

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 田上 陽一

横浜市立大学大学院医学研究科 呼吸器病学

審査員

主査 横浜市立大学大学院医学研究科 血液・免疫・感染症内科学 主任教授 中島 秀明

副査 横浜市立大学大学院医学研究科 公衆衛生学 主任教授 後藤 温

副査 横浜市立大学附属病院 集中治療部 准教授 高木 俊介

博士の学位論文審査結果の要旨

Clinical significance of serum KL-6 and serum HO-1 as a novel biomarker in patients with acute exacerbation of interstitial lung disease

(間質性肺疾患急性増悪患者における血清 KL-6 と新規バイオマーカー血清 HO-1 の臨床的意義)

1. 序論

間質性肺疾患急性増悪 (acute exacerbation-interstitial lung disease; AE-ILD) は、間質性肺疾患 (interstitial lung disease; ILD) 患者における最も致命的な肺合併症である。Krebs von den Lungen-6 (KL-6) は、高分子量のムチン様糖蛋白で、主に細気管支上皮細胞と II 型肺胞上皮細胞に発現し、血清 KL-6 は ILD の存在診断、活動性評価、予後予測に有用なバイオマーカーとして報告されている。本研究では、AE-ILD 患者における血清 KL-6 高値群・低値群の臨床像、予後規定因子について検討した。

2. 方法

2014 年から 2018 年にかけて横浜市立大学附属病院、横浜市立大学附属市民総合医療センターに入院した AE-ILD 患者を対象とした。急性増悪診断時の年齢、性別、チャールソン併存疾患指数 (Charlson Comorbidity Index score; CCIS)、6 か月死亡率などの臨床データを抽出し、血液検体より動脈血酸素分圧/吸入酸素分画 ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$; P/F) 比、KL-6、乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase; LDH)、surfactant protein-D (SP-D) などを測定した。高分解能 CT (high-resolution CT; HRCT) におけるすりガラス様陰影 (ground-glass opacity; GGO)、蜂巢肺 (Honeycomb) の範囲を半定量化したスコアリングを行い、画像所見を評価した。対象症例を血清 KL-6 高値群 (≥ 1000 IU/mL)・低値群 (< 1000 IU/mL) に分類し、各群で抽出したデータを比較し、6 か月死亡率との関連性について後方視的に解析した。本研究は横浜市立大学大学院医学研究科の施設審査委員会 (承認番号 B171100003) の承認を得た。

3. 結果

KL-6 高値群は 38 例、KL-6 低値群は 57 例となった。両群の患者背景を比較すると、年齢、性別、CCIS、P/F 比、血清 SP-D、Honeycomb score、6 か月死亡率に有

意差はみられず、血清 LDH, Honeycomb score は KL-6 高値群で有意に高値を示した。Stepwise 法により選択された 6 か月死亡に寄与する因子のうち、KL-6 高値群では LDH ($P < 0.001$), KL-6 低値群では、CCIS ($P < 0.001$), 性別 ($P = 0.033$) が有意であった。KL-6 低値かつ 6 か月死亡群において、うっ血性心不全、呼吸困難を伴う慢性呼吸器疾患、脳血管疾患、転移性固形癌の割合が他の群に比べて有意に多かった ($P < 0.05$)。

4. 考察

本研究において、KL-6 低値の AE-ILD 患者は、重度のびまん性肺胞傷害 (diffuse alveolar damage; DAD) を有さず、びまん性肺胞出血 (diffuse alveolar haemorrhage; DAH) や血栓症などの様々な併存疾患や組織型が予後に影響を与える可能性が示唆された。AE-ILD 患者の臨床的特徴は血清 KL-6 値によって異なる傾向があるため、血清 KL-6 値によって導かれるサブタイプに応じた臨床病理学的評価が必要であると考えられた。AE-ILD では既存のバイオマーカー単一での予後予測は困難であり、より簡便な新規バイオマーカーの開発が期待されている。我々は、AE-ILD の予後予測バイオマーカーとしての血清ヘムオキシゲナーゼ-1 (heme oxygenase-1; HO-1) の有用性について後方視的に検討した。AE-ILD 症例 51 例が登録され、血清 HO-1 は 12 週後死亡の主要な予測因子であった ($P = 0.028$)。HRCT をフォローした 41 例において、血清 HO-1 値は、Honeycomb 非進行例より Honeycomb 進行例で有意に高かった ($P = 0.008$)。したがって、単一バイオマーカーである血清 HO-1 測定は、12 週後死亡および線維化の予測に有用である可能性が示唆された。

以上の論文要旨の説明の後に、以下の質疑応答がなされた。

高木副査より以下のように質問、指摘がなされた。

- ① 今回は 6 か月予後で比較をしているが、急性増悪を起こす患者に違いがあるか。
- ② 今回の研究で急性増悪が死亡原因で多いが、これは再度急性増悪を起こすということか。
- ③ 陽圧換気や人工呼吸器を使用した症例があったか。
- ④ 本人の研究に対する貢献度はどれくらいか。

申請者の回答

- ① 本検討では、どのような患者が急性増悪を起こしやすいかということは検討できていない。
- ② 本検討では、再度急性増悪を起こして死亡した患者が多かった。
- ③ 人工呼吸器を使用した症例は 1-2 例で、ほとんどがネーザルハイフローを使用した症例であった。

- ④ KL-6 に関する研究は、研究計画、データ収集、クリーニング、統計解析、論文作成など、すべて自分が行った。H0-1 に関する研究は、当教室の原講師の指導を受けながら、すべて自分が行った。H0-1 研究における一部の統計（総当たり法、C-index の測定）については、統計学の専門家に依頼した。

後藤副査より以下のように質問、指摘がなされた。

- ① 主論文は KL-6 が急性増悪の予後予測において有用でなかったという趣旨であると思うが、副論文においては KL-6 と H0-1 が最適モデルとして同定され、KL-6 単独は AUC も高い。結論に矛盾があるのではないか。
- ② KL-6 の研究で P 値が 0.05 以上の時に 2 群間で差がないとしているが、仮説検定において統計学的に有意でないときに差がないというのは仮説検定の結論としては誤りとされている。サンプルサイズが不足しているかもしれないし、元々検証した統計モデルが間違っているのかもしれない。それにより、先程の質問のように結論に矛盾が生じた可能性がある。
- ③ Cross validation の C-index はなにか。
- ④ 今回の研究の臨床的な意義と方向性についてどう考えているか。

申請者の回答

- ① 主論文と副論文の患者集団が異なることが結果に影響したと思われる。症例数を増やして再検討が必要と考える。
- ② 主論文の結果の解釈について再検討する必要があると認識した。
- ③ 本研究では、モデルの予測性能の良さを示す客観的な指標として C-index を用いた。
- ④ まず、KL-6 の研究では、KL-6 低値の患者では CCIS 高値が予後規定因子であった。併存症に対する治療を強化することが予後を改善する可能性がある。とくに KL-6 低値群の死亡例が多かった、うっ血性心不全や脳血管疾患に対して積極的に治療介入を行う必要があるかもしれない。一方、KL-6 高値の患者は LDH が予後規定因子であり、なかでも LDH 高値の患者は重度の DAD を有すると考えられるため、抗炎症薬であるステロイドパルスを用量調節することなく行い、エンドキサンパルスなどの免疫抑制療法や再度のステロイドパルスなども躊躇しないことが重要と思われる。H0-1 の研究では、M2 マクロファージの活動性を反映する H0-1 の高値が予後予測因子であり、H0-1 高値例では急性増悪後の線維化が進行した。H0-1 高値例では抗線維化薬を積極的に使用することが重要と思われる。とくに、抗線維化薬のニンテダニブはマクロファージの表現型を再構成する可能性が示唆されており、有用かもしれない。治療介入により予後が改善するか、今後の検討が必要である。

中島主査より以下のように質問、指摘がなされた。

- ① KL-6 高値例と KL-6 低値例で組織像が異なることが病態を考える上で重要と思われる。臨床的な介入において手がかりにならないか。
- ② KL-6 はどういうタンパクか。
- ③ HO-1 は細胞保護的に働くということであるが、HO-1 高値例が予後不良ということは何のように解釈すればよいか。
- ④ HO-1 高値例が線維化を誘導する具体的なプロセスとはなにか。
- ⑤ HO-1 が病態形成に及ぼす役割についてどのように考えているか。

申請者の回答

- ① KL-6 高値例，とくに LDH が高い症例では，DAD が主成分と考えられるため，抗炎症薬やステロイドパルス療法を従来通り使っていくことが重要と思われる。一方，KL-6 低値例では，DAD が軽度で DAH や肺血管微小血栓が主成分となる症例もあることから，ステロイドパルス療法以外の追加治療，病態に応じて止血剤や抗凝固薬などの投与を検討する必要があると考える。
- ② KL-6 は MUC1 というムチンに関連するタンパクの一部である。気道上皮細胞，肺胞上皮細胞が傷害を受け，放出される。
- ③ HO-1 は酸化ストレスに対する防御作用を有するが，HO-1 高値の症例は HO-1 が過剰な防御作用，抗炎症作用を発揮し，急性増悪後の線維化，最終的に呼吸不全をきたし，予後不良に影響すると考えている。
- ④ HO-1 が M2 マクロファージで高発現することが知られており，M2 マクロファージが TGF- β の産生を介して線維化を促すことが分かっている。HO-1 そのものが線維化を誘導する pathway に関しては現時点では明らかになっていない。
- ⑤ 急性増悪の病態形成において M1/M2 マクロファージの相互作用が重要な役割を持っている。酸化ストレスにより HO-1 が誘導され，高発現する M2 マクロファージが急性増悪後の線維化を促す。HO-1 が TGF- β のように線維化を引き起こす作用があるかということに関しては基礎的検討ができておらず，今回の研究でも明らかになっていない。近年，癌領域においても HO-1 関連マクロファージの高発現が予後不良と関与することが知られているが，HO-1 の作用というのは明らかになっていない。今後の検討課題と考える。

以上により博士（医学）の学位授与に値すると判断された。