

学位論文題名

強皮症の間質性肺病変に関連する因子

学位論文内容の要旨

<背景> 全身性強皮症 (Systemic sclerosis : SSc) は、微小血管傷害、皮膚の線維化と特有の内臓障害を特徴とする自己免疫性の結合組織疾患である。強皮症は臨床的に多様な疾患群であり、内臓病変が少なく皮膚硬化のみに留まる軽症型から広範囲に内臓障害をきたし、QOL や生命予後に影響を与える重症型まで多彩である。その中で、間質性肺病変 (Interstitial lung disease : ILD) は強皮症患者の 50%以上で合併する最も深刻な合併症の一つである。造血幹細胞移植 (Hematopoietic stem cell transplantation : HSCT) は皮膚硬化への有効性についてはエビデンスが確立されつつあるが、ILD に対する有効性についてはまだ一定の見解はない。また、強皮症関連 ILD の発症にかかわる分子マーカーや特定の遺伝的素因をみだし、ILD の発症及び増悪が予測することができれば、発症早期により有効な治療を行うことで、強皮症関連間質性肺病変の予後を改善し得ると期待される。しかし、SSc-ILD に特異的な遺伝的背景や関連因子を検討した報告はまだ少ない。

【研究 1】

<目的> 皮膚硬化に有効とされる HSCT の SSc-ILD における有効性を検討する。

<方法> 北海道大学病院へ通院し、高分解能 CT scan (high-resolution CT scan : HRCT) で ILD の有無・画像パターンを 2 点以上評価し得た SSc 患者 77 例を対象とした。罹病期間 3 年以内かつ 2 年間以上の観察が可能であった 40 例を解析対象とし、HSCT を施行した群 (HSCT 群) 10 例、既存の免疫抑制剤などの従来治療のみを施行した群 (従来治療群) 30 例に分類した。HRCT 所見は、スリガラス状陰影 (isolated ground-glass opacities : GGO) , 肺線維症 (pulmonary fibrosis : PF)、蜂巢肺 (honeycombs : HCs)、結節影 (Nodule) に分類し、ベースラインにおいて GGO、PF、HCs いずれかを有するものを ILD 群、いずれも認めないものを非 ILD 群とした。画像所見の定量化には HRCT score を用い、ILD の分布、GGO の有無によって点数化し各々を合算した。得られたスコアは、①ベースラインと 2 年後、②ベースラインと観察終了時の 2 項目において HRCT score の差 (Δ HRCT score) を算出し、従来治療群と HSCT 群で各々比較した。また、呼吸機能検査 (%VC, %DLco) ・血清 KL-6 値のベースラインからの変化率、臓器合併症出現の有無、悪性腫瘍出現の有無についても後ろ向きに検討した。

<結果> ベースラインの患者背景は、HSCT 群【平均年齢 39.3 歳 (14.2)、罹病期間 21.0 ヶ月 (2-36)、観察期間 69 ヶ月 (36-111)、ILD 群 (N=6)、非 ILD 群 (N=4)】、従来治療群【平均年齢 48.8 (12.0) 歳、罹病期間 13.0 ヶ月 (2-36)、観察期間 61 ヶ月 (24-120)、ILD 群

(N=21)、非ILD群(N=9)】であり、性別、年齢、罹病期間、観察期間、喫煙歴の有無、強皮症の表現型(DiffuseもしくはLimited cutaneous type)、ILDの合併率、自己抗体の陽性率について、両群間に差はなかった。血清KL-6、呼吸機能、HRCT所見、HRCT scoreにおいても、両群間に差はなかった。観察開始前後において、HSCT群は従来治療群と比較し、2年後、観察終了時両方で△HRCT scoreを有意に改善した。HSCT群では移植関連死

(transplant related mortality: TRM)や強皮症の進行による死亡例はなく、従来治療群で悪性腫瘍もしくは肺病変の悪化により3例が死亡した。

＜結論＞ 造血幹細胞移植は、強皮症患者の間質性肺病変における画像所見を改善し、発症早期の強皮症関連間質性肺病変に対し造血幹細胞移植(HSCT)は有用であると考えられた。

【研究2】

＜目的＞ 強皮症(SSc)患者の間質性肺病変(ILD)発症に関連する因子を解明する。

＜方法＞ SSc患者の末梢血単核球由来のRNAを用いて、2セットのDNAマイクロアレイから候補遺伝子を抽出した。次に北海道大学病院へ通院するSSc患者43例、他の自己免疫疾患患者42例、健常人10例を対象に、ILD合併SScにおいて2セットともに共通して高発現していた遺伝子であるHLA-DRB5、及び強皮症や間質性肺炎において報告例のないERAP2に関して、末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cells: PBMCs)における遺伝子の個々の発現量を、リアルタイムPCR法を用いて検討した。最後にSSc患者70例、健常人147例を対象に、個々の遺伝子発現量が亢進していたHLA-DRB5に関して、Polymerase Chain Reaction-Sequence Specific Primer(PCR-SSP)法を用いてゲノタイプを決定した。得られた結果は、東京女子医科大学病院に通院するSSc患者79例、健常人83例を対象とした2ndコホートにおいて、同様の方法でゲノタイプを確認した。

＜結果＞ DNAマイクロアレイにおいて、計18個の遺伝子が抽出されたが、2セット共通して高発現していた遺伝子はHLA-DRB5のみであった。リアルタイムPCR法の結果、HLA-DRB5はSScのILD群において、非ILD群と比較し統計学的有意に遺伝子発現量が亢進していた($p=0.007$)。他の自己免疫疾患では、両群間に統計学的有意差はなかった。19個のHLA-DRB5アレルをタイピングしたところ、HLA-DRB5の発現と関連するHLA-DRB5*01:05アレルの頻度はSScのILD群で健常人より有意に高かった(OR:8.07, 95% C. I. 3.06-21.28)。2ndコホートにおいても、同アレル頻度はSScのILD群において健常人より有意に高く(OR:17.39, 95% C. I. 2.06-146.94)、この多型がILD発症に関与していると考えられた。

＜結論＞ HLA-DRB5*01:05アレルは、強皮症関連間質性肺病変の発症に強く関連する独立したリスク因子である。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 清 水 宏
副 査 教 授 西 村 正 治
副 査 教 授 清 野 研 一 郎
副 査 教 授 有 川 二 郎

学 位 論 文 題 名

強皮症の間質性肺病変に関連する因子

全身性強皮症 (Systemic sclerosis: SSc) は、微小血管傷害、皮膚の線維化と特有の内臓障害を特徴とする自己免疫性の結合組織疾患である。その中で、間質性肺病変 (Interstitial lung disease: ILD) は強皮症患者の 50%以上に合併する最も深刻な合併症の一つである。造血幹細胞移植 (Hematopoietic stem cell transplantation: HSCT) は皮膚硬化への有効性についてはエビデンスが確立されつつあるが、ILD に対する有効性についてはまだ一定の見解はない。また、SSc-ILD の発症に関与するリスク因子についてもいまだ解明されていない。

研究 1 において、HSCT の SSc-ILD における有効性を検討した。対象は高分解能 CT scan (high-resolution CT scan: HRCT) でILDの有無・画像パターンを2点以上評価し得た SSc 患者 77 例で、罹病期間 3 年以内かつ 2 年間以上の観察が可能であった 40 例を抽出し、HSCT を施行した群 (HSCT 群) 10 例、既存の免疫抑制剤などの従来治療のみを施行した群 (従来治療群) 30 例に分類した。画像所見の定量化は、過去の報告に従い HRCT score を用い、HRCT score の差 (Δ HRCT score) にて従来治療群と HSCT 群を各々比較した。呼吸機能検査 (%VC, %DLco)・血清 KL-6 値のベースラインからの変化率、臓器合併症出現の有無、悪性腫瘍出現の有無についても検討した。

HSCT 群は従来治療群と比較し、治療開始前後で Δ HRCT score を有意に改善した。HSCT 群では移植関連死や原病の進行による死亡例はなく、従来治療群で悪性腫瘍もしくは肺病変の悪化により 3 例が死亡した。この結果から HSCT は、SSc-ILD における画像所見を改善し、HSCT は有用な治療法の一つと考えられた。

研究 2 では、SSc-ILD の発症に関連するリスク因子を解明することを目的とし、末梢血単核球(peripheral blood mononuclear cells : PBMCs)における遺伝子発現の網羅的解析及び HLA ゲノタイピングを行った。SSc 患者の PBMCs 由来の RNA を用いて、2 セットの DNA マイクロアレイから候補遺伝子を抽出した。次に SSc 患者 43 例、他の自己免疫疾患患者 42 例、

健常人 10 例を対象に、SSc-ILD 群において 2 セットともに共通して高発現していた遺伝子である *HLA-DRB5* に関して、PBMCs における遺伝子の個々の発現量を、リアルタイム PCR 法を用いて検討した。最後に SSc 患者 70 例、健常人 147 例を対象に、個々の遺伝子発現量が亢進していた *HLA-DRB5* に関して、Polymerase Chain Reaction-Sequence Specific Primer 法を用いてゲノタイプを決定した。得られた結果は、SSc 患者 79 例、健常人 83 例を対象とした 2nd コホートにおいて、同様の方法でゲノタイプを確認した。

DNA マイクロアレイにおいて、計 18 個の遺伝子が抽出されたが、2 セット共通して高発現していた遺伝子は *HLA-DRB5* のみであった。リアルタイム PCR 法の結果、*HLA-DRB5* は SSc-ILD 群において、非 ILD 群と比較し統計学的有意に遺伝子発現量が亢進していた。*HLA-DRB5* ゲノタイプングの結果、*HLA-DRB5*01:05* アリルの頻度は SSc-ILD 群で健常人より有意に高いことが 2 つのコホートにおいて確認され、同アリルが ILD 発症に関与していると考えられた。

学位審査会に際し、副査の清野研一郎教授から、自己免疫疾患における HSCT の位置づけ・治療成績に関する質問がなされた。副査の有川二郎教授からは、他疾患における *HLA-DRB5* の関連や、モデル動物における検討について質問がなされた。副査の西村正治教授からは、画像所見の改善と肺拡散能の変化率の結果に解離が出た理由について、また *DRB5*01:05* が ILD の発症に関与する理由につき質問がなされた。主査の清水宏教授からは、HSCT が強皮症に対して有効である理由、HSCT のソースとして自家移植を選択した理由について質問がなされた。これらに対して申請者は、実験成績と過去の文献を引用し、丁寧かつ適切に回答した。

この論文は、強皮症関連間質性肺病変に対する有効な治療法に加え、間質性肺病変におけるリスク因子の一つを解明したものとして高く評価され、今後更なる解析により強皮症関連間質性肺病変の治療成績の向上に寄与されるものとして期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。