



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	関節リウマチ患者の合併症評価ならびに病態解明に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	吉村, 大
Description	配架番号 : 2794
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15476号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/90023">https://hdl.handle.net/2115/90023</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	YOSHIMURA_Masaru_abstract.pdf, 論文内容の要旨



# 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 吉村 大

## 学 位 論 文 題 名

関節リウマチ患者の合併症評価ならびに病態解明に関する研究

(Research on evaluation of complications and elucidation of pathophysiology in patients with rheumatoid arthritis)

関節リウマチ (RA) は主として関節滑膜を病変の首座とする全身性炎症性疾患である。慢性かつ持続的な滑膜の炎症に伴い同組織の肥厚・絨毛組織の増殖が起こることで骨・軟骨が破壊され不可逆的な関節機能障害に至り、日常生活動作の障害や生活の質の低下の原因となる。近年、RA を早期に診断し疾患活動性の評価を行いながら早期から積極的に治療を行うことの意義が注目されるとともに、TNF 阻害薬や IL-6 阻害薬などの生物学的製剤や JAK 阻害薬に代表される分子標的型抗リウマチ薬が登場したことにより RA の治療は劇的な進歩を遂げている。このため、現在ではこれまでと比べ多くの患者が良好な経過をたどることとなったが、一方で依然として問題も多く残されている。本研究において、我々は RA 患者における静脈血栓塞栓症 (VTE) とニューモシスチス肺炎 (PCP) という予後を左右する2つの重大な合併症に関する臨床研究と、病態解明に関する基礎研究を行った。

### 第一章 関節リウマチ患者における合併症に関する臨床研究

#### 第一節 関節リウマチ患者における疾患活動性と静脈血栓塞栓症発症との関連性

【目的】 RA 患者における VTE の臨床的特徴および危険因子を明らかにする。

【方法】 2010 年から 2019 年に北海道大学病院を受診し、2 年以上経過した RA 患者における VTE の有病率を後方視的に検討した。VTE と関連する因子を同定するため、VTE 発症例 (VTE 群) 26 例に対して VTE を発症していない RA 患者 (非 VTE 群) 260 名を密度サンプリングで抽出し、多変量ロジスティック回帰分析により解析を行った。

【結果】 単変量条件付きロジスティック回帰分析により、高齢 ( $P < 0.0001$ , Odds Ratio [OR] 1.08, 95% Confidence Interval [CI] 1.04-1.14), BMI ( $P = 0.001$ , OR 1.17, 95% CI 1.06-1.31), RA 関連肺疾患 ( $P = 0.002$ , OR 2.10, 95% CI 1.33-3.30), グルココルチコイドの使用 ( $P = 0.001$ , OR 2.09, 95% CI 1.34-3.51) が VTE 発症と有意に関連していた。さらに、VTE 群では、time-averaged DAS28CRP が有意に高かった ( $P < 0.0001$ , OR 3.25, 95% CI 1.94-6.12)。多変量ロジスティック回帰分析においても、time-averaged DAS28CRP は VTE 発症と有意に関連していた ( $P = 0.0001$ , adjusted OR 3.40, 95% CI 1.77-7.85)。

【結論】 疾患活動性は RA 患者における VTE の主要な危険因子として同定され、臨床的寛解の持続は VTE リスクの低減に有益であることが示唆された。

#### 第二節 関節リウマチ患者のニューモシスチス肺炎に対するスルファピリジンの一次予防効果

【背景と目的】 PCP は *Pneumocystis jirovecii* を起因菌として、RA 患者を含む免疫抑制状態の患者に発症する重大な日和見感染症である。近年、発症予防の第一選択薬として使用されるスルファメトキサゾール/トリメトプリムと同様の構造を有する抗リウマチ薬 (DMARDs) であるサラゾスルファピリジン (SASP) の PCP 発症予防効果が示唆されている。本研究は、RA 患者における PCP の一次予防としての SASP の可能性を検討することを目的とした。

【方法】 2006 年から 2021 年に当院に通院歴のある患者のうち PCP の既往ならびに SASP 以外の PCP

の予防薬の投与歴がない RA 患者を対象とした。DMARDs の投与を開始または増量された時点から 1 年間を治療エピソードと定義し、その期間における PCP 発症率を評価した。全ての治療エピソードをベースライン時における SASP 投与の有無によって SASP 群と対照群の 2 群に分類し、2 群間の発症率を修正ポアソン回帰モデルにより評価した。PCP の診断は、臨床的特徴、特徴的な X 線所見、血清  $\beta$ -D-グルカン値の上昇、喀痰 PCR 陽性、および細胞病理検査の有無に基づき行った。

【結果】 594 名の RA 患者を対象に 848 回の治療エピソードが登録され、SASP 群 181 エピソード、対照群 667 エピソードであった。850.6 人年の観察期間中に 21 例が PCP 患者を発症し、3 例 (14%) が PCP により死亡した。SASP 群では PCP 発症は見られなかった。多変量修正ポアソン回帰分析の結果、PCP の 1 年間の発症率は SASP 投与により有意に減少した ( $P = 0.01$ , risk ratio = 0.05; 95%CI 0.00-0.47)。

【結論】 本研究により、PCP に対する SASP の予防効果が検証された。この結果は、今後の SASP 使用の選択肢の幅を広げることが示唆される。

## 第二章 オートファジーおよびオルガネラ間相互作用に着目した抗シトルリン化タンパク質抗体産生機序の解明

【背景と目的】 RA は関節滑膜を病変の首座とする全身性炎症性疾患である。抗シトルリン化ペプチド抗体 (ACPA) は RA において特異性が高い自己抗体であることが広く知られているが、その対応抗原であるシトルリン化タンパク質に対して自己免疫を示す機序や RA の発症メカニズムに関しては依然として不明な点が多い。我々の先行研究において、RA 患者の滑膜線維芽細胞 (SFs) (RA-SFs) はオートファジーの亢進によりその細胞内でシトルリン化ビメンチン (cVIM) が増加し、MHC クラス II (HLA-DR) と共局在することが認められており、オートファジーと RA の病態形成との関連が示唆されている。

本研究は RA-SFs におけるビメンチン (VIM) のシトルリン化ならびに cVIM の抗原提示に対するオートファジーの関わりを明らかにし、ACPA の産生機序を解明することを目的とした。

【対象と方法】 北海道大学病院整形外科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、飢餓刺激やプロテアソーム阻害薬である MG-132 によりオートファジーを誘導した。オートファジーの一連のプロセスにおいて、どの時点で VIM がシトルリン化されるのかを検証するため、オートファジー阻害薬であるクロロキシン (CQ) による刺激ならびにオートファジー関連遺伝子である syntaxin17 (STX17)、p62 のノックダウンの有無によって cVIM を含むシトルリン化タンパク質の産生量に差が見られるかどうかをウエスタンブロッティング法、免疫染色によって確認した。また、これらのノックダウン細胞において cVIM-MHC クラス II 結合の影響を検証するために、オートファジーを誘導した後の cVIM-MHC クラス II 結合を proximity ligation assay や immunoprecipitation により定量し、こちらもノックダウン細胞とコントロール細胞で比較した。

【結果】 無刺激と比べて CQ 刺激により cVIM の産生が増加することが示され、オートファゴソームとリソソームの融合に先立って cVIM の産生が増加していることが示唆された。また、STX17 ノックダウン細胞においても、cVIM は MHC クラス II と共局在を示しており、cVIM の産生ならびに MHC クラス II との共局在がオートファゴソーム形成の段階で生じていることが示唆された。次に、p62 をノックダウンした SFs で同様に cVIM の産生量を確認した。コントロールに比してノックダウン細胞で飢餓刺激により cVIM の産生量の低下が認められたが、今回の検討では有意な差を認めなかった。

【結論】 本研究において、RA-SFs ではオートファゴソームとリソソームとの融合に先立ってタンパク質のシトルリン化が生じていることが示された。また、今回の検討においては p62 とシトルリン化の間に有意な関連は示されなかった。

RA の合併症評価において、RA 患者における血栓症発症には疾患活動性の持続が有意に関連していた。また、PCP 発症の一次予防に SASP の内服が有用である可能性が示された。

RA の病態評価に関する研究では、RA-SFs において cVIM はオートファゴソームがリソソームと融合する前にシトルリン化を受けていることが明らかとなった。