

## 【34】

氏 名	時 田 心 悟
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	乙第830号
学位授与の日付	令和4年10月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項
学位論文題目	<b>Elevation of anti-elastin antibody in patients with asthma</b> <b>（気管支喘息患者における抗エラスチン抗体の役割及び背景について</b> <b>の検討）</b>
論文審査委員	（主査）教授 松 原 知 代 （副査）教授 倉 沢 和 宏 教授 齋 藤 登

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【背 景】

気管支喘息（喘息）と慢性閉塞性肺疾患（Chronic Obstructive Pulmonary Disease：COPD）は、症候学的に鑑別困難な例があり、両者を正確に鑑別することができる検査方法やバイオマーカーの確立が求められている。COPDの病態は、喫煙に由来する好中球炎症が肺胞破壊や慢性気道炎症による気道狭窄を引き起こすことが知られている。近年、COPDにおいて、抗核抗体陽性の患者が多いことから、自己免疫疾患に由来する肺胞破壊の可能性が示唆されている。COPDにおける自己抗体として注目されているのが抗エラスチン抗体であり、COPD患者において高濃度の抗エラスチン抗体が検出されたと報告されている。一方、喫煙は抗エラスチン抗体の産生を抑制し、COPDにおける抗エラスチン抗体の濃度は低値であったとする相反する報告もあり、結論に至っていない。

#### 【目 的】

喘息とCOPDとの鑑別診断において、抗エラスチン抗体の有用性を検討するため、喀痰および血清の抗エラスチン抗体を測定し、両疾患における比較を行った。また、他の臨床検査所見および患者背景との関連を統計学的に解析し、抗エラスチン抗体の産生に与える影響因子についても検討を行った。

#### 【対象と方法】

対象は、喘息患者群（男性/女性= 10/13；平均年齢67.3歳；平均罹患年10.4年）、COPD患者群（16/0；74.8歳；7.27年）および対照群（8/4；72.3歳）。喘息群およびCOPD群より誘発喀痰を採取し、

細胞分画を確認した。また、遠心で得られた上清を用いて、抗エラスチン抗体の濃度をELISAにより測定した。また、上記3群の採血検体から血清を採取し、同様に抗エラスチン抗体の濃度を測定した。得られた喀痰および血清の抗エラスチン抗体濃度と臨床検査所見および患者背景との関連を、Mann-Whitney U検定またはカイ二乗検定、相関検定により統計学的解析を行った。

抗エラスチン抗体の標的であるエラスチンの肺内における分布を確認するため、肺組織を免疫組織染色法にて検討した。対象患者は、喘息またはCOPDを合併した肺癌患者の手術標本（非癌部位）および対照として喘息およびCOPDの合併のない脳梗塞で死亡した非喫煙者の剖検標本から得られた肺組織を用いた。

本研究は獨協医科大学埼玉医療センター生命倫理委員会で承認済みである（No. 1430, 19109）。

## 【結 果】

喀痰中抗エラスチン抗体は、喘息群（ $11.4 \pm 7.16 \mu\text{g/mL}$ ）において、COPD群（ $5.82 \pm 5.16 \mu\text{g/mL}$ ）よりも有意に高値（ $P < 0.01$ ）であった。また、血清中抗エラスチン抗体においても、喘息群（ $67.4 \pm 29.7 \mu\text{g/mL}$ ）において、COPD群（ $45.0 \pm 12.8 \mu\text{g/mL}$ ）または対照群（ $38.6 \pm 10.4 \mu\text{g/mL}$ ）よりも有意に高値（いずれも $P < 0.01$ ）であった。

喀痰中抗エラスチン抗体は、喘息群のみ喫煙指数（Brinkman Index）と有意な正の相関（ $r^2 = 0.218$ 、 $P < 0.05$ ）を認めたが、血清中では喘息群およびCOPD群ともに有意な相関は認めなかった。喀痰中の好酸球数や好中球数および喘息重症度、喘息フェノタイプにおいても、喀痰および血清中抗エラスチン抗体との関連は認めなかった。

免疫組織染色法では、気道上皮基底膜下にエラスチン発現を認め、COPDや対照者に比較し、喘息患者において発現は高度であった。

## 【考 察】

本研究では、COPDではなく、喘息患者において喀痰および血清ともに抗エラスチン抗体の上昇を認めた。純粋な喘息と抗エラスチン抗体を評価した研究論文は、本研究が初めてであり、過去の研究結果と比較できない。海外のCOPDに関する報告では、患者背景において末梢血好酸球が高値の研究も散見し、喘息の合併を十分に除外せず、画像の気腫化のみでCOPDと診断される場合も多いと推察される。COPDにおいて抗エラスチン抗体が高値と結論付けた研究では、喘息を合併していた可能性は排除できない。本研究では、これらの背景を考慮し、喘息とCOPDのオーバーラップは完全に排除し、喘息とCOPDを十分に鑑別して施行した。

喘息における抗エラスチン抗体の役割を解明するため、肺におけるエラスチンの分布を検討したところ、基底膜下に分布し、喘息患者において強い発現を認めた。基底膜下は、喘息において不可逆的な気道閉塞を起こす気道リモデリングを形成する部位であり、エラスチンはその構造物である結合組織の一つである。このため、抗エラスチン抗体が上昇する役割として次の2つが考えられた。① 抗エラスチン抗体が肺内エラスチンを標的にすることで気道リモデリングを抑制する可能性、② 抗エラスチン抗体と肺内エラスチンとの自己免疫性抗原抗体反応を介し、更に強い炎症が惹起され気道リモデリングが進行する可能性、の相反する役割が考えられた。本研究の後に施行した別の動物実験で

は、抗エラスチン抗体の中和により気道リモデリングは抑制されたため、抗エラスチン抗体の増加は、気道リモデリングの進行に寄与する可能性がある。

#### **【結 論】**

喀痰および血清中抗エラスチン抗体は、特に診断困難となる喫煙歴のある喘息とCOPDとの鑑別診断において、有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

### **論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨**

#### **【論文概要】**

気管支喘息（喘息）と慢性閉塞性肺疾患（Chronic Obstructive Pulmonary Disease）は、症候学的に鑑別困難な例があり、両者を正確に鑑別することができる検査方法やバイオマーカーの確立が求められている。COPDにおいて肺を破壊する自己抗体として注目されているのが抗エラスチン抗体であるが、喘息における抗エラスチン抗体を評価した研究発表はない。申請論文では、喘息およびCOPD患者の喀痰および血清中抗エラスチン抗体を測定し、両疾患の比較検討を行った。対象患者は、症状の安定している喘息患者（26人）、COPD患者（16人）、対照群（12人）である。喀痰および血清中抗エラスチン抗体は、共に喘息群においてCOPD群よりも有意に高値であった。喀痰中好酸球および好中球と抗エラスチン抗体との明らかな関連は認めず、喀痰中抗エラスチン抗体は、喘息群のみで喫煙指数（Brinkman Index: BI）と有意な正の相関を認めた。以上より、喘息における喀痰および血清中抗エラスチン抗体は、COPDに比較し有意に高値であり、また、喘息ではBIに比例し上昇するため、特に診断困難となる喫煙歴のある喘息とCOPDとの鑑別診断において、有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

#### **【研究方法の妥当性】**

獨協医科大学埼玉医療センター呼吸器・アレルギー内科に通院中で、症状が安定している喘息患者およびCOPD患者、呼吸器疾患を合併していない患者を対象に解析された。生命倫理委員会で承認を得、且つインフォームドコンセントも得ており、ガイドラインに即して取り扱っており、本研究方法は妥当なものである。本研究において、確定診断は重要な要素である。喘息とCOPDは症候学的に鑑別困難な例も多く、両者を合併する場合もある。診断には、呼吸器専門医が十分な検査を行い、複数回以上診察した後に確定診断を行ったため、診断の精度は高い。また、呼吸器疾患を合併していない対照群においても、呼吸器専門医において診断および組み入れがなされている。検体採取および処理、測定において、既知の確立された方法を用いて行われているため妥当である。統計解析は確立された統計手法を用いて有意差検定を行い、結論を導き出している。

#### **【研究結果の新奇性・独創性】**

これまで、COPDと抗エラスチン抗体に関する研究は、いくつか報告があるが、相反する結果もあり、一定の結論に至っていない。また、喘息における抗エラスチン抗体を評価した研究発表もない。これまで結論に至っていない分野および研究が行われなかった分野の研究に着手した点は新奇的である。COPDと抗エラスチン抗体の関連において、相反する報告がある理由は診断方法に問題があると

考え、他の呼吸器疾患を除外し、喘息またはCOPD単独の患者のみを組み入れた。その結果、抗エラスチン抗体は喘息で上昇し、COPDでは上昇しないことが判明した。喘息とCOPDは症候学的に鑑別困難な例も多く、COPDにおいて抗エラスチン抗体が高値であると報告した研究は、喘息の除外が十分でなかった可能性を指摘した。過去の相反する結果から問題点を見出し、それを解決する方法で進められた点は、独創性に優れた研究と評価できる。

#### **【結論の妥当性】**

申請論文では、既知の確立した方法で抗エラスチン抗体の測定を行い、解析も検体数および分布、目的に適した統計解析手法を用いて行った。そこから導き出された結論は、論理的、経験的に矛盾するものではなく、また、呼吸器学、アレルギー学の関連領域の知見を踏まえても妥当なものである。

#### **【当該分野における位置付け】**

喘息とCOPDは症候学的に鑑別困難な例が多く、検査機器に制約のある診療所では短期間での確定診断は困難である。このため、診断的治療を行いながら、確定診断まで数ヶ月を要する場合もあり、確定診断に至らない例もある。本研究では、喀痰および血液により診断に重要な情報を得られるため、診断学における進歩と評価できる。吸入ステロイドの普及により喘息のコントロールは大きく改善した。しかし、喘息の長期罹患により生じる気道リモデリングは、一度生じると改善することはなく、喘息のコントロールも悪化する。抗エラスチン抗体は、気道リモデリングが生じる基底膜下のエラスチンが標的と考えられ、今後、役割の解明により、気道リモデリングの抑制にも寄与する可能性がある。上記より、今後の喘息治療において、大いに役立つ意義深い研究であると位置付けられる。

#### **【申請者の研究能力】**

申請者は、呼吸器学、アレルギー学の理論を学び実践した上で、研究計画を立て、適切に本研究を遂行した。得られたデータを適確な統計手法を用いて解析を行い、貴重な知見を得ている。得られた研究成果は、喘息治療の新たな情報として優れた内容であり、申請者の研究能力は高いと評価できる。

#### **【学位授与の可否】**

本論文は質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士（医学）の学位授与に相応しいと判定した。

#### **（主論文公表誌）**

Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology 2021

DOI 10.12932/AP-010221-1052