The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	The proliferative activity levels of each immune cell population evaluated by mass cytometry are linked to the clinical phenotypes of systemic lupus erythematosus
Author(s)	梶原, 亜紀子
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/91789
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	梶原　亜紀子
論文題名 Title	The proliferative activity levels of each immune cell population evaluated by mass cytometry are linked to the clinical phenotypes of systemic lupus erythematosus （マスサイトメトリーを用いて評価した各免疫細胞集団の増殖活性レベルは全身性エリテマトーデスの臨床表現型と関連している）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

全身性エリテマトーデス（SLE）は不均一な病態を呈する炎症性自己免疫疾患であり，多くの末梢血中の免疫細胞集団(ICP)が臨床経過に応じて変化することが知られている．我々は新規発症SLE患者の末梢血中で活性化しているICPをマスサイトメトリーを用いて包括的に評価し，I型インターフェロン生物活性(IFN-I活性)，炎症マーカー，臨床データとの関連性を評価した．細胞活性化の指標として，増殖能を有するほとんどのICPにおいて細胞周期G0期以外で発現している増殖マーカーの一つであるKi-67を用いた．

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

方法：初発未治療SLE患者(new-onset SLE)14人，治療中のSLE患者(treated SLE)14人，健常者(HD)15人の末梢血単核細胞（PBMC）について31マーカー抗体パネルを用いてマスサイトメトリーを実施し，30種類のICPのKi-67$^+$細胞を評価した．血漿中IFN-I活性についてレポーター細胞アッセイを用いて測定し，血漿中サイトカインおよびケモカインについてはCytometric Bead Array kitで測定した．k-means clusteringを用いて、SLEの臨床データ，炎症データと関連を認めたCD45$^+$細胞中のKi-67$^+$ICPの割合情報によりSLE患者の層別化を試みた．

結果：new-onset SLE群ではclassical monocyte(cMo)，CD3$^+$CD4$^-$CD8$^-$ double negative T cell(dnCD3T)，effector memory CD8$^+$ T cell(CD8Tem)，central memory CD8$^+$ T cell(CD8Tcm)，periphery helper T cell(Tph)，CXCR5$^-$ naïve B cell(CXCR5$^-$nB)，CXCR5$^-$ switched memory B cell(CXCR5$^-$SMB)，CXCR5$^-$IgD$^-$CD27$^-$ double negative B cell(CXCR5$^-$DNB)，plasma blast(PB)，plasma cell(PC)におけるKi-67$^+$細胞のCD45$^+$細胞に対する割合(Ki-67$^+$細胞割)が有意に上昇していた．cMo，PBとPCのKi-67$^+$細胞割合はSLEの疾患活動性スコア(SLEDAI)と正相関を示し，cMo，CXCR5$^-$nB，CXCR5$^-$DNBとPBのKi-67$^+$細胞割合は抗ds-DNA抗体価と正相関を示した．cMoのKi-67$^+$細胞割合は血漿中の炎症マーカー(IL-6，IL-8，IP-10)と正相関を示し，PBとPCのKi-67$^+$細胞割合はIL-6と正相関を示した．臨床症状との関連を検討した結果，発熱のある患者はcMo，皮疹のある患者はdnCD3T，CD8TemとCXCR5-DNB，腎炎合併患者ではcMoのKi-67$^+$細胞割合が増加していた．上記の結果を踏まえて，SLE表現型と関連性を認めたICPのKi-67$^+$細胞割合を用いて初発及び治療中合わせた28人のSLE患者を5つのクラスターに層別化した．層別化に特に影響を与えた5つのICP(cMo，CD8Tem，CXCR5-nB，CXCR5-DNB，PC)のKi-67$^+$細胞割合をレーダーチャートにより可視化しその特徴を検討した．クラスター1の患者は５つ全てのICPの増殖活性(Ki-67$^+$細胞割合)が乏しく，SLEの病勢も低かった．クラスター2の患者はcMoとPCの増殖活性が非常に高く，SLEDAI，IFN-I活性，抗DNA抗体価が高く，発熱と腎炎を合併していた．クラスター3の患者は，CXCR5$^-$B細胞系のみの増殖活性が高く，IFN-I活性が高く，腎炎を合併していた．クラスター4の患者はCD8Temの増殖活性が高く，皮疹を合併していた．クラスター5の患者はcMoとPCでやや増殖活性が高く，SLEDAIもやや高いものの補体低下や抗DNA抗体の上昇は伴わない特徴を示し、発熱や関節痛を合併していた．1－3ヶ月の治療介入ではPCやCD8Temにおいて一部増殖活性が残存している患者が存在したが，治療後60ヶ月の患者では５つ全てのICPで増殖活性が抑えられていた．治療中で経過が安定している患者５名中の４名はクラスター１に属していたが、1名はクラスター5に分類され，臨床症状が改善しているにも関わらずICPの増殖活性が残存しており，免疫細胞レベルで寛解に至っていない可能性が示唆された．

〔総　括(Conclusion)〕

増殖活性に注目することでSLE病態と関連したICPの組み合わせを同定した．ICPの増殖活性パターンはSLE患者の層別化，治療効果判定，再燃のリスク評価などに役立つ可能性が示唆された．今後は対象患者数を増やし，さらなる評価が必要と考える．

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）梶原　亜紀子

		（職）	氏　名	
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	熊ノ郷 淳	署　名
	副　査	大阪大学教授	岡田 随象	署　名
	副　査	大阪大学教授	竹田 潔	署　名

論文審査の結果の要旨

全身性エリテマトーデス（SLE）は不均一な病態を呈する自己免疫疾患であり，多くの末梢血中の免疫細胞集団（ICP）が臨床経過に応じて変化する．我々は，細胞増殖マーカーであるKi-67を指標とし，SLE患者28名の末梢血中で活性化しているKi-67陽性ICPの割合（Ki-67$^+$ proportion）をマスサイトメトリーで解析した．SLE患者では多くのICPのKi-67$^+$ proportionが上昇しており，炎症性サイトカイン，I型IFN活性，臨床所見との関連を検討すると5つのICP（classical monocyte, effecter memory CD8$^+$ T細胞，CXCR5$^-$ naïve B細胞，CXCR5$^-$IgD$^-$CD27$^-$B細胞）のKi-67$^+$ proportionが重要な因子として同定され，それらの増殖活性に基づいて異なる表現型を示す5つのクラスターに分類された．5つのICPのKi-67$^+$ proportionは治療により低下傾向であったが，臨床的改善にも関わらず細胞増殖活性は残存している患者も認められた．Ki-67$^+$ proportionに基づいたクラスターを治療前後で経時的に評価することは治療薬の選択や治療効果判定に役立つと考えられた．SLE診療の臨床応用に期待できる研究結果を報告した主論文であり学位論文に値する．