HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	強皮症並びに関節リウマチの病態評価および病態解明に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	蜷川, 慶太
Description	配架番号：2708
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14970号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85846
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	NINAGAWA_Keita_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　蜷川　慶太

学 位 論 文 題 名

強皮症並びに関節リウマチの病態評価および病態解明に関する研究

(Research on evaluation and elucidation of the pathogenesis of scleroderma and rheumatoid arthritis)

全身性強皮症 (SSc) は各臓器の慢性的な線維化を特徴とし、臓器病変の一つとして肺動脈性肺高血圧症 (SSc-PAH) を呈し、予後は特に不良かつ難治である。診断の遅れや、左心疾患の合併で病態の評価が難しいことが原因に挙げられる。また、関節リウマチ (RA) は、慢性進行性の関節破壊を特徴とする自己免疫疾患である。滑膜線維芽細胞 (SFs) は、高いオートファジー活性を有し、病態の中心的な役割を果たすが、オートファジーがどのような調整を受けているかは不明である。今回、我々はこれらを解明するべく研究を行った。

第一章 境界型強皮症性肺高血圧症の評価方法に関する研究

【背景と目的】近年、SSc-PAH 患者に対する早期の治療介入で予後が改善する可能性が示され、診断基準となる平均肺動脈圧 (mPAP) の引き下げが提唱されている。本研究では、mPAP>20mmHg となる強皮症患者の非侵襲的なスクリーニング法の作成を目的とした。

【対象と方法】2010~2018 年に当院で右心カテーテル検査 (RHC) を施行した SSc 患者 58 名で、自己抗体、血漿 BNP 値、血清尿酸値、右軸偏位、努力性肺活量 (FVC) 一酸化炭素拡散能/(DLco)、三尖弁逆流速度を評価した。各マーカーで ROC 曲線を用いて、mPAP>20mmHg または mPAP≧25mmHg を予測する場合の正診能を比較した。また心臓核磁気共鳴画像法 (MRI) を追加した場合の正診能を検討した。

【結果】mPAP≧25mmHg のときに匹敵して、FVC/DLco と右軸偏位の mPAP>20mmHg を予測する特異度はそれぞれ 72%、96%と高かった。それらのオッズ比に基づき重み付けをして mPAP>20 予測のアルゴリズムを作成すると、AUC が 0.87、感度 90%、特異度 70%となった。心臓 MRI を加えると、AUC が 0.89、感度 93%、特異度 67%となった。

【結論】強皮症患者の mPAP>20mmHg を予測する新たなアルゴリズムを作成した。FVC/DLco や右軸偏位の重み付け、心臓 MRI の追加で予測精度が向上する可能性が示唆された。

第二章 強皮症性肺動脈性肺高血圧症患者における左心疾患の評価

【背景と目的】SSc-PAH はしばしば左心疾患を合併し、治療抵抗性である。SSc の心筋障害では拡張機能障害により、駆出率の保たれた心不全 (HFpEF) として認められる。左心疾患による肺高血圧症 (Group 2 PH) は肺動脈楔入圧 (PAWP) ≧15mmHg で定義されるが、早期発見のための新たなアルゴリズムが最近提唱された。本研究では、このアルゴリズムを用いて SSc-PAH 患者における左心疾患の合併を評価した。

【対象と方法】2010~2019 年に当院で RHC を受けた 76 人の SSc 患者で、年齢、代謝・心血管疾患の有無、心電図、心臓超音波検査 (TTE) を評価し Group 2 PH らしさで、3 群に分類した。臨床で実際に左心疾患を合併した患者数と比較し、アルゴリズムの SSc-PAH における妥当性を評

価した。また、RHC や TTE、心臓 MRI などの画像モダリティーにおける各パラメーターを HFpEF を合併した患者としていない患者の間で、ROC 曲線や多変量解析を用いて比較を行った。

【結果】76 名中 42 名の患者は PH (mPAP>20mmHg）で、左心室駆出率が正常 (≧50%) であった。うち 10 名がフラミンガム基準でも HFpEF と診断された。ROC 曲線で HFpEF の合併を予想するカットオフを決定し、ロジスティック回帰分析でも評価すると、TTE と心臓 MRI でそれぞれ評価した左心房径 (LAD; cut off; 42mm, OR[95%CI]=14.5[2.55-82.2], p=0.003.) と左心室拡張末期容積指数 (LVRMI; cut off: 57.1ml/m^2, OR[95%CI]=20.0[1.83-218.0]) は、PAWP (cut off: 19, OR[95%CI]=13.4[1.01-177.0])よりも HFpEF の合併症を検出するための予測値が有意に高かった。

【結論】TTE と心臓 MRI による形態学的評価は、PAWP による血行動態学的な評価よりも、SSc および PH 患者における左心疾患の存在をより反映すると考えられる。

第三章 関節リウマチの滑膜線維芽細胞における JAK-STAT 経路によるオートファジー制御機序の解明

【背景と目的】我々の過去の研究で、オートファジーが亢進した RA の SFs ではシトルリン化ビメンチン (cVIM)が増加し、MHC クラス II (HLA-DR) と相互作用し、オートファジーは RASFs における免疫学的特徴に密接に関係していると考えられた。しかし、詳細な機能などは不明な部分も多い。一方、JAK-STAT 経路は多様なサイトカインの伝達に関わるため、オートファジーへの関与も考えられた。本研究では、SFs におけるオートファジーの制御における JAK1 の役割を調べた。

【対象と方法】当院で人工膝関節置換術を受けた RA 患者の滑膜から SFs を分離・培養し、IFN-γ や、飢餓刺激、プロテアソーム阻害薬である MG-132 でオートファジーを誘導した。JAK1 の選択的阻害薬である Upadacitinib の投与の有無で、LC3B や、Beclin-1、ATG5、ATG7 などのオートファジー関連遺伝子や蛋白質を、ウェスタンブロッティング (WB) 法やリアルタイム PCR 法で評価した。cVIM や HLA-DR の発現を免疫細胞染色法で評価し、これらの共発現を共免疫沈降法と近接ライゲーションアッセイで評価した。また、RA SFs における IL-6 の産生を、培養上清の ELASA 法で評価した。

【結果】WB 法では、飢餓刺激を加えた SFs に Upadacitinib を添加すると、LC-3II/β アクチン比は有意に低下し（p = 0.016, n =7、リアルタイム PCR 法でも、BECN1 (p = 0.01, n = 6)、ATG5 (p = 0.03, n = 6)、ATG7 (p = 0.02, n = 6) と各遺伝子で有意に低下した。他の刺激条件でも同様であった。免疫細胞染色 (n = 1) では、IFN-γ と飢餓刺激で刺激を行った SFs では cVIM と HLA-DR の発現は亢進し、Upadacitinib の添加で低下した。cVIM と HLA-DR の共局在は共免疫沈降法において、飢餓刺激と IFN-γ による刺激で亢進し、Upadacitinib の添加で低下した (p=0.03, n=6)。近接ライゲーションアッセイでも同様であった。また、IFN-γ による刺激で培養上清中の IL-6 は増加し (p =0.017, n =3)、Upadacitinib の添加で抑制された (p =0.02, n =5)。

【結論】オートファジーは JAK-STAT 経路により調節され、その阻害で cVIM の生成や cVIM と HLA-DR との共局在、IL-6 の産生も制御された

SSc-PAH の早期例の検出には FVC/DLco や右軸偏位が有用で、左心疾患の早期例の検出には複数のモダリティーによる形態学的評価が重要であった。RA に関する研究の結果では、オートファジーが JAK-STAT 経路による調節を受けていることが明らかとなり、病態の解明に大きく寄与するものと考えられる。