

不明熱と免疫不全（サイトカインパターンからの考察）

布井博幸¹⁾、西村豊樹¹⁾、水上智之²⁾

1) 宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学

2) 国立病院機構熊本医療センター

研究要旨

免疫異常症患者では不明熱で発症する機会が多い。発熱を契機に心因性発熱、菊池病、悪性高熱症候群、マクロファージ活性化症候群（MAS）を繰り返した若年性関節炎、地中海熱、慢性肉芽腫症と診断した患者の27サイトカインパターンについて比較検討した。方法：Bioplex 27 サイトカイン測定キットで測定した健康成人13名の血中サイトカイン値の平均を1とし、X正常値で表した。結果：健康成人のサイトカインは約X3以内に分布した。心因性発熱患者では26種類のサイトカインがほぼX5-X10を示した。菊池病、悪性高熱症候群と若年性関節炎患者では他のサイトカインはX5の範囲に収まったのに対し、各々IP-10、IL-6、IL-6とIL-18が健康成人サイトカインのX50-500と非常に特徴的なサイトカインパターンを示した。一方、地中海熱や慢性肉芽腫症患者ではサイトカインバランス(IL-6/IL-10など)が崩れているものの、特徴的なサイトカインパターンは得られなかった。結論：27サイトカインパターンを見ると、不明熱患者の病態にかなり特異的なパターンを示す疾患があり、病態を考える上でも重要だと思われる。

A. 研究目的

免疫不全患者では不明熱から発症される患者も多い。今回27サイトカイン(加えてIL-18、cytochrome cは症例を選んで測定した)を同時に測定することで、不明熱患者の病態を推察できないか検討した。

B. 研究方法

不明熱で紹介された心因性発熱、菊池病、悪性高熱症候群、MASを繰り返した若年性関節炎、慢性肉芽腫症、地中海熱と診断した患者の27サイトカインをBioplexキットで測定した。健康成人13名の各サイトカインのMean ± SD(pg/ml)はIL-1β; 1.1 ± 0.5、IL-1α; 84.1 ± 28.4、IL-2; 1.8 ± 1.3、IL-4; 2.4 ± 1.0、IL-5; 1.7 ± 0.9、IL-6; 3.1 ± 1、IL-7; 4.9 ± 2.5、IL-8; 7.9 ± 1.5、IL-9; 10.4 ± 5.1、IL-10; 10.3 ± 9.6、IL-12; 30.8 ± 24.5、IL-13; 5.8 ± 3.8、IL-15; 0.2 ± 0.0、IL-17; 27.6 ± 11.0、Eotaxin; 48.4 ± 43.1、FGF; 14.7 ± 2.5、GCSF; 12.6 ± 2.9、GMCSF; 8.5 ± 4.9、IFN-γ; 88.5 ± 19.4、IP-10; 964.3 ± 870.8、MCP1; 9.7 ± 6.0、MIP1α; 2.4 ± 0.7、PDGF; 3453 ± 1608、MIP1β; 49.4 ± 23.2、RANTES; 2590.3 ± 1707.1、

TNF-γ; 12.8 ± 4.9、VEGF; 58.5 ± 60.6であった。IL-18とcytochrome cはELISA(MBL)およびPicolumi(三光純薬)で測定した。各々の平均はIL-18; 500 pg/ml、cytochrome c; 17ng/mlを標準値とした。比較の際は、各サイトカインの平均値を1とし、X正常値で表した。

症例1 心因性発熱; 14歳7ヶ月男子、夏から2ヶ月間38-40度の発熱があるため登校できていない。入院後監視下検温でも38-9度Cで、朝方が最も高かった。血液検査では白血球数、CRP、血沈など炎症反応は殆ど認められない。後に学校との問題や、本人の社会適応能力にも若干の問題があることが判り、高校への進学と心理訓練をすることにより、現在は平熱になっている。

症例2 菊池病; 12歳男子、37度台の微熱後38-40度の発熱と下痢腹痛認めていた。近医小児科で、好中球減少症(WBC:1700、顆粒球400)を指摘されたが、自宅で経過観察されていた。16病日には左頸部のリンパ節腫脹と圧痛、その後徐々に発熱のピークが上昇し、39-40度台となり、大学病院へ紹介入院となる。

症例 3 マクロファージ活性化症候群 (MAS) を繰り返した若年性関節炎; 13 歳女性、頭痛、気分不良で発症、嘔吐、両側前腕、下腿に紅斑出現、病院受診処方されるも、持続発熱 (39)、6 病日感染性胃腸炎による敗血症の診断で入院 (WBC 26030、Plt 11.3 万、CRP23、フェリチン 22421 ng/ml、sIL2-R 1680U/ml) CTRX 投与、7 病日紅斑消出、8 病日不定形紅斑が再度出現、PCT 0.9、抗生剤の反応乏しく、生化学所見の再度の悪化があり、12 病日大学病院への転送となる。その後も発熱を繰り返し、JIA の診断のもと MAP 療法に生物学的製剤 (アクテムラ 8mg/kg) を継続するも MAS を繰り返している。

症例 4 地中海熱; 13 歳女性、夏場に 38 度台の発熱、頭痛、悪心も認め、解熱傾向もなく CRP 高値のため入院、抗生剤投与されたが発熱が持続し、各種検査に異常なく、2 週間で解熱し退院した。1、2、3、4、5 月後にも 38 度台の微熱があり、当科紹介入院となった。

症例 5 現在 21 歳男性、colitis と Meleod 症候群を合併した gp91-phox 欠損型慢性肉芽腫症; 3 か月時に痔ろう、1 歳で髄膜炎など反復、2 歳 7 か月時に CGD と診断され、4 歳でリンパ節腫脹、7 歳で肺炎などに罹患。9 歳で肝左葉肉芽腫に対し、肝部分切除術を行われている。19 歳の時、種々の抗生物質、抗真菌剤の使用に関わらず、発熱の改善が得られないため、不明熱の精査の一環として大腸ファイバー検査と上部消化管モカプセル内視鏡で検査され、CGD 腸炎の診断を受けている。20 歳で肺アスペルギルスに罹患している。

(倫理的配慮)

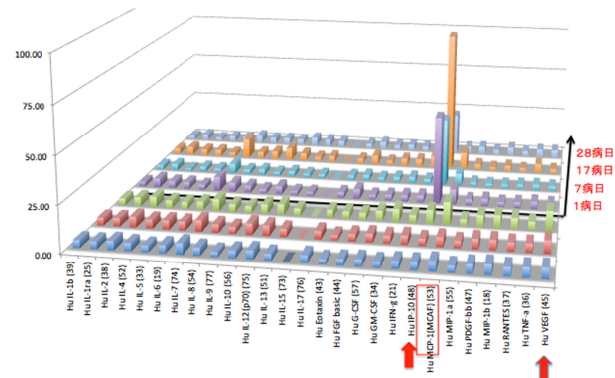
各々の患者さんの採血にあたっては患者自身の IC を頂き、受診時または入院時の採血された残血清を用いて検査を行った。

C. 研究結果

1) 心因性発熱の患者について、サイトカイン測定を行ったが、いずれも正常者よりもやや上昇していることが判った。具体的にそれを示すために、13 名の健常者サイトカインの平均値を 1 として、各々のサイトカインの値をみると (図 1 前半 3 列、いずれも高熱時採血)

正常者が X0-3 の値であるのに対して、患者では X5-10 であり、IL-6/IL-10 のバランスも保たれていた。

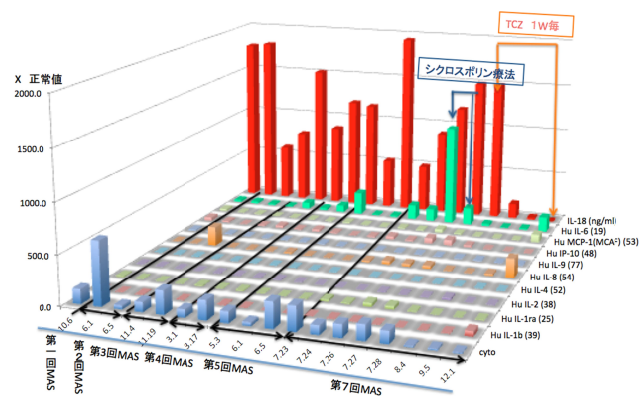
図 1: 心因性発熱および菊池病患者のサイトカイン



2) 菊池病の患者のサイトカインパターンでは IP-10 が特異的に X75 と高値を示していた (図 1 後半 4 例、いずれも高熱時)。IL-6/IL-10 のバランスはやや高値を示していたが、他のサイトカイン (IL-6, IL-9, Eotaxin, MCP-1 α) も X10 以内の上昇であり、その他のサイトカインは X5 以内であった(1)。

3) MAS を繰り返した若年性関節炎患者では、第 1、2、3、4、5、7 回目の MAS を起こした時の変動のあったサイトカインについて図 2 に示した。IL-18 と Cytochrome c は別途 ELIZA kit と Picolumi にて測定した。

図 2: MAS を繰り返した若年性関節炎患者のサイトカインパターン解析

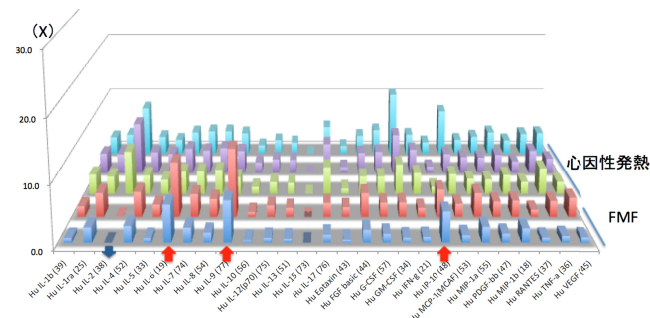


IL-18 は経過を通じて高値をしめし、MAC 再発の際 IL-6 が上昇した(2)。IL-6 はシクロスポリンの 1mg/Kg の持続投与から 3mg/kg の X3 投与により、低下したが、IL-18 は TCZ の 1W 間隔での投与で減少が明らかになった。以降 1W 間隔を 8 回連続で、ほぼ正常域まで改

善し、2W、3W、4W、8W 間隔で投与することにより、IL-18 は正常域を維持でき、1年半でTCZも中止できている。

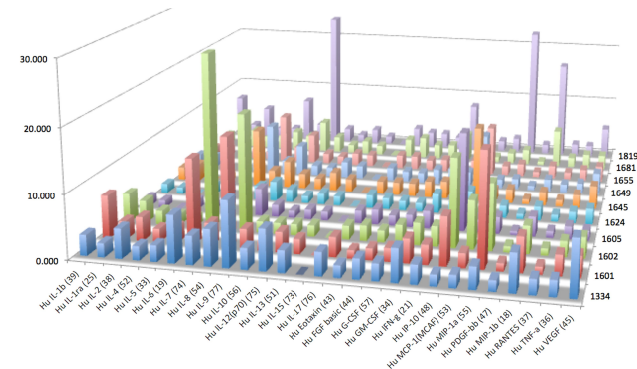
4) 家族性地中海熱患者について、その発熱時のサイトカインパターン解析では、異常高値を示すサイトカインは無かったが、IL-6、IL-9、IP-10 は上昇、IL-2 は低下していた。特に、IL-6/IL-10 は高値を示した。

図3：家族性地中海熱患者のサイトカインパターン



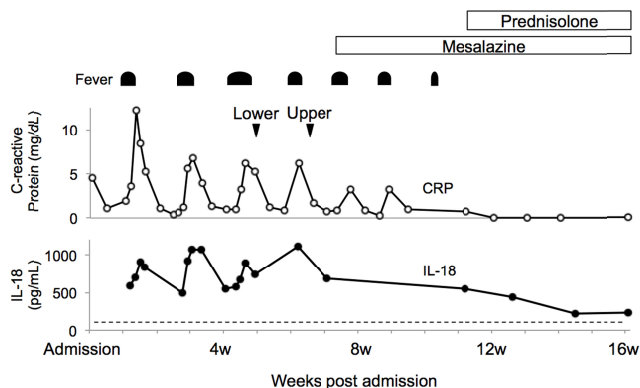
5) 慢性肉芽腫症患者については、患者さんの経過を追ってサイトカインパターンを解析した。IL-6、IL-9、IP-10、MIP1αが病勢に応じてX10以上の高値を示した(図4)。

図4：慢性肉芽腫症患者のサイトカインパターン



上記のサイトカインに加えて、CRPの上昇に応じて、IL-18も上昇しており、大腸ファイバーで、CGD腸炎の所見を示し、MesalazineとPrednisoloneの投薬にて、いずれも改善した(図5)。

図5：慢性肉芽腫症患者の臨床マーカーとIL-18の変化



D. 考察

心因性発熱や菊池病、MASを繰り返した若年性関節炎患者では特徴的なサイトカインパターンが認められた。一方で家族性地中海熱(FMF)や慢性肉芽腫症(CGD)患者では、あまり特徴的なサイトカインパターンは示さず、IL-6/IL-10比が高いなど、病態を反映する所見が得られた。

1) 心因性発熱に関しては、IL-6/IL-10比も正常で、サイトカインによる炎症性発熱の病態と言うより、発熱に伴うサイトカイン上昇ではないかと思われた。

2) 菊池病に関しては、これまでも菊池らはnecrosisとapoptosisに関連した遺伝子の増幅(1)や石村らのIFI44L、CXCL10、GBP1、EPSTI1 and IFI27遺伝子の増幅(2)などの研究があるが、IP-10の高値が血管内非細胞とTNFα刺激で誘導されているという報告もある(3)。

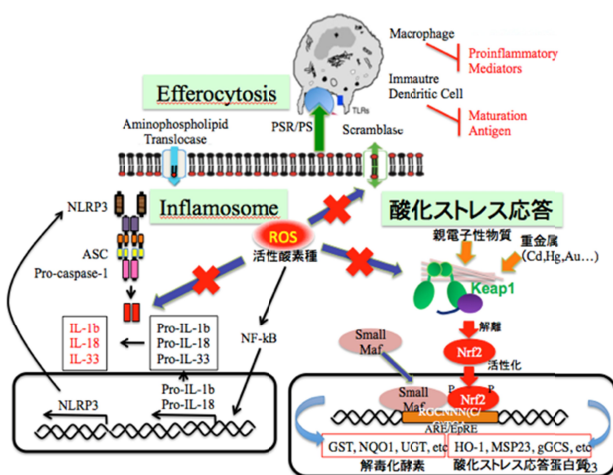
3) MASを繰り返した若年性関節炎患者では非常に特徴的なIL-18の持続高値(130,000pg/ml以上X2,000未満)とMAS発症時IL-6の上昇を認める(図2)が、その発症機序が説明できるような報告は無い(4)、今後の検討課題だと考えている。Cyclosporin A(3mg/kg)治療ではMASの勢いを抑制できたが、IL-18に関してはTCZの1週置き点滴治療で、著効しており、調査が必要だろうと考えられる。

4) 地中海熱ではインフラモソームの過剰活性のために、IL-1の上昇が予測されていたが、正常領域であった。血中半減期が短いことに加えて、病初期にのみ大量に放出されて、後には影響は残るが発症するころ

には IL-1 は枯渇してしまって、むしろ減少する等の説が報告されており、IFN- γ 、Th1、VEGFR-1、MIF、sICAM-1、urinal LTB4 も上昇している(5)。この患者さんの発熱時のサイトカインパターン解析では、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-17、IL-18 は上昇しているが、異常高値を示すサイトカインは無く、IL-6、IL-9、IP-10 は上昇、IL-2 は低下していた。特に、IL-6/IL-10 は高値を示しており、典型的なパターンではなかった。

5) 慢性肉芽腫症：サイトカイン産生には NF- κ B が活性酸素(ROS)で活性化されることが必要だと考えられていたが、CGD でも、種々の刺激(LPS, CpG)で IL-6、TNF- α 、IFN- γ の過剰産生が報告されていることから、NF- κ B 非依存性のサイトカイン産生経路が考えられている(6)。その CGD 患者でのサイトカイン過剰産生の機構として、1) ROS により Caspase-1 の失活が起こらないための IL-1 β 、IL-18、TNF- α 産生を亢進、2) ROS により Nrf2-Keap1 複合体の活性が起こらないため、抗酸化蛋白(HO-1, MSP23, GCS など)の誘導がかからず過剰炎症となる機構や、3) フォスパチジル・セリン(PS)が外膜面に輸送させる Scramblase の ROS による活性化が起こらないため Efferocytosis が障害されることにより、炎症が持続化することなどが報告されている(図6)。

図6：CGD と過剰炎症症候群の機序



このような種々の ROS による影響が結果的に、あまり特徴の無いサイトカインパターンや IL-6/IL-10 比の上昇などを引き起こしているのではないかと考えられる。

今後も CGD での活性酸素産生異常が種々の炎症治癒過程の制御に影響することが報告されているのではないかと考えられた。

E. 結論

27 サイトカインパターンを見ると、不明熱患者の病態にかなり特異的なパターンを示す疾患があり、病態を考える上でも重要だと思われた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表、

別表に記載

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 参考文献

- Ohshima K, Karube K, Hamasaki M, Makimoto Y, Fujii A, Kawano R, Tutiya T, Yamaguchi T, Suzumiya J, Kikuchi MSO, Apoptosis- and cell cycle-associated gene expression profiling of histiocytic necrotizing lymphadenitis. Eur J Haematol. 2004;72(5):322.
- Ishimura M, Yamamoto H, Mizuno Y, Takada H, Goto M, Doi T, Hoshina T, Ohga S, Ohshima K, Hara T. A non-invasive diagnosis of histiocytic necrotizing lymphadenitis by means of gene expression profile analysis of peripheral blood mononuclear cells. J Clin Immunol. 2013 Jul;33(5):1018-26.
- Fang YS, Zhu LM, Sun ZG, Yu LZ, Xu H., Tumor necrosis factor- α pathway plays a critical role in regulating interferon- γ induced protein-10 production in initial allogeneic human monocyte-endothelial cell interactions. Transplant Proc. 2012 May;44(4):993-5.
- Shimizu M, Nakagishi Y, Yachie A., Distinct subsets of patients with systemic juvenile

idiopathic arthritis based on their cytokine profiles. *Cytokine*. 2013 Feb;61(2):345-8.

5. Notarnicola C, Didelot MN, Seguret F, Demaille J, Touitou I., Enhanced cytokine mRNA levels in attack-free patients with familial Mediterranean fever. *Genes Immun*. 2002 Feb;3(1):43-5.
6. Bylund J, MacDonald KL, Brown KL, Mydel P, Collins LV, Hancock RE, Speert DP., Enhanced inflammatory responses of chronic granulomatous disease leukocytes involve ROS-independent activation of NF-kappa B. *Eur J Immunol*. 2007 Apr;37(4):1087-96.