

CD68+/CD163+マクロファージのmiRNA, mRNAの網羅的解析を用いた間質性肺炎合併顕微鏡的多発血管炎の新規バイオマーカーの探索

大阪医科薬科大学附属病院リウマチ膠原病内科・助教 松田 翔悟



【研究の背景と目的】

顕微鏡的多発性血管炎（MPA）は小型血管に炎症を起こし、出血や血栓を形成することで血流障害や壊死を生じる全身性の自己免疫疾患である。日本人のMPA患者は肺病変である間質性肺炎（ILD）を高頻度に合併する。ILDは治療抵抗性で、進行すると呼吸不全をきたす予後不良な臓器病変である。しかし、MPA-ILD患者の病態は未だ十分解明されておらず、予後を予測するバイオマーカーも明らかではない。

申請者はこれまでの研究で臨床データ、血清サイトカインプロファイルを用いたMPA-ILD患者における予後不良因子について、報告してきた。（Matsuda S, et al. Sci Rep. 2021. Matsuda S, et al. J Rheumatol. 2022）その中で、ILD進行の病態機序として肺胞内CD68+/CD163+マクロファージ（MΦ）の産生するCCL2がILDの線維化を促進することを初めて明らかにした（Matsuda S, et al. Rheumatology (Oxford). 2021）（図1）。これらの先行研究から、申請者らはMPA-ILD患者においてCD68+/CD163+ MΦの異常活性化に焦点を当てて線維化進行の機序を研究している。

本研究の目的は、MPA-ILD患者のCD68+/CD163+ MΦのmicroRNA（miRNA）、messenger RNA（mRNA）の統合解析を用いてCD68+/CD163+ MΦを活性化させる上流/下流の制御因子を特定し、MPA-ILDを引き起こす機序を解明することである。またMPA-ILDの病勢、予後の指標となるCD68+/CD163+ MΦ関連バイオマーカーを明らかにすることである。

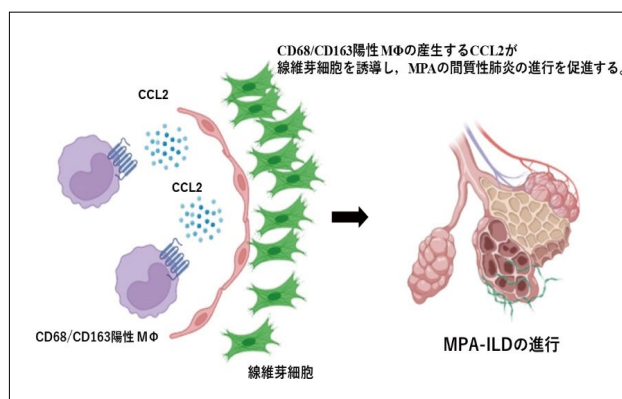


図1：CD68/163+MΦの間質性肺炎進行の機序

【方法】

本研究では、マイクロアレイ法を用いたMPA-ILDの発症に関連するCD68+/CD163+ MΦ関連遺伝子の解析を行い、臨床上での病態、予後、治療反応性に関連する蛋白の同定を試みた。蛋白分子はMPA-ILDの治療前血清を使用し、ELISA法を用いて測定した。

【結果】

末梢血液中の単球をIn VitroでCD68+/CD163+ MΦに分化させ、健常群とMPA-ILD群の遺伝子発現を比較した。(図2) mRNA解析で健常人に比べて2倍以上発現が亢進している遺伝子に着目し、コードされる蛋白Aを候補としてMPAの臨床データとの関連を検討した。2011年12月から2023年4月でChapel hill分類基準を用いて診断されたMPA-ILD患者48人を対象として評価した。蛋白AはELISA法を用いて測定した。

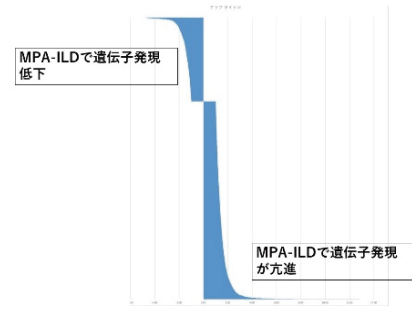


図2：CD68/163+MΦの遺伝子発現比

1) 血清A値と治療前臨床データとの関連

血清A値は健常群と比較し、MPA-ILD群で有意に高値であった。 $(P<0.0001)$ (図3) 次に臨床データと、血清A値との相関を検討した。血清A値は胸部CTでのILDの線維病変の拡がりとは有意な相関を認めなかった。 $(P<0.05)$ (図4A)

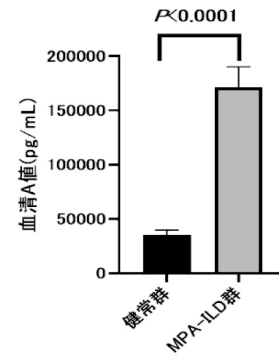


図3：MPA-ILD群、正常群の血清A

2) 血清A値と治療後のILD進展との関連

次に、免疫抑制療法に不応性であるMPA-ILDの進展を治療前の血清A値が予測可能か検討した。線維化マーカーである血清中のKL-6を治療前、1年後に評価し、血清A値との相関を評価した。治療前A値は治療後1年間でのKL-6上昇と有意な正の相関を示しており $(P<0.001)$ 、蛋白Aは治療後の間質性肺炎の進行を予測するバイオマーカーであることが明らかになった。(図4B)

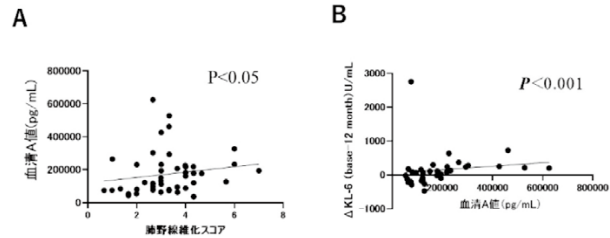


図4：MPA-ILDでの血清A値と線維化スコアとの相関

【考察・今後の展望】

以上の結果から蛋白Aは、MPA-ILDの治療前の病勢、治療後の線維化進行を予測するバイオマーカーであることを明らかにした。

今後の課題としてはCD68+/CD163+ MΦのmiRNA、mRNAの遺伝子発現に関して、症例数を増やし逆転写PCRを用いて再現性を検討する予定である。またILDの肺病理を用いて蛋白Aの組織内の発現部位を同定し、ILD進展への機序を検討する予定である。本研究を通して、CD68+/CD163+ MΦがILDの線維化を進行する病態機序の解明、またILD進行を抑制する新規治療薬の開発へと繋げていきたい。

【謝辞】

本研究は難病財団の令和4年度医学研究奨励助成事業により実施させていただきました。難病医学研究財団の皆様、さらに財団に寄付くださった方々に感謝を申し上げます。

【論文】

Matsuda S, Kotani T, Okazaki A, Nishioka D, Watanabe R, Gon T, Manabe A, Shoji M, Kadoba K, Hiwa R, Yamamoto W, Hashimoto M, Takeuchi T. Prediction model for respiratory-related mortality in microscopic polyangiitis with interstitial lung disease : multicenter REVEAL cohort study. Rheumatology (Oxford). 2023. doi : 10. 1093/rheumatology/kead444. Epub ahead of print.