

間質性肺炎のバイオマーカーとしての新規自己抗体の同定

Identification of new autoantibodies for diagnosis of interstitial pneumonia

医学部 内科学系・呼吸器内科学分野 准教授 権 寧博
Yasuhiro Gon, Department of Internal Medicine, Division of Respiratory Medicine, Nihon University School of Medicine

目的・背景 (Purpose and Background)

間質性肺炎 (interstitial pneumonia) は、肺胞間の隔壁である肺の間質組織における炎症性疾患の総称である。間質性肺炎の進行に伴い、間質組織の線維化が生じ、患者の呼吸困難の原因となる。間質性肺炎は、膠原病によるもの、薬剤誘起性、職業若しくは環境によるものなどの原因が明らかでない一群と、原因不明の一群とに大別される。原因不明のものは、特異性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonias, IIPs) と呼ばれ、全部で7つの疾患に分類される (表1)。

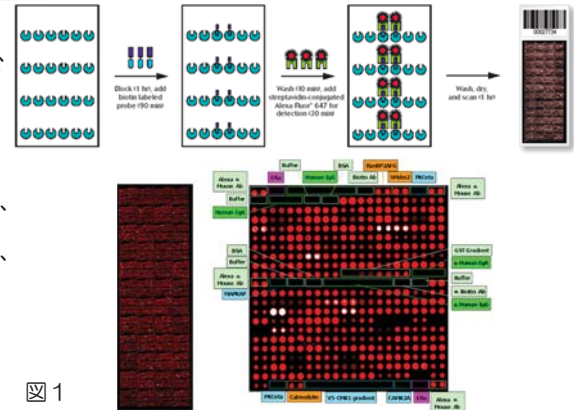
中でも、特異性肺線維症は予後不良であり、我が国では難治性疾患として特定疾患に指定されている。本疾患を確定診断するためには、臨床所見、画像所見、肺の機能評価、外科的肺生検による病理組織学的所見等に基づく総合判断を行う必要となるため、より簡便で、かつ、高い陽性率及び特異性をもって特異性間質性肺炎、特に特異性肺線維症の診断方法の開発が強く求められているのが現状である。

表1 特異性間質性肺炎 (IIPs) の分類：臨床診断名と病理組織分類との関係

臨床診断名	病理組織分類
特異性肺線維症 (IPF)	通常型間質性肺炎 (UIP)
非特異性間質性肺炎 (NSIP)	非特異性間質性肺炎 (NSIP)
特異性器質性肺炎 (COP)	器質性肺炎 (OP)
呼吸細気管支炎関連性間質性肺炎疾患 (RB-ILD)	呼吸細気管支炎関連性間質性肺炎疾患 (RB-ILD)
剥離性間質性肺炎 (DIP)	剥離性間質性肺炎 (DIP)
リンパ球性間質性肺炎 (LIP)	リンパ球性間質性肺炎 (LIP)
急性間質性肺炎 (AIP)	びまん性肺泡傷害 (DAD)

原理・方法 (Principles and Methods)

日本呼吸器学会による診断ガイドライン及びATS/ERS/JRS/ALAT Statementに基づき特異性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis; IPF) に基づいてIPFと診断した。特異性肺線維症 (IPF) 30例、対象疾患としてNSIP 8例、及び過敏性肺臓炎4例から血液を採取し血清を分離した。また、対象をIPFに罹患していない健康者61例とし、採血後血清を分離した。



● 研究1

ProtoArrayは、ヒトタンパク質マイクロアレイには、9000種以上の完全長ヒトタンパク質が2スロット搭載されているタンパク質マイクロアレイである (図1)。患者血清及び対照群の血清について、ライフテクノロジーズ社が提供するProtoArrayヒトタンパク質マイクロアレイを用いて、血清中に存在する自己抗体のプロファイルを求めた。得られた結果を解析し、患者群の血清中に、対照群と比べて、自己抗体が多く存在する抗原タンパク質を選定した。

● 研究2

ヒト・リコンビナントUBE2Tタンパクをマイクロプレートに固着化し、患者血清及び対照群の血清をサンプルとして、UBE2T特異的抗体に対するELISAを作成した。

図1

結果 (Results)

● 研究1の結果①：

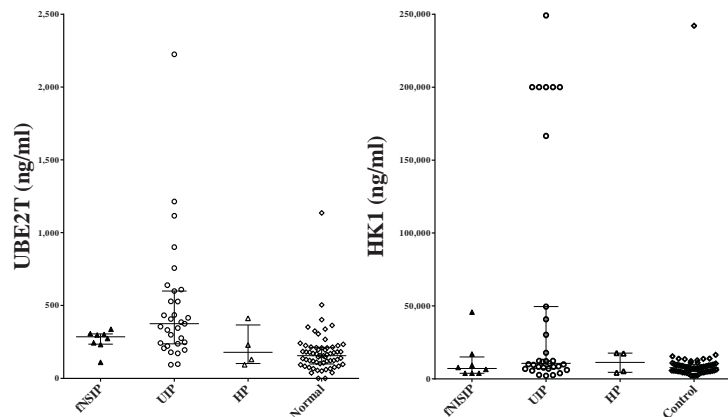
患者群の血清中に、対照群と比べて、自己抗体が多く存在する抗原タンパク質を抽出し、表2のように1~10のタンパク質が同定された。

Database ID	Ultimate ORF ID	Description	Count		Prevalence		P-Value	Cutoff	Group Average		Difference (Patient - Control)	Ratio (Patient/Control)
			Control	Patient	Control	Patient			Control	Patient		
NM_014176.1	IOH3736	ubiquitin-conjugating enzyme E2T (putative) (UBE2T)	0	16	7%	68%	6.04E-05	664	305	1764	1459	5.8
BC008730.2	IOH5942	hexokinase 1 (HK1)	0	8	7%	36%	2.08E-02	419	168	3907	3738	23.2
NM_176783.1	IOH40962	proteasome (prosome, macropain) activator subunit 1 (PA28 alpha) (PSME1), transcript variant 2	0	8	7%	36%	2.08E-02	881	289	1380	1091	4.8
BC032654.1	IOH21978	USO1 homolog, vesicle docking protein (yeast) (VDP)	0	6	7%	28%	6.22E-02	844	176	1489	1312	8.4
BC017059.1	IOH11123	Gamma-interferon-inducible protein 1B-16	1	8	14%	36%	9.49E-02	5158	4161	6015	1854	1.4
NM_016433.3	IOH57161	Glycolipid transfer protein	1	8	14%	36%	9.49E-02	834	508	1306	798	2.6

表2 配列番号1~10で示されるアミノ酸配列からなるタンパク質マーカーについて、Protoarrayの結果を示す。Patient=IPF

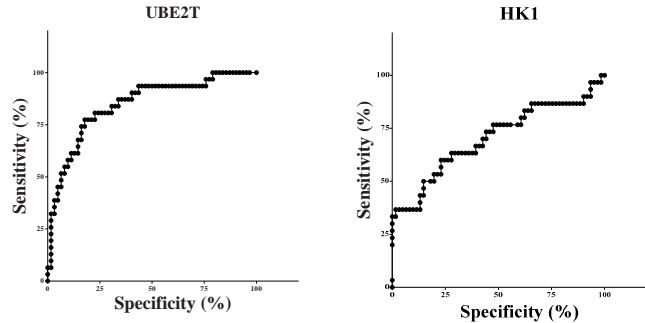
● 研究2の結果①：

図2 各種間質性肺炎患者の血清中のUBE2Tタンパク質量の定量結果



● 研究2の結果②：

図3 UBE2TとHK1の自己抗体によるIPF診断のROC曲線



● 研究2の結果③：

表3 健康者、IPF、NSIP症例におけるUBE2TとHK1自己抗体の陽性者数と陽性率

	Control	UIP	NSIP
Total sample	61	30	8
両方陽性	56 (91.8%)	11 (36.7%)	6 (75%)
UBE2T 陽性	2 (3.3%)	14 (46.7%)	0
HK1 陽性	3 (4.9%)	11 (36.7%)	2 (25%)
どちらか一方陽性	5 (8.2%)	19 (63.3%)	2 (25%)
両方陰性	0	6 (16.7%)	0

まとめ (Summary)

特異性間質性肺炎 (IPF) の補助診断に用いるためのマーカー、及び特異性間質性肺炎を診断するためのキットを提供する。本研究により、簡便に、かつ、高い陽性率及び特異性をもって特異性間質性肺炎の診断が可能となると期待される。また、本発明により、特異性間質性肺炎の早期の診断が可能となり、早期の治療開始が可能となり、適切な処置を施すことで、患者のQOLの向上が期待できる。また、本発明で見出した抗体を標的とした特異性間質性肺炎の治療薬の開発も期待される。

応用分野・用途 (Applications)

本抗体が診断に利用できる分野

- 間質性肺炎の診断薬の開発
- 間質性肺炎の薬物療法の効果判定
- 間質性肺炎の治療薬の開発