結果を得た。一方、CD57 陽性 CTL 分画に着目した脱顆粒機能はいずれの症例でも著明に低下しており、FHL3 の診断確定に有用であった。これら 2 症例の解析結果より、CD57 陽性 CTL 分画を用いた脱顆粒機能評価が NK 細胞を用いた従来の方法より FHL3 スクリーニング検査として優れている可能性が示唆されたため、引き続きその有用性を前方視的に評価した。</p> <p>追加評価の対象は、2013 年 2 月から 2014 年 4 月の間に FHL を疑われて京都大学医学部附属病院小児科に解析依頼のあった HLH 患者 40 名である。NK 細胞内の perforin 蛋白発現解析、FHL3-5 原因分子の血小板内発現解析、及び NK 細胞及び CTL を用いた脱顆粒機能評価による FHL スクリーニングを行い、その結果を遺伝子解析による最終診断と比較した。遅発型 FHL3 の 2 症例を加えた合計 42 例の解析より、採血後無刺激状態の NK 細胞を用いた脱顆粒機能評価は感度 100%で FHL3 患者を検出したものの、特異度が 71%と低く疑陽性症例が多かった。IL-2 添加下で培養後の NK 細胞を用いた脱顆粒機能評価では特異度が改善したものの、非 FHL3 患者 31 症例中 3 例で脱顆粒機能が閾値レベル以下に留まった。一方、CD57 陽性 CTL 分画による脱顆粒機能評価は、感度・特異度とも 100%で FHL3 患者を同定した。以上の研究結果より、CD57 陽性 CTL 分画を用いた脱顆粒機能評価が効果的に FHL3 患者を同定する事が確認され、今後、迅速診断法としての普及を期待する。</p>			

（論文審査の結果の要旨）
血球貪食性リンパ組織球症（hemophagocytic lymphohistiocytosis: HLH）は炎症性サイトカインの過剰産生を主要病態とする炎症症候群であるが、原発性症例に対しては造血幹細胞移植が必須であり、正確な迅速スクリーニング法の確立が望まれている。本研究では、本邦に於ける原発性 HLH 症例の約 4 割を占める家族性血球貪食性リンパ組織球症（familial HLH: FHL）3 型に対する新規スクリーニング法の有効性を検討した。FHL3 の原因は細胞傷害性顆粒の放出に関わる分子異常であり、従来 NK 細胞を用いた脱顆粒機能スクリーニングが行われてきたが、その有効性は限られたものであることが判明している。今回、CD57 陽性 CTL 分画に着目した脱顆粒機能解析を行い、FHL3 スクリーニング検査としての有効性を評価した。
まず、遅発型 FHL3 の 2 症例において CD57 陽性 CTL 分画を用いた脱顆粒機能解析の有効性を確認し、前方視的に収集した HLH 患者 40 名を加えた合計 42 症例を対象に従来法と比較検討を行った。その結果、CD57 陽性 CTL 分画を用いた脱顆粒機能評価は、感度・特異度とも 100%で FHL3 患者を同定し、従来法より効果的に FHL3 患者を同定することが示された。
以上の研究は FHL3 に於ける脱顆粒機能障害の病態解明に貢献し、患者の迅速診断に寄与するところが多い。
したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 3 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日 以降