



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                         |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | 自己免疫疾患の治療反応性予測因子と新規バイオマーカーの探索 [論文内容及び審査の要旨]                                                             |
| Author(s)           | 菅原, 正成                                                                                                  |
| Description         | 配架番号 : 2765                                                                                             |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                   |
| Degree Name         | 博士(医学)                                                                                                  |
| Dissertation Number | 甲第15447号                                                                                                |
| Issue Date          | 2023-03-23                                                                                              |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/89955">https://hdl.handle.net/2115/89955</a>                       |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                         |
| File Information    | SUGAWARA_Masanari_review.pdf, 審査の要旨                                                                     |



## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称      博士（医 学）      氏 名   菅原 正成

主査 教授 村上 正晃  
審査担当者   副査 教授 小林 弘一  
副査 准教授 永井 利幸

### 学 位 論 文 題 名

自己免疫疾患の治療反応性予測因子と新規バイオマーカーの探索

(Explorations of predictors and new biomarkers in the treatment for autoimmune diseases)

本論文は、自己免疫疾患における治療予測因子の探索として臨床パラメーターとバイオマーカーの2つの側面に着目し、「階層クラスター分析を用いた関節リウマチ (RA) 患者におけるヤヌスキナーゼ (JAK) 阻害薬無効 (JAKis-IR) の予測因子に関する研究」と「骨髄系細胞における新規マイクロプロテイン MKMP78 の発現評価」の研究結果について報告した。

審査にあたり、まず副査の永井准教授より、JAKis-IR の予測因子の解析手法として単変量解析や多変量解析による同定について質問があった。申請者は階層クラスター分析の前に単変量・多変量解析を行い、本論文で指摘した自己抗体陰性 (Seronegative) が JAKis-IR の有意な因子として抽出されたが、Seronegative が単一で JAKis-IR となる事を報告した既報は無いのに Seronegative の RA 患者にも JAK 阻害薬の有効性が示されている事を踏まえ、申請者は Seronegative 以外に何らかの複数の因子で特徴づけられる患者群において JAKis-IR が高リスクとなる事を予想し、階層クラスター分析による網羅的な解析を行った、と回答した。またこれに関連して、本論文は特定の因子の抽出ではなく複数の因子で特徴づけられる患者群を抽出した研究であり、研究の目的として「JAKis-IR の予測因子の同定」という表現は適切ではなく、「JAKis-IR の患者像の抽出」という表現への修正についての指摘があった。また JAKis-IR の定義のひとつであった JAK 阻害薬無反応の評価基準に関する既報や参考文献について質問があった。申請者は指摘された内容に沿い目的の修正を行う、JAK 阻害薬無反応の評価基準は既報に存在するものを使用しており、参考文献について論文に追記する、と回答した。次に MKMP78 の発現評価について、タンパク発現の評価で行ったウエスタンブロッティング (WB) 及び免疫染色 (IF) と、フローサイトメトリーの結果で相違が生じた原因について質問があった。申請者は大きく2つの要因の可能性を挙げ、ひとつめに MKMP78 が恒常的な細胞外への分泌や分解により細胞内のタンパク量が僅少となり WB や IF での検出が困難であった可能性と、ふたつめに WB や IF の実験系が MKMP78 の検出に最適化されていなかった可能性を指摘し、今後の検討が必要であると回答した。

次に副査の小林教授より、階層クラスター解析で有意差を認めた解析因子のうち、血清 CRP 値が A 群で低く D 群で高値であり、JAK 阻害薬開始前の炎症のレベルの違いが JAKis-IR の差に影響した可能性について質問があった。申請者は血清 CRP 値も重要な評価項目のひとつであるが、血清 CRP 値が比較的低い RA 患者においても罹患関節や患者評価の悪化が明らかな状況では既存

治療無効と判断して JAK 阻害薬を導入する事はある、JAKis-IR の定義も JAK 阻害薬開始直前の疾患活動性からの変化の推移を評価する内容とした、と回答した。また JAKis-IR の研究の発展形として、本研究で抽出された因子を用いたスコアリング等で患者を層別化し、JAKis-IR のリスク評価が可能になれば、より臨床への応用が期待できると指摘した。次に MKMP78 の発現評価について、まず MKMP78 がどのような経緯で着目されたタンパクなのかについて質問があった。申請者はヒト腎臓のリボソームフットプリンティングの結果とループス腎炎患者の腎組織の RNA シーケンスデータとの比較で発現上昇が指摘され着目した分子である、と回答した。次に骨髓系細胞で MKMP78 の発現に着目した経緯について質問があった。申請者は MKMP78 遺伝子のシングルセル解析でヒト腎臓だけではなく骨髓系細胞でも発現が予想され、公共データベースでも単球やマクロファージでの発現上昇が示唆された事を参考に研究対象とした、と回答した。これらの質疑応答の後、MKMP78 の発現評価の研究はタンパク発現結果の相違など曖昧かつ不確定な部分が多く、現段階でマクロファージにおいて MKMP78 タンパクの発現が上昇したと結論付けるのはできないのではないかと質問があった。申請者は MKMP78 タンパクの発現に関しては一切の既報が無く、結果の相違に関しても仮説に留まる部分が多く、指摘の内容の通り結論の修正が必要と考える、と回答した。

最後に主査の村上教授より、まず JAKis-IR の予測因子の研究に関連して、臨床で Seronegative な多関節炎の患者に対し RA と診断する根拠について質問があった。申請者は Seronegative であっても他の鑑別疾患が除外でき、関節エコーや MRI で客観的に滑膜炎が証明できれば RA と診断する事は可能であり、全ての研究対象患者は診断医こそ異なるものの、同じ分類基準に従い RA と診断された患者である、と回答した。また RA 関連自己抗体の一種である抗シトルリン化タンパク抗体 (ACPA) と間質性肺疾患 (ILD) の発症のメカニズムについて質問があった。申請者は喫煙などの外部刺激等を起因として肺組織においてシトルリン化タンパクに対する自己抗体が産生され RA を発症する病態は既に報告されており、肺組織において ACPA 由来の免疫系の賦活化に伴う線維化が生じる事で RA 関連 ILD の発症メカニズムは解釈可能である、と回答した。次に MKMP78 タンパクの発現評価について、小林教授の指摘と同様に現時点では WB 及び IF とフローサイトメトリー間でのタンパク発現結果の相違が論理的に説明する事ができず、本研究の結論として述べられていたマクロファージにおける MKMP78 タンパクの発現上昇という論調は見直しが必要である指摘があり、申請者は今後の展望を含め結論の見直しを行う、と回答した。

申請者は上記の質問に対し、専門領域の文献的見解や臨床経験を混じえて回答した。この論文は、自己免疫疾患における臨床上の問題点を起点として、治療反応性の予測因子の探索というテーマのもと、第一章の RA 患者における JAKis-IR の予測因子の解析は、病態生理を踏まえながら特定の患者群を提示した点で高く評価される。第二章の新規マイクロプロテイン MKMP78 は未解明な部分が多い新規分子であり、本論文における考察や結論は再考が必要であるが、今後の研究の発展が期待される内容と考えられた。審査委員一同は、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) の学位を授与されるのに十分な資格を有すると判定した。