

## 主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：川崎 達也

専攻分野：内科学(リウマチ・膠原病・アレルギー内科)

指導教授：川畑 仁人

主論文の題目：

Serum Levels of Caspase-cleaved Cytokeratin-18 in Interstitial Lung Disease Associated with Rheumatoid Arthritis, Dermatomyositis, and Polymyositis

(間質性肺炎合併の関節リウマチ、皮膚筋炎および多発性筋炎における血清カスパーゼ切断サイトケラチン 18 値の検討)

共著者：

Mitsuru Imamura, Hiroko Nagafuchi, Shotaro Suzuki, Mariko Mouri, Yoshiki Ishizaki, Keiichi Sakurai, Machiko Mizushima, Kumiko Tonooka, Yukiko Takakuwa, Seido Ooka, Takahiko Sugihara, Kimito Kawahata

緒言

間質性肺疾患 (interstitial lung disease: ILD) の病態に関わる機序の詳細は不明とされている。特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonias: IIPs) ではその線維化に対して内皮細胞のアポトーシスの関与が示唆されているが (J Pathol.

2002;198:388- 96.)、結合組織病 (connective tissue disease: CTD) に伴うILD (CTD-ILD) に対するアポトーシスの関与については不明である。CTD-ILDに関する既存のバイオマーカーは特発性肺線維症

(idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) と共通で線維化を反映するものであり、免疫病態を反映したバイオマーカーは存在していない。そこで肺胞上皮細胞におけるアポトーシスの関与を想定し、CTD患者血清中のカスパーゼ切断サイトケラチン18 (caspase-cleaved cytokeratin 18 fragment: M30) の測定を行った。サイトケラチン18は上皮細胞特異的な中間径タンパクであり、アポトーシスの過程でカスパーゼにより切断されることでM30が生じる。その断端をエピトープとする捕捉抗体を用

いて定量的にその濃度を測定できるため、本研究で血清アポトーシスマーカーとして用いた。

## 方法・対象

2018年1月から2022年5月までに当科を受診した関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA) の患者、および2012年1月から2022年5月までに当科を受診した多発性筋炎または皮膚筋炎 (polymyositis or dermatomyositis: PM/DM) の患者を対象とした。RA患者52名とPM/DM患者35名からなる87名の血清M30濃度を酵素結合免疫吸着法で測定した。臨床情報は、血清採取後直ちに収集し、ILDの合併は医療記録または放射線科医によって読影された胸部レントゲンまたは胸部computed tomography (CT) の所見に基づいて定義された。呼吸機能検査 (pulmonary function test: PFT) の結果は原則的に血清M30測定時のものを用いるが、血清M30測定時にPFTのデータがない場合に限りRAおよびPM/DMと診断された以後の任意の時期に行われたPFTのデータを使用した。

疾患をRAおよびPM/DMに群別し、さらにそれぞれを間質性肺炎合併群、非合併群の二群に分類した。血清M30値を含む連続変数の比較には、Mann-Whitney U検定を使用した。3つ以上の変数の差の検定には、Kruskal-Wallis検定とSteel-Dwass post-hoc検定を使用した。連続変数間の相関を調べるには、Spearmanの相関係数を使用した。統計学的な有意水準を0.05と設定した。なお、本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会 (承認977号) の承認を得ている。

## 結果

RA患者52名とPM/DM患者35名からなる87名の患者のうち39名 (RA 17名、PM/DM 22名) にILDが合併していた。血清M30値の中央値 (四分位範囲) は、ILD合併のRA (RA-ILD) で312.6 (225.7-418.4) U/L、ILD非合併のRA (RA non-ILD) で153.2 (120.9-200.4) U/Lだった。RA-ILDの血清M30値はRA non-ILDと比較して、有意に高値だった。ILD合併のPM/DM (PM/DM-ILD) では234.4 (151.1-314.6) U/L、ILD非合併のPM/DM (PM/DM non-ILD) では108.2 (91.3-156.4) U/Lであった。PM/DM-ILDの血清M30値はPM/DM non-ILDと比較して、有意に高値だった。また、血清M30値は、パーセント努力性肺活量 (percent predicted forced vital capacity: %FVC) と有意な負の相関があった (相関係数  $-0.37$ )。ROC曲線解析を行い、CTD-ILDを検出する血清M30値のカットオフ値は211 U/Lであり、感度85.4%、特異度66.7%であった。ILD治療後の血清が入手可能だったRA 3例、PM/DM 5例で治療前後の血清M30値を比較したところ、治療前の血清M30値に比べて治療後の血清M30値は有意に低下した。

ILDを胸部CTの放射線科医の読影に基づいて組織性肺炎、非特異的間

質性肺炎（NSIP）、通常の間質性肺炎（UIP）に分類すると、NSIPとUIPの患者は健常対照者と比較して血清M30値が有意に高かった。

### 考察

本研究の結果から、CTD-ILDでは肺胞上皮細胞におけるアポトーシスの関与が示唆され、血清M30値はその免疫病態を反映するバイオマーカーとなりうる可能性が示唆された。IPFでは、肺組織の電子顕微鏡所見やTdT-mediated dUTP nick-end labeling（TUNEL）染色の所見からアポトーシスを認めるとする報告があるが（J Pathol. 2002; 198: 388- 96., Am J Respir Crit Care Med. 2010;182:73- 82.）、既存の報告で血清M30は上昇しておらず（Respir Med. 2010; 104: 1722- 28.）、組織における炎症も乏しく抗炎症治療の効果も乏しい。血清M30は抗炎症治療が有効であるCTD-ILDの免疫・炎症に関する病態を反映したバイオマーカーとして、その同定や活動性などの判断に役立つ可能性がある。本研究は血清M30値がCTD-ILDの検出マーカーとなりうる可能性を示したが、間質性肺炎の重症度や予後と関連する%FVCと逆相関し、治療とともに低下する可能性も示している。呼吸機能検査の時期が必ずしも診断時ではない点、治療前後を検討した症例数が少ない点が問題でありさらなる検討の余地はあるが、CTD-ILDの疾患活動性マーカーとして有用である可能性もある。一方、当研究の限界として、RAとPM/DM以外のCTDについて検討していない点、組織学的な検討と並行していない点が挙げられる。血清マーカーから病態を推測しているに過ぎず、肺内のアポトーシスの程度や起源となる細胞の種類、アポトーシスと線維化との関連について十分な考察を行うことは困難であった。他のCTDを含めた二次性間質性肺炎での検討や組織学的な検討を併せて行うことが望まれる。

### 結論

CTD-ILDの線維化には肺のアポトーシスが関与していることが示唆された。血清M30値はCTD-ILDの検出および活動性マーカーとなりうることが示唆された。