

氏名	平塚 いづみ
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1104号
学位授与の日付	平成28年3月10日
学位論文題名	Simultaneous measurement of serum chemokines in autoimmune thyroid diseases: possible role of IP-10 in the inflammatory response 「自己免疫性甲状腺疾患における血清ケモカインの多項目同時測定：免疫応答に関するIP-10の役割」 Endocrine Journal 62(12): 1059-1066, 2015
指導教授	鈴木 敦 詞
論文審査委員	主査 教授 吉田 俊 治 副査 教授 橋本 修 二 教授 長崎 弘

### 論文内容の要旨

【諸言】バセドウ病(Graves' disease: GD)や橋本病(Hashimoto's thyroiditis: HT)などの自己免疫性甲状腺疾患(Autoimmune thyroid diseases: AITDs)の発症・進展には、サイトカインやケモカインを介した免疫応答が重要な役割を呈するとされる。これまでAITDsにおける血清サイトカインの役割については多数の報告がある。しかしながら、血清ケモカインに関する報告は少なく、AITDsの病態との関連については未だ不明な点が多い。

血清ケモカインは、通常ELISA法や化学発光等の手法で測定されているが、いずれの方法についても50~200 $\mu$ L/項目程度の検体量を必要とするため、同一検体を用いた多項目の測定は困難であった。そのため、同一検体において網羅的に血清ケモカインを測定した報告はなく、AITDsにおける免疫応答でケモカインがどのように相互作用するかは明らかでない。

近年、微量検体での多項目同時測定が可能なマルチプレックスアッセイが開発された。そこで、本研究では、タンパク質多項目同時測定システム(MAGPIX<sup>®</sup>-Luminex<sup>®</sup> assay)により可能となった同一検体での多項目ケモカイン測定を用いて、AITDsの各種病態と血清ケモカインとの関連を明らかにすることを目的とした。

【対象】藤田保健衛生大学病院内分泌・代謝内科外来通院中のGD患者45例、HT患者26例及び健常人9例を対象とした。GD患者は、病態ごとに初発群21例、2年以上の抗甲状腺剤治療でも寛解導入できない難治性群11例、TSHレセプター抗体が陰性化し寛解した寛解群13例に分類され、HT患者は、甲状腺機能低下群12例、甲状腺機能正常群14例を対象とした。被験者からは文書による同意を得ている。本研究は、藤田保健衛生大学疫学・臨床研究倫理審査委員会の承認を得ている。

【方法】MAGPIX<sup>®</sup>-Luminex<sup>®</sup> assayシステム(MILLIPLEX<sup>®</sup> Multiplex Assays, Millipore, Tokyo, Japan)を用いて、GD・HT患者血清において23種のケモカイン(I-309(CCL1), MCP-1(CCL2),

MIP-1 $\alpha$ (CCL3), MIP-1 $\beta$ (CCL4), RANTES(CCL5), MCP-3(CCL7), MCP-2(CCL8), EOTAXIN(CCL11), MCP4(CCL13), MIP-1 $\delta$ (CCL15), TARC(CCL17), 6Ckine(CCL21), MDC(CCL22), EOTAXIN-2(CCL24), EOTAXIN-3(CCL26), CTACK(CCL27), GRO(CXCL1, 2, 3), ENA-78(CXCL5), IL-8(CXCL8), IP-10(CXCL10), SDF-1(CXCL12), BCA-1(CXCL13), and FRACTAL(CX3CL-1))濃度を測定した。

【結果】同時測定した23種のケモカインの中、22種類のケモカインを血清より検出することができた。健常人と比較してGDでは、11種の血清ケモカインで有意な差を認めた。またGD患者における病態ごと(初発群, 難治性群, 寛解群)の比較において異なるケモカイン動向を示した。一方で、健常人と比較してHTでは6種の血清ケモカインで有意な差を認めた。HT患者における病態(機能低下群, 機能正常群)により一部の血清ケモカインに差を認めた。

今回同時に測定した23種のケモカインの中で、血清IP-10濃度のみがGD・HTの各種病態ごとに異なる値を示し、健常人(87.1 $\pm$ 12.8pg/ml)と比較して、いずれの病態でも有意に高値を示した(p<0.05)。さらに、GDでは初発群(204.7 $\pm$ 59.2pg/ml)において、難治性群(159.3 $\pm$ 73.7pg/ml)・寛解群(136.8 $\pm$ 63.8pg/ml)よりも有意に高値を示した(p<0.05)。HTでは、甲状腺機能低下群(208.5 $\pm$ 124.3pg/ml)で機能正常群(162.6 $\pm$ 61.2pg/ml)よりも高値傾向を示すも、有意差は認められなかった。

【考察】血清ケモカインの多項目同時測定により、AITDsにおける免疫応答とケモカインとの関連を明らかにした。血清ケモカインのなかで血清IP-10濃度が最も甲状腺組織における炎症の程度を表す良い指標となりうることが示唆された。しかしながら、血清IP-10濃度は、初発GD群及び甲状腺機能低下HT群において高値を呈したことより、甲状腺機能とは相関せず、疾患特異的な病勢や進展、また、治療反応性を予測する指標とはなりにくいと考えられた。

【結語】AITDsについて、同一検体での血清ケモカインの多項目同時測定を初めて行い、各種病態と血清ケモカイン濃度との関連を明らかにした。特に、血清IP-10濃度は、甲状腺における炎症の程度を表す良いバイオマーカーとなる可能性が示された。

### 論文審査結果の要旨

バセドウ病(GD)や橋本病(HT)などの自己免疫性甲状腺疾患(AITDs)の発症・進展には、サイトカインやケモカインを介した免疫応答が重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、これまでケモカインに関する報告は少なく、特に多数の血清ケモカインを同時に測定した報告はみられない。

今回、申請者は、微量検体で同時に多項目の測定が可能なマルチプレックスアッセイ法を用いて23種類のケモカインを同時測定した。対象は、GD患者45例(初発群21例, 難治性群11例, 寛解群13例)、HT患者26例(甲状腺機能低下群12例, 甲状腺機能正常群14例)で、健常人9例を対照とした。すると、GDでは健常人に比し11種の血清ケモカインで有意な差を認めた。HTでは健常人に比し、6種の血清ケモカインで有意な差を認めた。両者に共通して健常人に比し、全ての項目で差を認めたのは血清IP-10のみであった。IP-10はGDでは初発群において、難治性群や寛解群よりも有意に高値であった。また、HTでは甲状腺機能低下群では甲状腺機能正常群よりも高値の傾向を示した。

以上より、血清IP-10濃度は甲状腺組織における炎症の程度を表す最もよい指標となり得ることが示唆された。AITDsにおけるケモカインの動態を検索することは、疾患の理解や今後の治療法の開発にも有用と思われ、本研究論文は学位に値するものと判断された。