

## 【41】

|         |   |
|---------|---|
| 氏 名     | 森 田 弘 子   |
| 学位の種類   | 博士（医学）  |
| 学位記番号   | 乙第806号  |
| 学位授与の日付 | 令和2年10月23日  |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項  |
| 学位論文題目  | Auto-antibody evaluation in idiopathic interstitial pneumonia and worse survival of patients with Ro52/TRIM21 auto-antibody<br>(特発性間質性肺炎患者における自己抗体保有率の評価およびRo52/TRIM21自己抗体陽性患者の生存率低値について) |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 矢 澤 卓 也<br>(副査) 教授 麻 生 好 正<br>教授 井 川 健  |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【背 景】

間質性肺炎（interstitial pneumonia：IP）の診断のために血清自己抗体の検査を行うことが推奨されている。一部のIP患者で自己抗体陽性となるが、膠原病の基準を満たさないことがあり、そのような膠原病の診断基準に合致しないIP患者は、特発性間質性肺炎と診断される。しかし同時に、これまでに提唱されている自己免疫的要素を加味した複数の異なる疾患分類としても呼称されることも多い。したがって、いまだ確立した疾患分類基準はないが、呼吸器の国際学会が提唱する最新の間質性肺炎診療ガイドラインでは、筋炎に関する自己抗体を測定することが推奨されている。近年膠原病に関係する新たな自己抗体が検査試薬を用いて測定できるようになった。Myositis panel test（MPT）は、11種類の筋炎関連抗体を一度に測定できる検査試薬であり、このキットを用いることで、これまで自己免疫的要素がないと診断されていた特発性間質性肺炎患者の中に自己免疫的要素を有する患者群の存在を新たに見出せる可能性がある。

#### 【目 的】

間質性陰影を呈し膠原病を合併していない患者の血清中筋炎自己抗体の頻度や生存率をMPTを用いた血清学的検査で明らかにすること。

#### 【対象と方法】

胸部CTで間質性肺炎像を呈する患者を対象とした。患者静脈血血清を採取しMPTキットにて、mi-2 $\beta$ 、Ku、PM-scl100、PM-scl75、Jo-1、SRP、PL-7、PL-12、EJ、OJ、Ro52の11項目の自己抗

体を測定した。ラインブロッド法 (EUROLINE Myositis Antigen Profile 3 (IgG) test (MPT) ; EUROIMMUN, Lubeck, Germany) で測定され、メーカー定義により2+を陽性とした。患者生存率は2年間追跡した。2群間の差は、 $\chi^2$ 乗検定を用いて解析し、連続変数の比較にはマン-ホイットニーU検定を使用した。 Kaplan-Meier分析は生存率を比較するために使用した。オッズ比 (OR) は95%の信頼区間 (CI) で計算され、 $p$ 値 $<0.05$ を有意差ありとし、 $p$ 値 $<0.1$ の場合は有意傾向ありとした。本研究はヘルシンキ宣言に従って行われ、患者からインフォームドコンセントが取得された。獨協医科大学の生命倫理委員会の承認を得て (nos. 2114 and R-9-2)、大学病院医療情報ネットワーク研究 (UMIN 32926) に登録された。

## 【結 果】

CTでIPと診断した285人の患者が解析対象となった。全285人の患者でMPTを測定したところ、MPT陽性は67人 (23.5%) であった。膠原病と診断された患者を除外すると、IP患者のうち20.2%でMPT陽性が認められた。膠原病を合併していないMPT陽性患者49人中29人 (59.2%) がRo52陽性であった。また、Ro52単独陽性群 (Ro52 mono) は17人、Ro52と他の抗体合併陽性群 (Ro52 overlap) は12人であり、Ro52 overlapではRo52+Jo-1とRo52+EJの合併が多く認められた。

肺関連死は、Ro52陽性患者29人中8人 (27.6%)、Ro52陰性患者20人中1人 (5%) と、Ro52陽性患者で多く認められ、Ro52 monoが6人、Ro52 overlapが2人であった。Ro52 monoとRo52 overlap間で肺関連死亡率に差があるか検討したが、統計学的な有意差はなかった。Ro52陽性と陰性患者において、抗核抗体 (anti-nuclear antibody : ANA) 力価による肺関連死を検討した。Ro52陽性患者の多くが低力価 (ANA $\leq$ 40) であったが、有意差は認められなかった。

Ro52陽性と陰性患者間で2年生存率を比較したところ、Ro52陽性患者で死亡リスクが多く認められた ( $p=0.0518$ , HR=3.78, 95 %CI 0.99-14.45)。次にRo52 mono、Ro52 overlap、Ro52陰性群 (Ro52 negative) の3群間において2年生存率を比較したところ、Ro52 monoはRo52 negativeより有意に生存率が低値であった ( $p=0.0220$ , HR=5.88, 95 %CI 1.29-26.75)。

## 【考 察】

膠原病の診断基準を満たさないIP患者のうち10~20%の患者が血清学的異常を示すといわれている。本研究では膠原病の診断基準を満たさないIP患者のうち20.2%でMPT陽性が認められた。また、MPTの11種類の筋炎自己抗体のうち、Ro52陽性が最も多く認められ、そのうちRo52 monoが最多であった。Ro52自己抗体は特発性炎症性筋炎での陽性頻度が高いとされるが、他の膠原病疾患でも陽性となることが報告されており、Ro52陽性患者は多彩な臨床症状が報告されている。したがってRo52陽性患者に特異的な症状はないが、本研究におけるRo52陽性患者にはIP以外の症状として四肢の浮腫を呈する患者が存在しており、浮腫は診察時に気づかれやすいことが反映されている可能性が考えられた。胸部CTパターンではf-NSIPやc-NSIPの頻度が高かった。これらのCTパターンは免疫抑制剤治療に対する反応性が比較的良好とされているが、本研究で明らかとなったRo52陽性患者の2年生存率がRo52陰性患者より有意に低いことを考慮すると、たとえf-NSIPやc-NSIPでもRo52陽性であれば治療反応性が悪く肺関連死のリスクがあることに留意する必要があると考えられた。

肺関連死亡者数はANA $\leq$ 40、すなわち抗核抗体陰性と判断されてしまう患者で最も多く認められた。しかし肺関連死亡率とANA力価の統計上の有意差は認められなかった。理由として、Ro52は細胞質全体が染色される自己抗体であり、抗核抗体の検査ではRo52陰性となることがあるためと考えられた。従って、ANA力価が低値であっても、Ro52陽性IP患者では臨床経過に注意することが重要であると考えられた。

Ro52と自己免疫性の炎症惹起機序については、Ro52はRING依存的なE3-ubiquitinリガーゼ活性を有しており、炎症誘発性サイトカインの産生を抑制する。Ro52シグナルの抑制は、IL-17産生性炎症の誘導に関与していると報告されている。Ro52ノックアウトマウスでは、IL-23/IL-17経路が活性化され、臓器炎症や全身的自己免疫を誘導する。Ro52ノックアウトマウスの肺炎についての報告はないが、本研究で測定したRo52陽性IP患者の血清IL-17A濃度は上昇していなかった（data not shown）。IL-17がIPに関与しているかどうかについては、肺組織や洗浄液など肺局所の炎症を反映するサンプルを用いた測定を検討する必要があると考えられた。

## 【結 論】

膠原病を合併しないIP患者のうちMPT陽性は49人（17.2 %）であり、そのうちRo52陽性患者は、29人と半数以上を占め2年生存率はRo52陰性患者より低いことが明らかになった。本研究は、Ro52抗体の検索が、膠原病を合併しないIP患者やANA低力価のIP患者において、重症化のリスク評価に有用であることを明らかにした。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

### 【論文概要】

Myositis panel test (MPT) は、Mi-2 $\beta$ 、Ku、PM-scl100、PM-scl75、Jo-1、SRP、PL-7、PL-12、EJ、OJ、Ro52の11種類の筋炎関連抗体を一度に測定できる検査試薬である。MPTを用いることで、これまで膠原病の診断基準を満たさなかった特発性間質性肺炎患者の中に、自己免疫的要素を有する患者群の存在を新たに見出せる可能性があると考えた。申請論文では、間質性肺炎（interstitial pneumonia：IP）を呈し膠原病と診断されていない患者の血清中筋炎自己抗体を測定し、各抗体の頻度や生存率について検討した。

結果、CTでIPと診断した患者285人のうちMPT陽性は67人（23.5 %）であり、膠原病と診断された患者18人を除外すると、MPT陽性は49人（20.2%）であった。そのうちRo52陽性が29人（59.2%）と最も多い抗体であり、Ro52単独陽性群（Ro52 mono）は17人、Ro52と他の抗体合併陽性群（Ro52 overlap）は12人であった。肺関連死は、Ro52陽性29人中8人（27.6%）、Ro52陰性20人中1人（5%）と、Ro52陽性患者で多く認めた。抗核抗体（anti-nuclear antibody：ANA）力価によりRo52陽性と陰性で肺関連死を検討したところ、Ro52陽性患者の多くがANA 40倍以下の低力価であったが、統計学的有意差は認められなかった。2年生存率をRo52 mono、Ro52 overlap、Ro52陰性の3群間において比較したところ、Ro52 monoはRo52陰性より有意に低値であった。

本研究により、膠原病を合併しないIP患者やANA低力価のIP患者において、Ro52抗体の検索が重

症化のリスク評価に有用であることを明らかにした。

#### **【研究方法の妥当性】**

申請論文は豊富な症例数を用い、ラインブロッド法 (EUROLINE Myositis Antigen Profile 3 (IgG) test (MPT) ; EUROIMMUN, Lubeck, Germany) により測定された11種類の抗体を適切な対象群に設定し、客観的に統計解析を行っており、本研究方法は妥当なものである。

#### **【研究結果の新奇性・独創性】**

過去にRo52とIPに関連した報告は散見されるが、ヒトにおいて膠原病を除外して検討された報告はほとんどない。申請論文ではMPTを測定したIP患者から膠原病患者を除外することにより、膠原病の種類や予後に左右されずに各抗体の陽性率やRo52抗体陽性者の生存率について言及することができた。以上から、本研究は新奇性・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、多数の症例を適切な対象群の設定の下、確立された検査方法と統計解析を用いて、Ro52の陽性率や生存率を解析している。そこから導き出された結論は論理的に矛盾するものではなく、関連領域における知見をふまえても妥当なものである。

#### **【当該分野における位置付け】**

申請論文では、これまで膠原病の診断基準を満たさず特発性間質性肺炎と診断されていた患者群からMPTの測定により自己免疫的要素を有するIP患者群の存在を見出し、そのうちRo52抗体陽性がIPの重症化の指標として役立つことを明らかにし、大変意義深い研究と評価できる。

#### **【申請者の研究能力】**

申請者は、呼吸器学やアレルギー学の理論を学び実践した上で、作業仮説を立て、実験計画を立案した後、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌に掲載が承認されており、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、独創的で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）の学位授与にふさわしいと考えられた。

#### **（主論文公表誌）**

Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition

(67 (2) : 199-205, 2020)