



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on the clinical outcome and molecular changes of precursor-targeted immune-mediated anemia treated with splenectomy [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	須田, 芽伊
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15654号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90957
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mei_Suda_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：須田 芽伊

Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Study on the clinical outcome and molecular changes of precursor-targeted
immune-mediated anemia treated with splenectomy

(Precursor-targeted immune-mediated anemia(PIMA)に対する
脾臓摘出術の臨床的有用性および分子生物学的変化に関する研究)

慢性的に非再生性貧血を呈する犬の骨髓像の一つとして、赤芽球過形成や成熟停止を特徴とする無効造血が報告されている。このような症例に対する詳細な病態解明はなされていないものの、免疫抑制療法が有効であることから免疫異常が病態に関与していることが示唆されている。従来、本疾患は非再生性貧血に加え免疫介在性溶血性貧血(Immune-mediated hemolytic anemia, IMHA)に該当する臨床検査所見を併せ持つ症例も存在したことから、非再生性免疫介在性貧血(Non-regenerative immune-mediated anemia, NRIMA)とされていた。一方で近年、慢性非再生性貧血を呈する犬で IMHA に該当しない臨床検査所見を持つ症例及び、骨髓で赤芽球の貪食像が目立つ症例が存在することが明らかとなり、赤血球前駆細胞に対する免疫異常に着目した precursor targeted immune-mediated anemia (PIMA) という病態が提唱された。現時点では PIMA は主に赤芽球に対する免疫反応、NRIMA は赤芽球から赤血球と幅広い分化段階の赤血球系細胞を含む免疫反応を有する症例も含む疾患群であると理解されている。本研究では Assenmacher ら(2019 年)の報告で用いられた診断基準に従い上記症例を PIMA と診断し研究を行った。

過去の報告では PIMA/NRIMA の治療反応について免疫抑制療法により 50–88%の症例で中央値 14–31 日までに赤血球の再生像が認められ、このうち半数以上が寛解を達成したとされている。一方で、免疫抑制療法が奏功せず、3 ヶ月以内に安楽死した犬は 36%であり、長期的な治療に対する治療反応は不明である。北海道大学動物医療センターにおいても免疫抑制療法が奏功しない PIMA 症例を経験する。このような症例は副腎皮質ホルモンを主とした長期間の免疫抑制療法による有害事象を生じ、予後に関わる場合がある。さらに通院回数の増加や複数回の輸血に伴う高額な治療費は、飼い主に大きな負担がかかり治療の継続に苦慮する症例も存在する。そこで当施設では、免疫抑制療法が奏功しない症例を含む PIMA 症例に対して治療として脾摘を実施した。その結果、複数の PIMA 症例で非再生性貧血から再生性貧血に変化し、輸血依存が改善するといった良好な予後が得られた。以上の診療経過より、本研究は PIMA の治療法として脾摘に焦点を当て、①従来の免疫抑制療法と脾摘の臨床成績を検討すること②脾摘後の分子的变化について検討することを目的とした。

第 1 章では、従来の治療法である免疫抑制療法の奏功期間や有害事象に着目し、PIMA 罹患犬において 3 ヶ月以上治療を継続した症例群で治療効果に影響を与える予測因子と治療効果に要する期間を回顧的に調査した。免疫抑制療法へ反応する症例の特徴として EMR が 0.17 未満であることは、正

の予後予測因子である可能性が示され、60 日以上治療を継続した場合に非反応群から反応群へ移行する症例はわずかであることが明らかとなった。さらに、PIMA 罹患犬全症例で免疫抑制療法の有害事象を調査したところ、肺炎および肺炎は全治療期間にわたり発生し、膿瘍などの感染症は免疫抑制療法を長期間行っている犬でより多く発生する傾向が示された。

第 2 章では PIMA 罹患犬に対する脾臓摘出術の有効性を回顧的に調査した。脾臓摘出術を実施した 20 頭中、18 頭で長期的な経過観察が可能であった。18 頭中 15 頭は術後、免疫抑制療法の中止および輸血依存の離脱が出来、治療が奏功したと考えられた。また、術後観察期間(中央値 301 日)で脾臓摘出術の合併症は認められなかった。これらの結果は、犬が免疫抑制療法に反応しない場合、脾臓摘出が PIMA に対する有効な治療戦略である可能性が示唆された。

第 3 章では、PIMA 罹患犬と健常犬の脾臓におけるトランスクリプトーム解析および PIMA 罹患犬の脾臓摘前後の血清中蛋白を網羅的に解析した。PIMA 罹患犬の脾臓では 1,385 の発現変動遺伝子が検出され、ダメージ関連パターン分子である S100A12、S100A8、S100A9 などの 707 遺伝子の発現上昇が明らかとなった。さらに、免疫組織化学的手法により、PIMA 発症犬では S100A8/A9 タンパク質の発現量が健常犬に比べ有意に高いことが確認された。血清プロテオーム解析では、脾臓摘前後の同一個体のサンプル間で 22 種のタンパク質発現に有意差が認められ、パスウェイ解析により脾臓摘前のレクチン経路を主とした補体活性化が示唆された。

本研究の成果として PIMA の治療に対する知見として、60 日以上にわたる免疫抑制療法が奏功しない場合は有害事象の発生の観点から積極的な代替療法の考慮が望まれることが明らかとなった。その代替療法として、脾臓摘出術は奏効率が高く、長期的な予後も良好である症例が多いことから有効な治療法となり得ることが回顧的研究により示された。さらに脾臓を用いた網羅的な遺伝子解析や脾臓摘前・後の血清を用いた血清中蛋白質の網羅的解析により S100A8/A9 の過剰発現や脾臓摘前におけるレクチン経路の活性化が PIMA の病態に関与している可能性が示された。