

## Banyu Foundation Research Grant 2014－女性研究者支援－

## 研究成果報告書(公表用) &lt;概要&gt;

所 属	国立病院機構 東京病院
氏 名	鈴川 真穂
研究テーマ	活動性結核感染症の診断および治療効果判定に有用な新規マーカーの同定とその病態形成機序の解明

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

**目的:** わが国は未だに結核の中蔓延国である。2005年4月から結核の診断においてIGRA (IFN- $\gamma$  release assay)が用いられるようになった。IGRAの中でも結核特異的な抗原を用いてリンパ球を刺激し、IFN- $\gamma$ 産生量を測定するQFT (QuantiFERON TB)は、24時間以内に結果が判るという点において非常に優れた診断方法であるが、活動性結核と潜在性結核感染症(LTBI)を明確に区別し得ず、呼吸器臨床の現場では大きな問題となっている。本研究は、活動性結核と潜在性結核感染症を明確に区別するための新規マーカーを同定することが第一の目的である。

**研究方法:** 2010年2月から2012年12月までに東京病院においてQFTを施行された者(活動性結核31例、LTBI29例、健常人10例)のQFT残血漿を用いて、サイトカイン値(basic FGF, eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , -1RA, -2, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10, -12, -13, -15 and -17A, IP-10, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , PDGF-BB, RANTES, TNF- $\alpha$ , VEGF)をBio-Plex Pro Human Cyokine Panel, 27-Plex (BioRad) および LUMINEX 200 で測定し、解析した。また、当院で手術を施行された活動性結核患者の肺切片を、抗 IL-1RA 抗体で免疫染色し、IL-1RA 発現の有無と局在を検討した。

**結果:** まず、IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-1RA, MCP-1 は、活動性結核とLTBIの間で有意な差を認めた。

ROC 曲線を描くと、IL-10, IFN- $\gamma$ , MCP-1, IL-1RA, IL-5, -8, -12, -15, -17A, PDGF, RANTES は活動性結核とLTBIの鑑別に有用であった。中でもIL-10, IFN- $\gamma$ , MCP-1, IL-1RA はAUCが高いため、この4種類を組み合わせると活動性結核の割合を算出すると、スコアが4の症例は100%が活動性結核であることが明らかになった。

年齢、性別、IFN- $\gamma$ , IL-1RA, -5, -8, -10, -17A, MCP-1, PDGF を因子とし Wilk's lambda を用いて GDA analysis を行ったところ、最終的に IL-5 と MCP-1 が選出され、Wilk's lambda = 0.718 ( $p < 0.001$ ), IL-5 の係数は-0.655, MCP-1 の係数は 0.821 であった。多くのサイトカイン値が活動性結核の方がLTBIより高値であるのに対し、IL-2, -5, -10, -15 は活動性結核の方が低値であったため、それらのサイトカイン値の特徴を活用するため、それらとの差を用いて ROC 曲線を描いた。IFN- $\gamma$  - IL-2, IL-1RA - IL-2 において高い AUC を示した。

最後に、活動性肺結核肺組織の免疫染色を行ったところ、類上皮細胞肉芽腫に IL-1RA が高レベルで検出された。

**考察:** 本研究から、活動性結核とLTBIの鑑別にはIFN- $\gamma$ に加えてIL-1RA, IL-2, IL-5, MCP-1, IL-10が有用であることが示唆された。QFTは結核菌感染を検出するのに簡便であるため日常臨床でも頻繁に用いられるが、活動性結核とLTBIの鑑別ができない大きな欠点がある。その欠点を補完するマーカーの候補としてこれらのサイトカインが位置づけられる。中でもIL-1RAは結核患者の血清、BAL、QFT上清で高値を示すことが報告されているのに加え、本研究では結核患者の類上皮細胞肉芽腫に発現を認め、結核病態との深い関わりが推察される。また、本研究で行ったように、複数のサイトカイン値を組み合わせることで結核診断がさらに高い感度、特異度を示す可能性が示唆された。

今後は本研究で明らかにされた活動性結核とLTBIの間で有意な差を認めるサイトカインが、それぞれの病態でどのような役割を演じるか明らかにすることが課題である。具体的には、IL-1RA, MCP-1, IL-10が結核感染における生体防御反応で重要な細胞であるマクロファージやリンパ球機能をどのように修飾するか、in vitroの研究や動物実験を通じて明らかにしていきたい。

**Banyu Foundation Research Grant 2014－女性研究者支援－**  
**研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>**

所	属	国立病院機構 東京病院
氏	名	鈴木 真穂

1. 論文発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。</li> <li>・ 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。</li> <li>・ 国内外雑誌を問わない。</li> <li>・ 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
1	<u>Suzukawa M</u> , Akashi S, Nagai H, Nagase H, Nakamura H, Matsui H, Hebisawa A, Ohta K. Combined Analysis of IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-5, IL-10, IL-1RA and MCP-1 in QFT Supernatant Is Useful for Distinguishing Active Tuberculosis from Latent Infection. PLoS One. 2016 Apr 1;11(4):e0152483. 査読有。	
2	Kobayashi K, Koyama K, <u>Suzukawa M</u> , Igarashi S, Hebisawa A, Nagase T, Ohta K. Epithelial-mesenchymal transition promotes reactivity of human lung adenocarcinoma A549 cells to CpG ODN. Allergol Int. 2016 Sep;65 Suppl:S45-52. 査読有。	
3	Niki M, <u>Suzukawa M</u> , Akashi S, Nagai H, Ohta K, Inoue M, Niki M, Kaneko Y, Morimoto K, Kurashima A, Kitada S, Matsumoto S, Suzuki K, Hoshino Y. Evaluation of Humoral Immunity to Mycobacterium tuberculosis-Specific Antigens for Correlation with Clinical Status and Effective Vaccine Development. J Immunol Res. 2015;2015:527395. 査読有。	
4	<u>Suzukawa M</u> , Koketsu R, Baba S, Igarashi S, Nagase H, Yamaguchi M, Matsutani N, Kawamura M, Shoji S, Hebisawa A, Ohta K. Leptin enhances ICAM-1 expression, induces migration and cytokine synthesis, and prolongs survival of human airway epithelial cells. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2015;309(8):L801-11. 査読有。	
5	Koyama K, Ohshima N, Suzuki J, Kawashima M, Okuda K, Sato R, <u>Suzukawa M</u> , Nagai H, Matsui H, Ohta K. Evaluation of clinical characteristics and prognosis of chronic pulmonary aspergillosis depending on the underlying lung diseases: Emphysema vs prior tuberculosis. J Infect Chemother. 2015 Nov;21(11):795-801. 査読有。	
6	Tanaka Y, Yamaguchi M, <u>Suzukawa M</u> , Arai H, Nagase H, Ohta K. Modulation of human basophil activation by resveratrol. Allergol Int 2015;64 Suppl:S80-2. 査読有。	
7	Baba S, Kagoya R, Kondo K, <u>Suzukawa M</u> , Ohta K, Yamasoba T. T-cell phenotypes in chronic rhinosinusitis with nasal polyps in Japanese patients. Allergy Asthma Clin Immunol. 2015 Nov 19;11:33. 査読有。	
8	鈴木真穂、大田健. アレルギー性皮膚疾患が喘息に及ぼす影響. 臨床免疫・アレルギー科 2015;64:53-57. 査読無。	
9	鈴木真穂. 肥満がフェノタイプに及ぼす意義. アレルギー・免疫 2015;22:846-851. 査読無。	
10	鈴木真穂. 喘息の難治化因子 肥満. Respiratory Medical Research 2015;3:25-29. 査読無。	
11	鈴木真穂. ブロンコレアとはどんな疾患でしょうか? アレルギーの臨床 2015;35:398. 査読無。	
12	鈴木真穂、大島信治. 連載「学会印象記」第 46 回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会. アレルギー・免疫 2015;23:126-128. 査読無。	

<b>2. 学会発表実績</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2015.5.17	American Thoracic Society 2015 International Conference Leptin induces migration and cytokine production, and inhibits apoptosis, of human airway epithelial cells Suzukawa M., Shoji S., Hebisawa A., Ohta K.
2	2015.9.3	The 25th Congress of Interasma Japan/North Asia Analysis of asthma control and inflammatory mediators in severe asthmatics during omalizumab therapy Suzukawa M., Ohshima N., Tashimo H., Shoji S., Kobayashi N., Hebisawa A., Ohta K.
3	2015.5.28	第64回日本アレルギー学会学術大会 重症成人喘息に対するオマリズマブ使用の効果予測因子の検討 鈴木真穂、大島信治、田下浩之、庄司俊輔、小林信之、蛇澤晶、大田健
4	2015.4.17	第55回日本呼吸器学会学術講演会 レプチンによる気道上皮細胞の活性化 鈴木真穂、庄司俊輔、蛇澤晶、大田健
<b>3. 投稿、発表予定</b>		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	投稿中	Allergology International
2	投稿中	Allergology International
3	2017.6	第66回日本アレルギー学会学術大会