

2024.9.19

免疫血清学コース

免疫分子マーカー(サイトカインなど)

東京医科歯科大学 臨床検査医学

東田 修二

講義内容

- 1) サイトカインとは何か？
- 2) 保険適応のサイトカイン関連検査：EPO、sIL-2R、HGF
- 3) インターフェロン γ 遊離試験
- 4) 保険適応外のサイトカイン検査：G-CSFなど

語句の定義

生理活性物質：種々の生体反応を制御する化学物質の総称

◆ サイトカイン：細胞から産生され細胞間コミュニケーションに関与するタンパク

標的細胞にシグナルを伝達し、細胞の増殖、分化、細胞死、機能発現などの細胞応答を引き起こす。免疫や炎症に関する分子が多い。

- インターロイキン-1(IL-1)、2、3、、、：免疫担当細胞が産生するサイトカイン

- インターフェロン- α (IFN- α)、 β 、 γ ：ウイルス感染に対する抑制因子

- 増殖因子 (growth factor)、造血因子

エリスロポエチン(EPO)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)など

- ケモカイン：好中球やマクロファージなどの遊走を誘導。50種類以上ある

◆ オータコイド：刺激に応じて細胞から分泌され、周辺の細胞に作用する物質

- プロスタグランジン、ヒスタミン、アンギオテンシンなど

語句の定義

生理活性物質：種々の生体反応を制御する化学物質の総称

- ◆ サイトカイン：細胞から産生され細胞間コミュニケーションに関与するペプチド
- ◆ オータコイド：刺激に応じて細胞から分泌され、周辺の細胞に作用する物質
- ◆ ホルモン：内分泌腺で産生され、血液を介して標的器官で作用する物質
 - 甲状腺ホルモン、副腎皮質ホルモンなど
- ◆ 神経伝達物質：神経シナプスにおいて情報を伝える物質
 - アセチルコリン、アドレナリンなど

厳密な区分はなく、一部はオーバーラップしている

医薬品としてのサイトカイン

インターフェロン- α :	スミフェロン [®] など	ウイルス性肝炎、腎癌など
インターフェロン- β :	フェロン [®] など	ウイルス性肝炎、黒色腫など
インターフェロン- γ :	イムノマックス [®] など	腎癌など
エリスロポエチン :	ネスプ [®] など	腎性貧血、骨髄異形成腫瘍
顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) :	グラン [®] など	白血球減少の回復
インターロイキン-2 :	イムネース [®]	腎癌など

サイトカインは医薬品として広く臨床応用されている

医薬品としてのサイトカイン阻害薬

- 1) IL-6受容体に対する抗体薬 → IL-6の作用をブロック
→ 関節リウマチなどの治療薬
- 2) TNF- α に対する抗体薬 → TNF- α の作用をブロック
→ 関節リウマチ、潰瘍性大腸炎などの治療薬
- 3) EGF受容体に対する抗体薬 → EGFの作用をブロック
→ 大腸癌などに対する分子標的薬
- 4) VEGFに対する抗体薬 → VEGFの作用をブロック
→ 大腸癌、肺癌などに対する分子標的薬
- 5) VEGF受容体に対する抗体薬 → VEGFの作用をブロック
→ 大腸癌、肺癌などに対する分子標的薬

EGF: Epidermal Growth Factor 上皮成長因子

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor 血管内皮細胞増殖因子

臨床検査としてのサイトカイン その1

研究目的で検査されることは多いが、
臨床検査として保険適応になっている項目はごくわずか

エリスロポエチン



腎性貧血の診断

可溶性インターロイキン-2受容体



悪性リンパ腫の病勢評価

肝細胞増殖因子(HGF)



劇症肝炎の診断

臨床検査としてのサイトカイン その2

新型コロナウイルス感染症の重症化予測診断の検査(保険適用)

血清インターフェロン- λ 3 濃度

COVID-19患者において、酸素投与を要する中等症II以上の症状が認められる数日前から上昇する

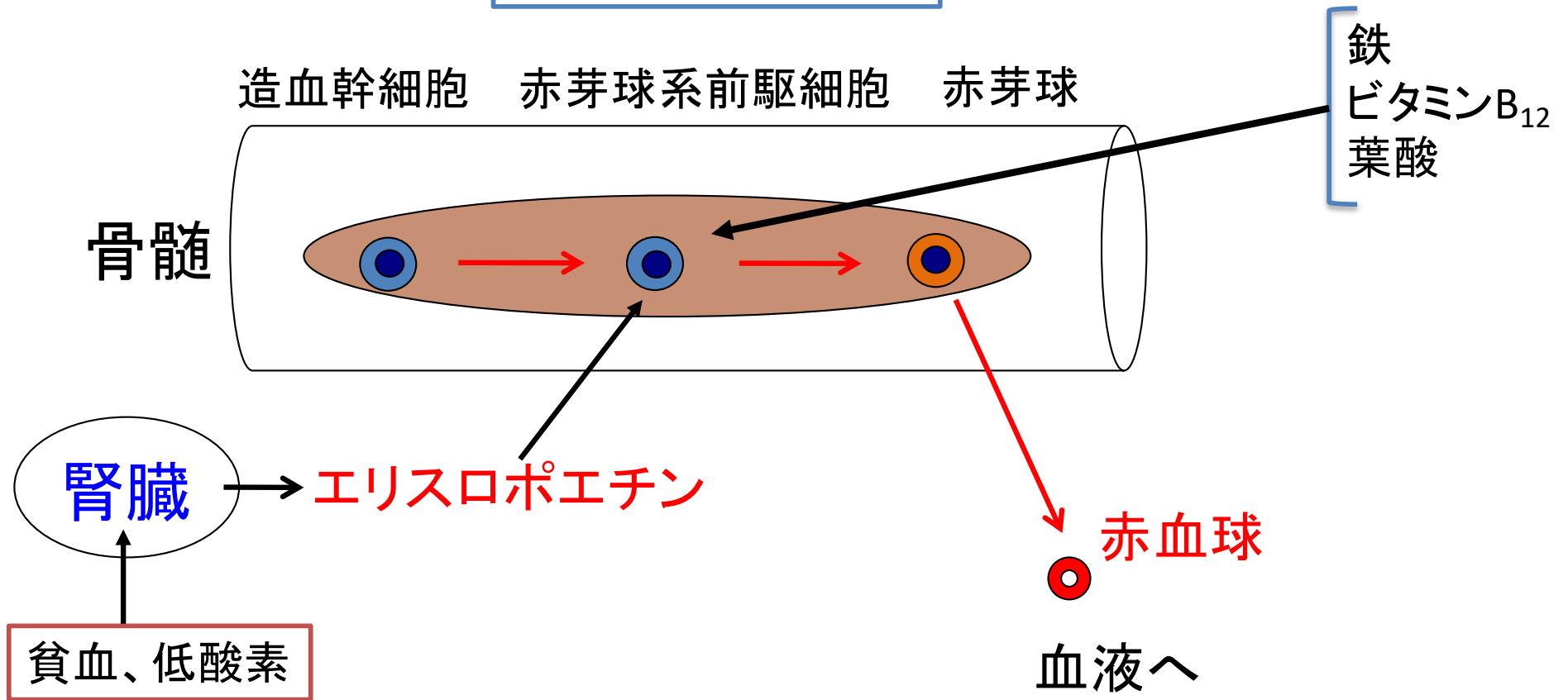
血清 TARC (Thymus and Activation-Regulated Chemokine) 濃度

リンパ球の一種であるTh2細胞を炎症部位に遊走させるケモカイン

もともと、アトピー性皮膚炎の重症度評価の補助として使われていた

中等症II以上になる患者のTARC濃度は発症初期から95 pg/mL以下の値を示す

赤血球の産生



エリスロポエチン(EPO): 腎臓で産生される糖蛋白で、骨髄の赤芽球系前駆細胞の増殖と分化を刺激する造血因子

血清EPOの基準範囲: およそ 4~24 mIU/ml

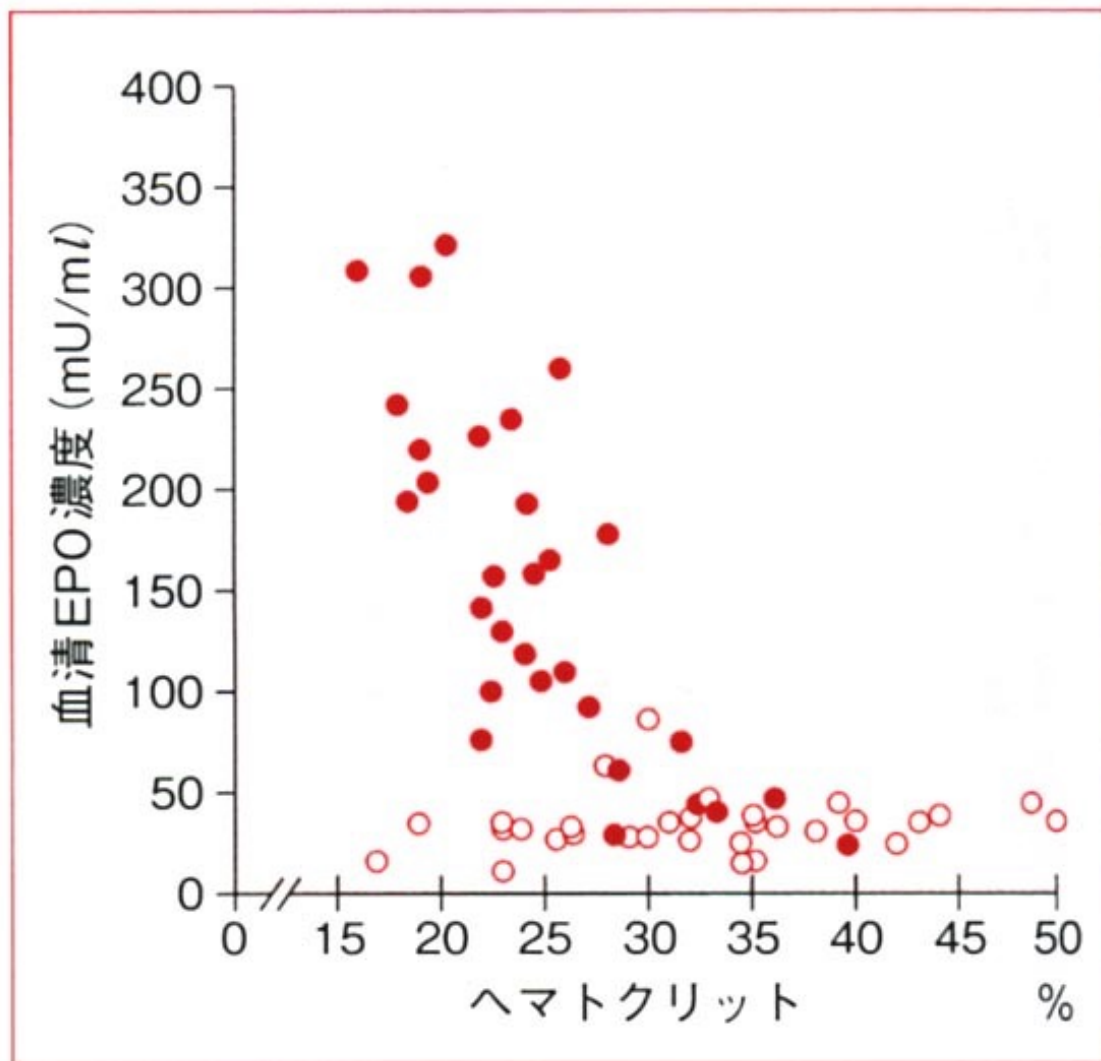


図2 小児における血清 EPO 濃度とヘマトクリット値との関係 (文献1) より引用一部改変)

● : 腎機能が正常で鎌状赤血球症あるいは鉄欠乏性貧血の患者, ○ : 末期の腎不全患者.

「臨床検査ガイド」2020年版(文光堂)
473ページより引用

EPOが関与する病態生理

腎機能の低下(血清クレアチニン値 およそ 2 mg/dl以上)



腎臓でのEPOの産生低下



腎性貧血

肺疾患などによる低酸素状態

エリスロポエチン産生腫瘍



EPOの産生過剰



多血症(赤血球増加症)

症例： 50歳 女性

息切れと易疲労感にて受診

血液検査にてヘモグロビン濃度低下 (8 g/dl) → 貧血

生化学検査にて腎機能低下 (クレアチニン 2.2 mg/dl)
出血や溶血、鉄などの欠乏はない
骨髄疾患 (再生不良性貧血や白血病など) も考えにくい

腎性貧血を考え、血清EPOを検査 → 9 mIU/ml (基準範囲内ではある)

EPOは相対的に低値 (貧血に応じた増加がみられない)

腎性貧血と診断 → 腎疾患の精査

EPO (ミルセラ[®]、ネスプ[®]など) 皮下注射 2~4週に1回

貧血は改善

症例： 60歳 男性

頭重感にて受診

赤血球数 640万/ μ l、ヘモグロビン 20 g/dl、ヘマトクリット 60%

多血症

血清EPOを検査

この症例では
→

低値～正常

高値

血清EPO

真性多血症

二次性多血症

6 mIU/ml

〔肺疾患などによる低酸素状態
EPO産生腫瘍〕

骨髄検査など

真性多血症と診断

- 骨髄増殖性腫瘍の一病型
- 過剰な赤血球産生に対するネガティブフィードバックによりEPO産生は減少

可溶性インターロイキン-2受容体 (soluble interleukin-2 receptor : sIL-2R)

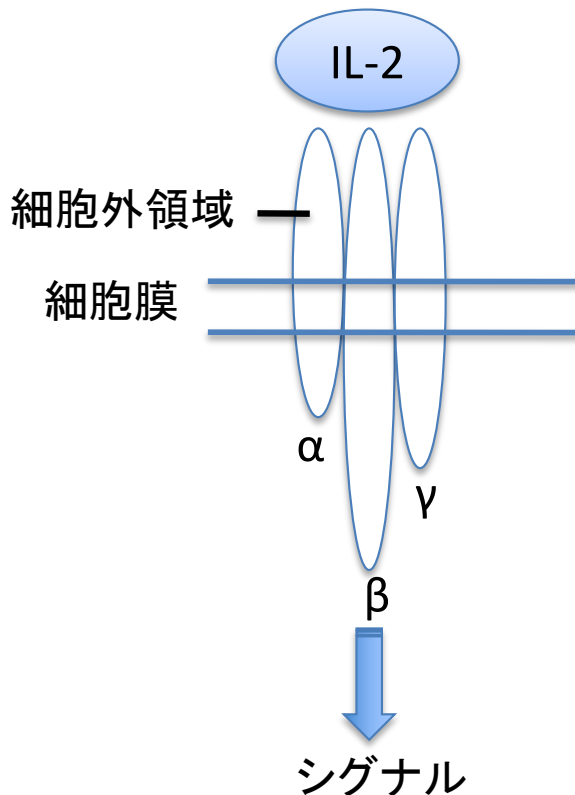
インターロイキン-2 (IL-2) : 抗原刺激で活性化したT細胞が産生

受容体をもつT細胞やB細胞の増殖、マクロファージの活性化

インターロイキン-2受容体 : リンパ球などの細胞表面に発現

α 鎖、 β 鎖、 γ 鎖の3つのサブユニットで構成

IL-2が結合すると、シグナルを核に伝える



各鎖は細胞外領域、膜貫通領域、細胞内領域に区分

一部の α 鎖の細胞外領域はプロテアーゼによって切断されて、血液中に遊離し、sIL-2Rとなる

可溶性インターロイキン-2受容体 (sIL-2R)

悪性リンパ腫や成人T細胞白血病などのリンパ系腫瘍



腫瘍細胞のIL-2受容体α鎖の発現亢進



血液中のsIL-2R増加



リンパ系腫瘍の診断、病勢評価、治療効果判定、再発の発見に有用

血清sIL-2R基準範囲: 157 ~ 475 U/ml

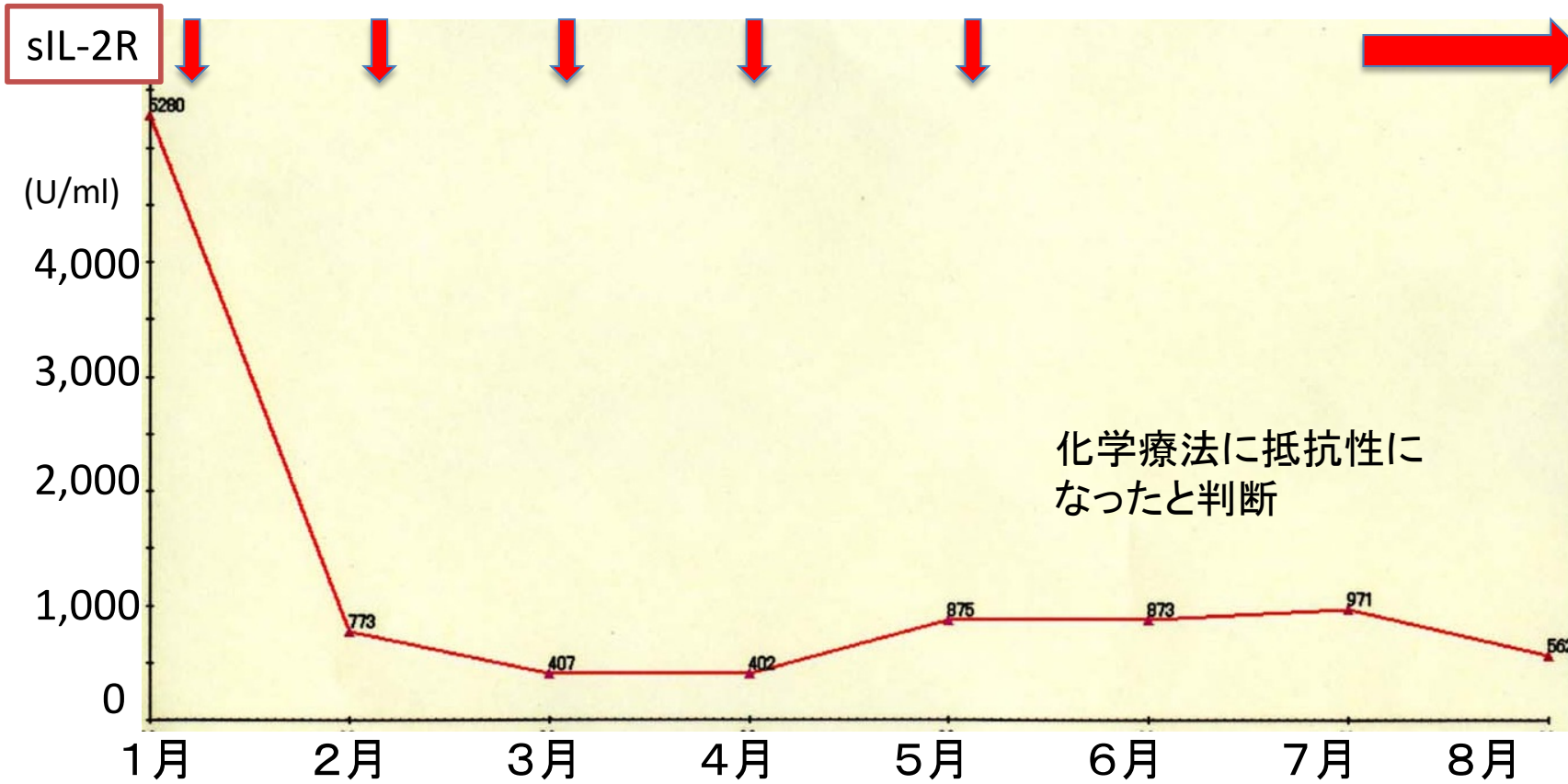
ただし、

- ・ ウイルス感染症、膠原病、血球貪食症候群などによる正常リンパ球の活性化でも上昇
- ・ sIL-2Rは腎臓から排泄されるため、腎機能低下があると上昇
- ・ リンパ系腫瘍でも上昇しない症例あり

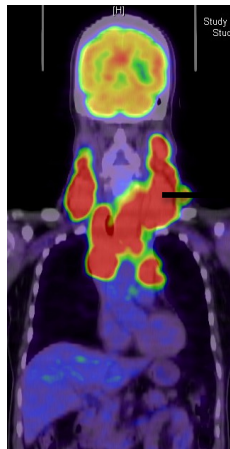
症例：70歳 男性 悪性リンパ腫

化学療法 1コース 2コース 3コース 4コース 5コース

放射線療法

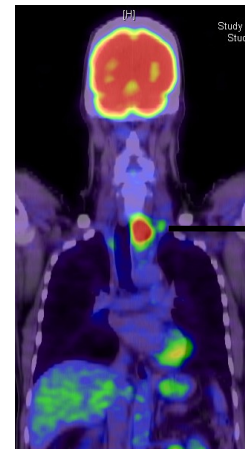


発症



PET/CT検査

頸部リンパ節の異常集積



リンパ腫病変の残存

HGF (Hepatocyte Growth Factor) 肝細胞増殖因子

分子量約6万の重鎖と約3万の軽鎖がS-S結合したヘテロダイマー構造

生理作用: 肝細胞をはじめ、種々の上皮細胞や内皮細胞の増殖促進

臨床検査

- ・ 劇症肝炎の鑑別に有用
- ・ 血清HGF基準範囲 0.39 ng/ml以下 (ELISA法)

急性肝炎、慢性肝炎、肝硬変、肝癌でも軽度上昇
劇症肝炎では著しく上昇

肝炎の劇症化の予測、劇症肝炎の経過観察

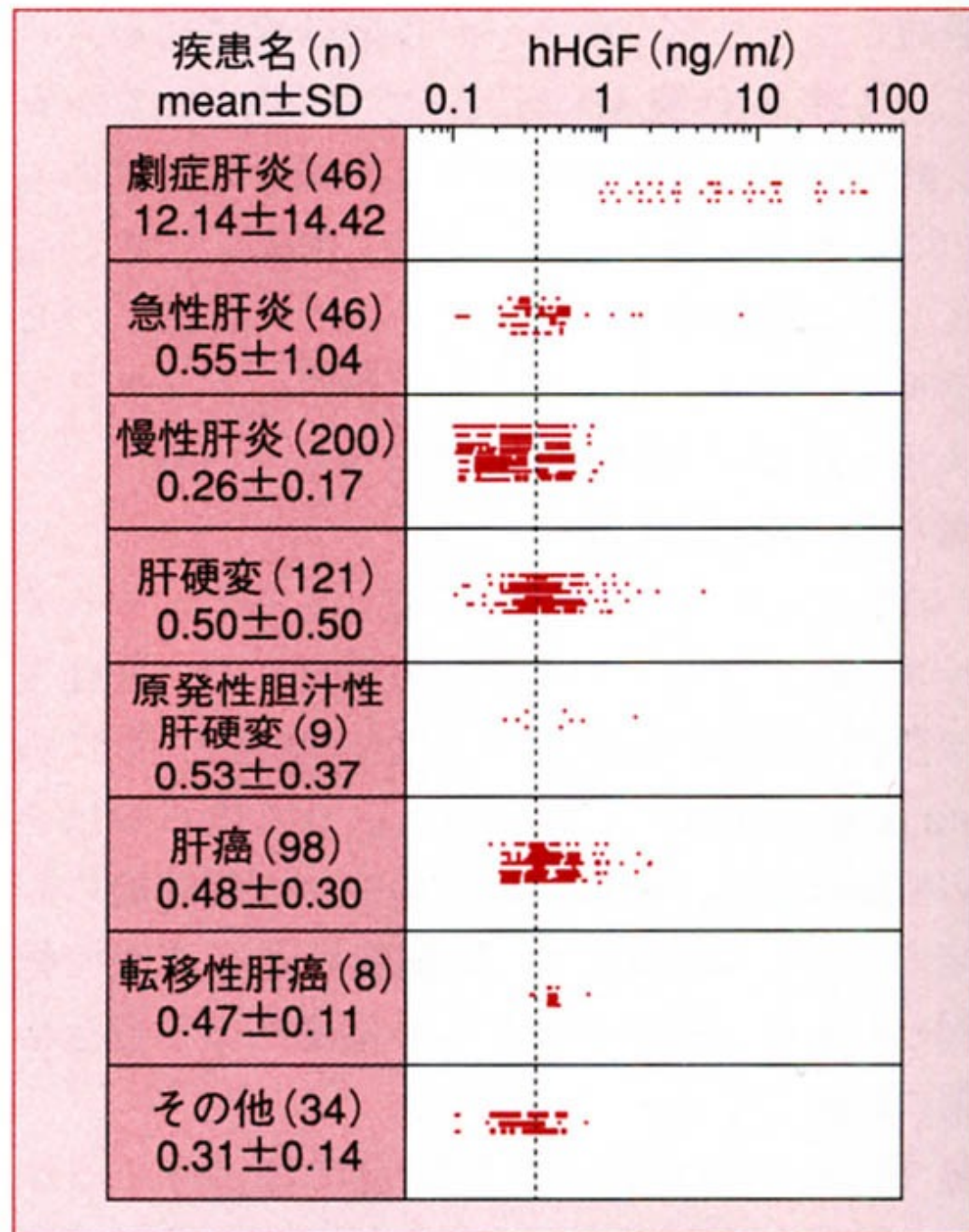


図1 肝疾患における血清 HGF 値の分布

「臨床検査ガイド」2020年版(文光堂)
598ページより引用

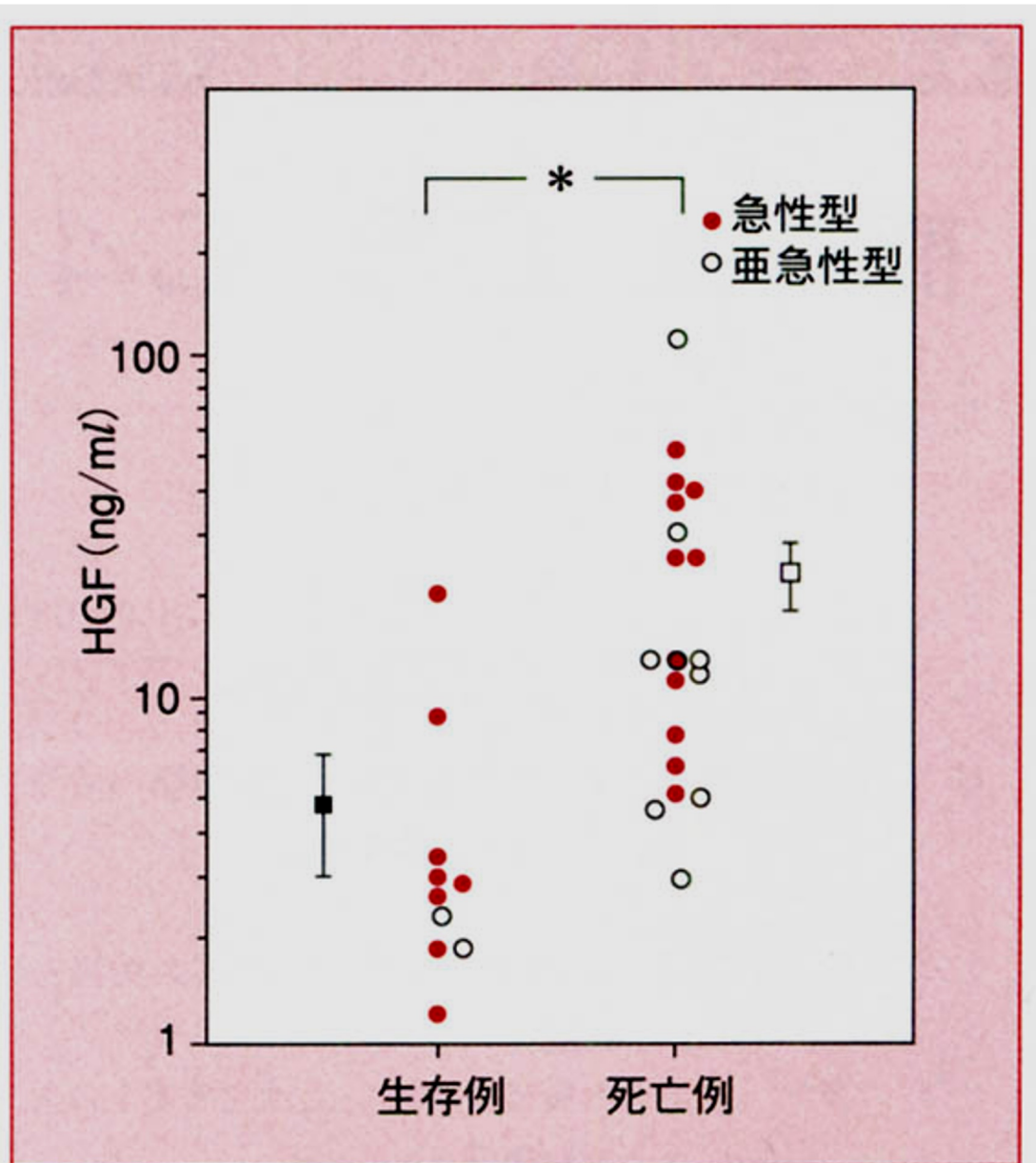


図2 劇症肝炎患者の血清 HGF レベルと予後の関係
 血清 HGF 値は経過中の最高値を用いた。
 * $p < 0.05$: 生存例と死亡例との有意差

「臨床検査ガイド」2020年版(文光堂)
 599ページより引用

インターフェロン γ 遊離試験

(Interferon-gamma release assays : IGRA)

→結核感染の有無を調べる検査



測定原理： 結核菌抗原に対する患者リンパ球のIFN- γ 産生能をみる

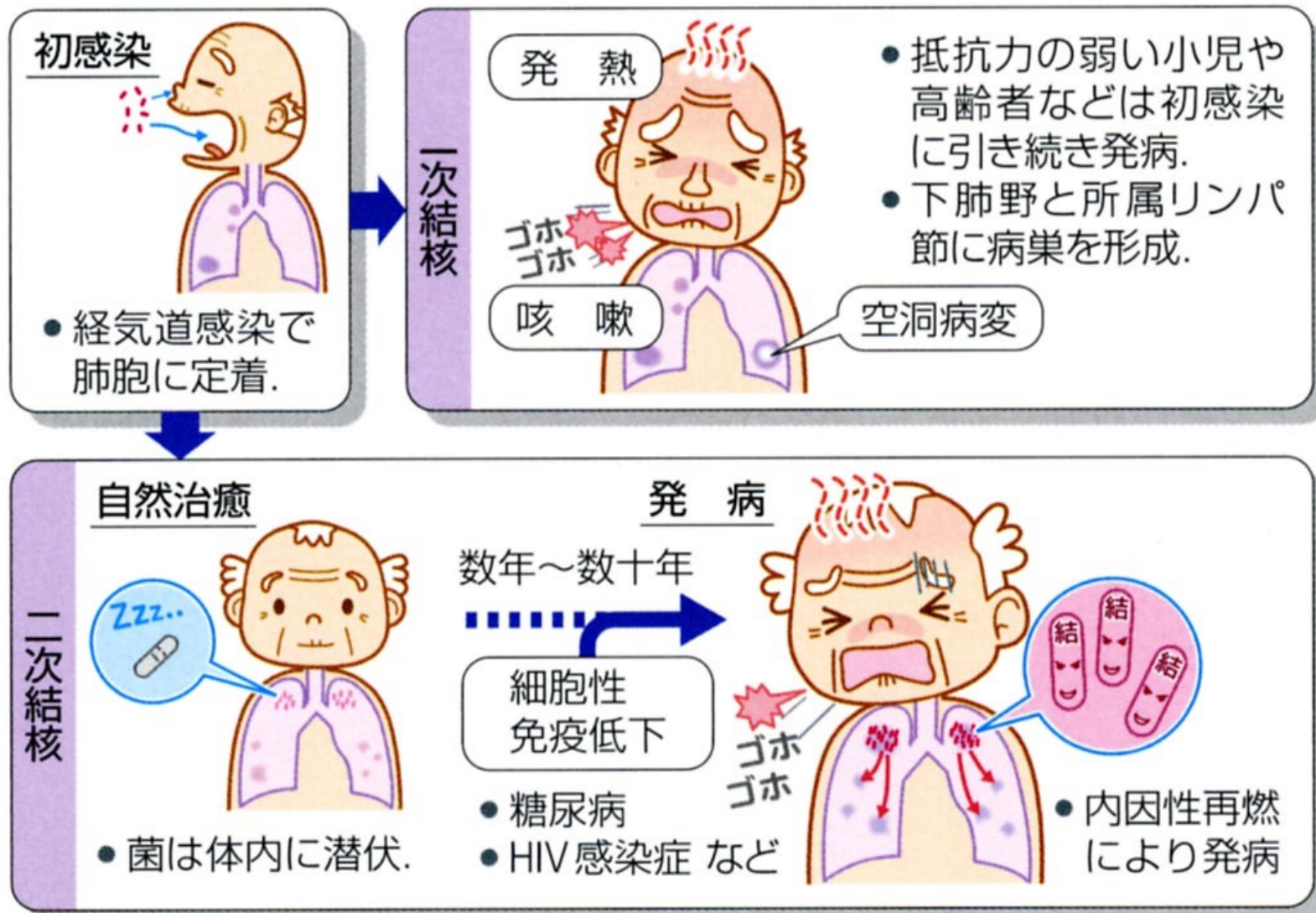
利点： ツベルクリン反応と異なり、BCG接種の影響を受けない

欠点： 活動性結核と潜在性結核との区別はできない

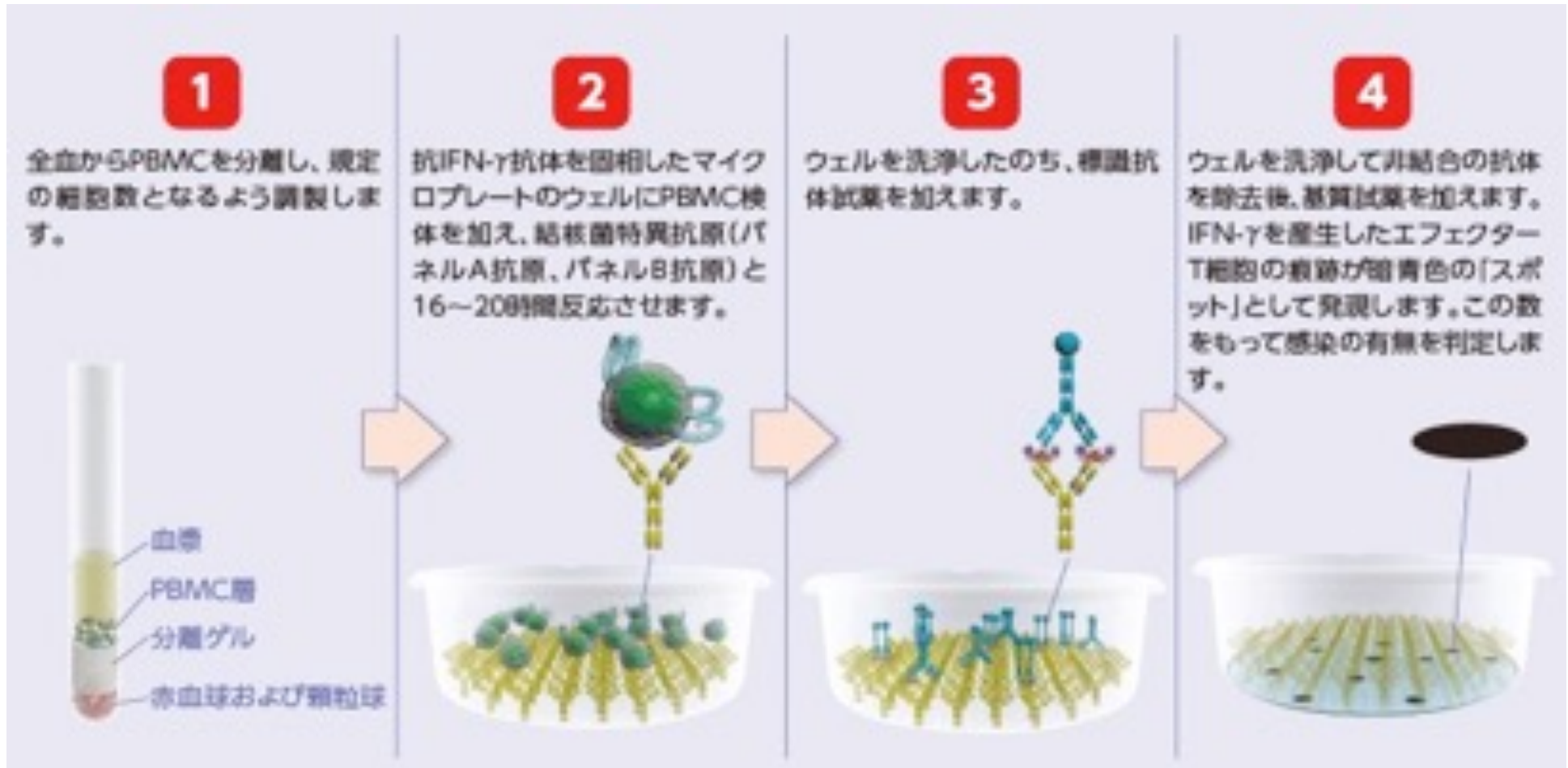
新たな感染と昔の感染を区別できない

T-SPOTとクオンティフェロン(QFT)の2つの方法がある

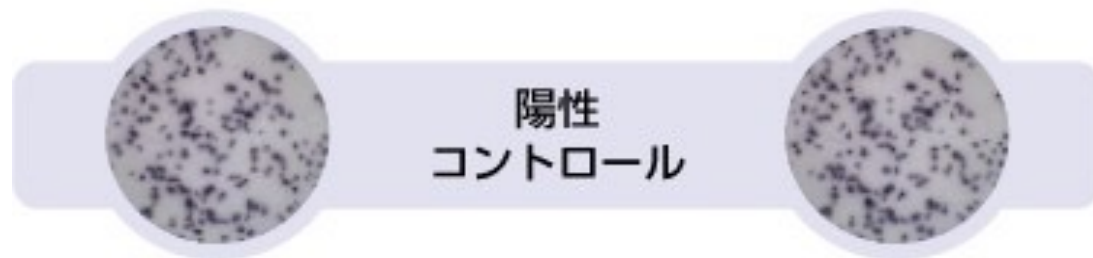
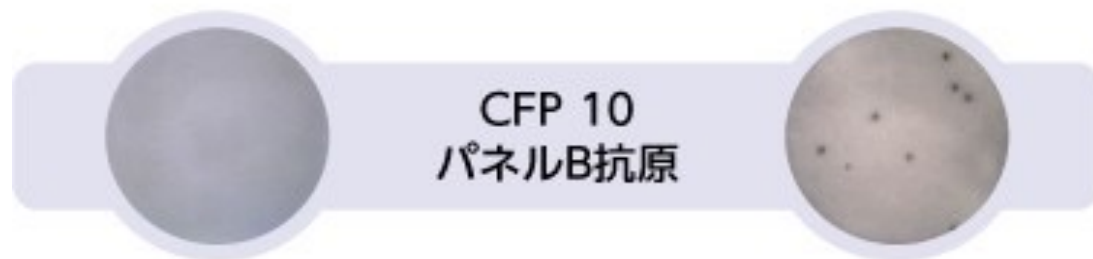
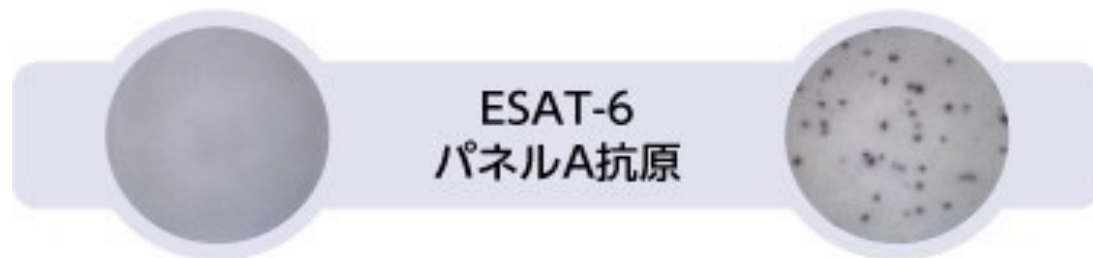
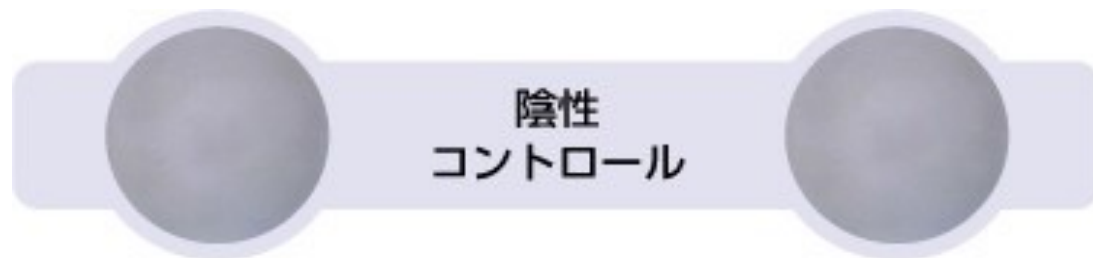
結核の臨床経過



T-SPOT測定原理



(オックスフォード・イムノテック社のwebページの図を引用)



陰性

陽性

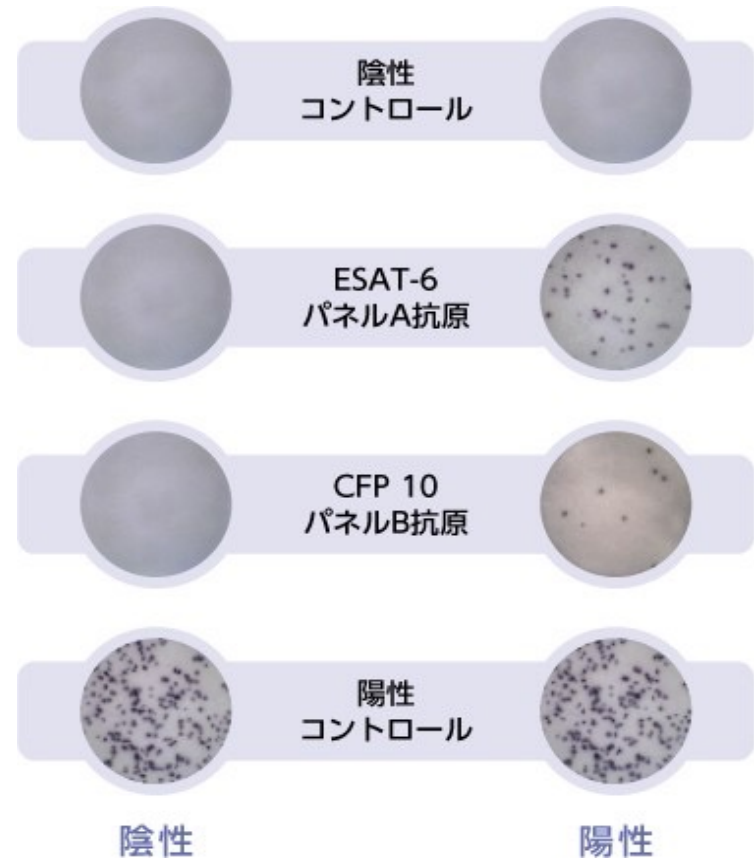
T-SPOT 判定基準

(パネルAウェルのスポット数)-(陰性コントロールウェルのスポット数)・・・(1)

(パネルBウェルのスポット数)-(陰性コントロールウェルのスポット数)・・・(2)

陽性：(1)および(2)の双方、
あるいは、一方が6スポット以上

陰性：(1)および(2)の双方が5スポット以下



QFT測定原理

ステージ1

ステージ1では、まずTB抗原採血管、陰性コントロール採血管及び陽性コントロール採血管それぞれに全血を採血後、静置培養する。被検者が結核菌に感染していると、感作Tリンパ球がインターフェロン- γ (IFN- γ)を産生する。



ステージ2

ステージ2では、この全血から上清(血漿検体)を採取し、サンドイッチ酵素免疫測定(ELISA)法にてIFN- γ 量を測定する。予め、IFN- γ 標準希釈系列を作製しておき、検体と共に測定する。得られた吸光度から、IFN- γ の標準曲線を作成し、検体中のIFN- γ 量を算出する。



測定値 A (IU/mL) = IFN- γ A^{注1)} - IFN- γ N^{注3)}

測定値 M (IU/mL) = IFN- γ M^{注2)} - IFN- γ N^{注3)}

注1) IFN- γ A : T B 抗原血漿の IFN- γ 濃度 (IU/mL)

注2) IFN- γ M : 陽性コントロール血漿の IFN- γ 濃度 (IU/mL)

注3) IFN- γ N : 陰性コントロール血漿の IFN- γ 濃度 (IU/mL)

結果の解釈

本検査の結果は、以下の基準による：

測定値 M (IU/mL) *1	測定値 A (IU/mL)	結果	解釈
不問	0.35以上	陽性	結核感染を疑う
0.5以上	0.1以上 0.35未満	判定保留	感染リスクの度合いを考慮し、総合的に判断する
	0.1未満	陰性	結核感染していない
0.5未満	0.35未満	判定不可	免疫不全等が考えられるので、判定を行わない

IGRAを行う目的

1) 潜在性結核感染症の診断

免疫抑制状態にある患者の結核感染の有無

リウマチに対するTNF α 阻害薬使用者から活動性結核が発症
使用前に潜在性結核感染の有無を調べ、感染があれば治療

2) 接触者健診： 活動性結核患者と接触した場合

医療従事者(雇い入れ時にベースラインの検査)

感染後、陽性になるのに2~3か月を要する

3) 活動性結核の診断補助：

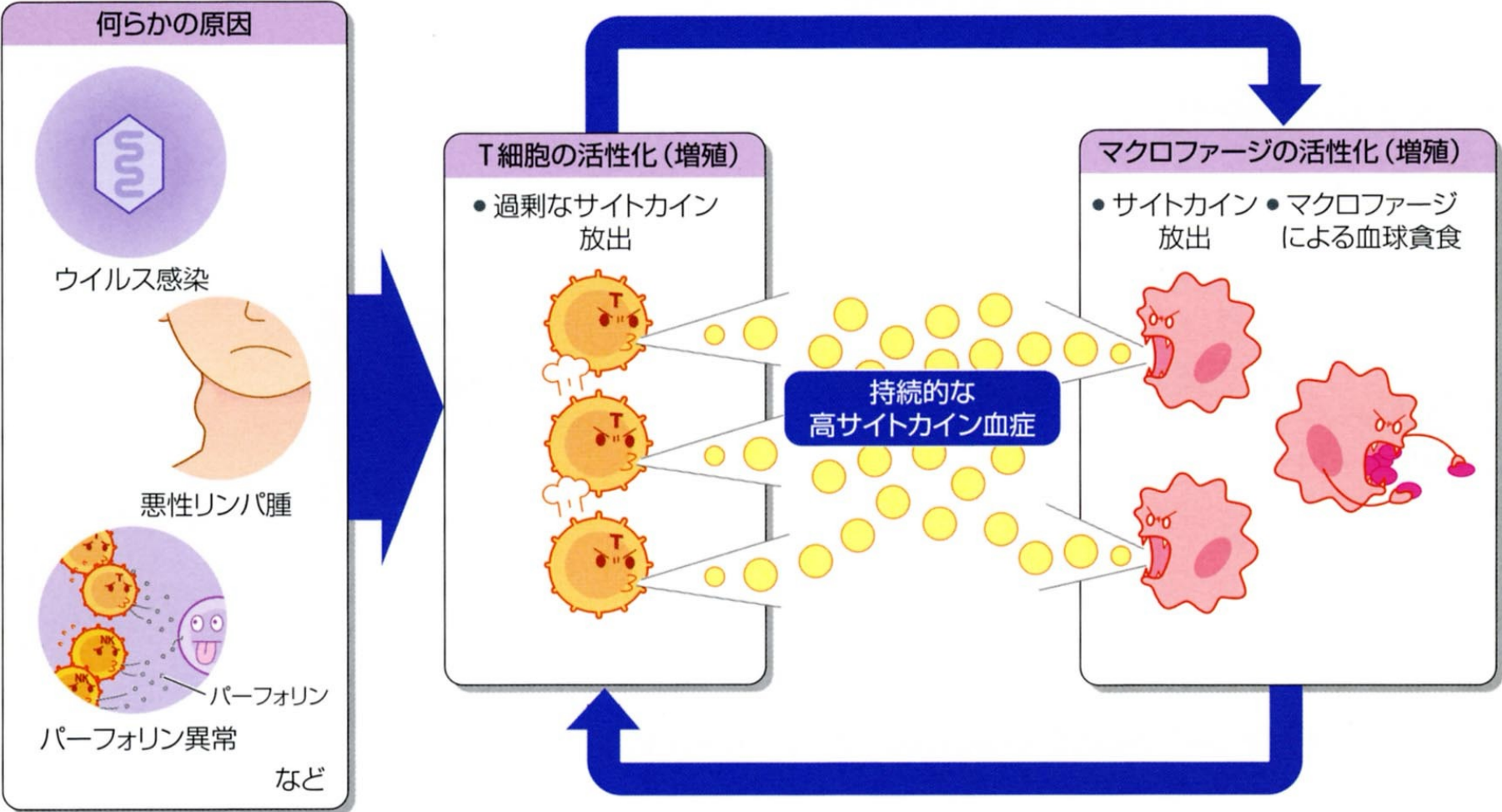
活動性結核が疑われるが、結核菌の検出が困難な場合

保険適応外のサイトカインの検査

以下の検査は保険収載されていないが、病態解析や診断に有用

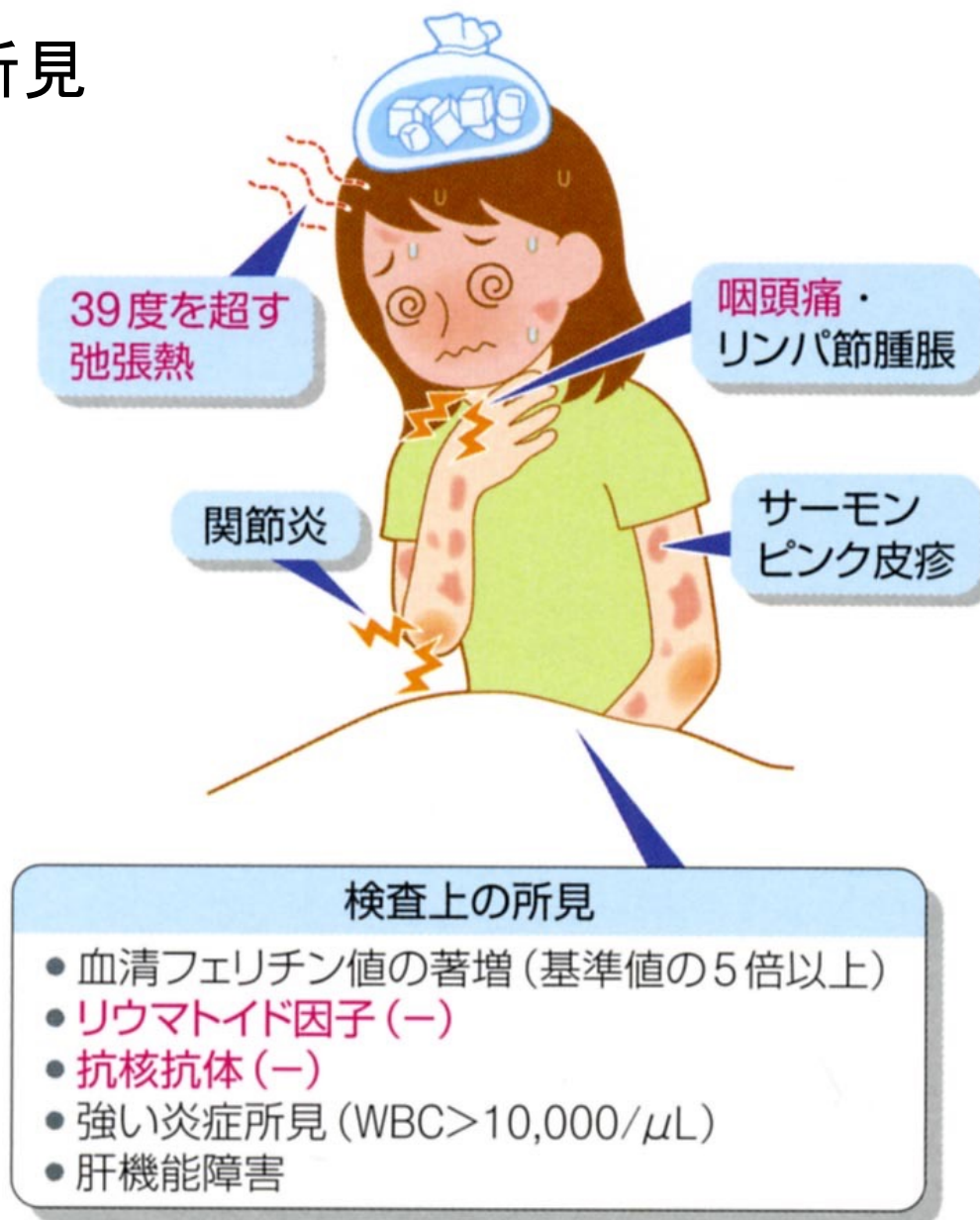
- 1) IFN- γ : 血球貪食症候群(血球貪食性リンパ組織球症)において著増
- 2) G-CSF: 感染症を合併していないにもかかわらず好中球が著増している
癌患者では、癌細胞がG-CSFを産生していることがある
- 3) VEGF(血管内皮細胞増殖因子): POEMS症候群の病勢に相関して変動
- 4) TPO(トロンボポエチン): 血小板減少の原因の鑑別に有用
- 5) IL-5: 好酸球増加の原因の鑑別に有用
- 6) IL-6: Castleman病の診断に有用
- 7) IL-18: 成人Still病の診断に有用

血球貪食症候群の病態



● 家族性 (一次性) HPSの原因としてはパーフォリン遺伝子の異常が、二次性HPSの原因としてはウイルス感染 (特にEBウイルス (58頁)) や悪性リンパ腫が多い。

成人Still病の症状と検査所見



まとめの問題

以下の文は正しい(○)か、否(×)か？

問題1) エリスロポエチンは骨髄で産生される造血因子である。

問題2) 真性多血症では血清エリスロポエチン濃度が増加している。

問題3) 血清の可溶性インターロイキン-2受容体濃度は悪性リンパ腫患者で増加する。

問題4) HGFは肝細胞癌の診断に有用である。