

博士(医学) 柄山正人

論文題目

Antiendothelial cell antibodies in patients with COPD

(COPD患者における抗血管内皮抗体)

論文の内容の要旨

[背景]

慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) は進行性で可逆性の乏しい気流閉塞により定義される難治性疾患で、末梢気道や肺胞における持続炎症を特徴とする。世界的な高齢化に伴い患者数は増加しており、2020年には世界における死亡原因の第3位になると予測されている。COPDはタバコ煙に代表される有毒物質の吸入により引き起こされるが、喫煙者が必ずしも発症するわけではなく、また禁煙後でも発病・進行するという疫学的な事実から、吸入物質による直接的な組織障害以外に、病態に関わる因子が存在すると考えられている。近年、COPD患者において各種自己抗体の存在が指摘されており、COPDの病態のひとつとして自己免疫の関与が注目されている。

抗血管内皮抗体 (antiendothelial cell antibody: AECA) は血管内皮細胞に対する自己抗体で、膠原病や血管炎症候群で認められ、血管障害を引き起こし臓器障害と関連するといわれる。ラットにヒト臍静脈内皮細胞を注入するとAECAが産生され、血管内皮がアポトーシスを来し気腫性変化に至るという報告もある。本研究ではCOPD患者血清を用いてAECAを測定し血管内皮への自己免疫の存在について検討した。

[対象]

Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) の診断基準によりCOPDと診断された116名の患者を対象とした。膠原病、血管炎症候群、サルコイドーシス、喘息およびその他の肺疾患を合併した患者は除外した。同様にこうした疾患を持たない157名の患者をコントロールとした。この研究は浜松医科大学医の倫理委員会の承認を得て行った。

[方法]

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を用いて血清のAECAを測定した。96穴プレートにヒト臍静脈内皮細胞で被覆し、1000倍希釈したサンプル血清を添加した。1%ウシ血清アルブミン (BSA) で洗浄した後、horseradish peroxidase (HRP) 標識ウサギ抗ヒト抗体を添加した。洗浄の後、基質として3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMB) を添加した。1M硫酸で酵素反応を停止させた後、ELISAリーダーを用いて光学濃度を測定した。測定値はELISA ratio (ER) = (サンプル - 陰性コントロール) / (陽性コントロール - 陰性コントロール) で表した。陰性コントロールは1%BSAを、陽性コントロールは全身性エリテマトーデス患者の血清を用いた。Rosenbaumらの報告に準じ、対照群の平均値に標準偏差の3倍を加えた値を、ER陽性のカットオフとした。

[結果]

COPD 患者の AECA 値 [中央値 (四分位範囲)] は対照群に比較して有意に高値を示した [0.556 (0.490 - 0.696) vs 0.358 (0.274 - 0.420), $p < 0.0001$]。対照群のうち COPD 患者と同等の喫煙歴を有し、かつ肺機能が正常な患者と比較しても、COPD 患者は有意に高い AECA 値を示した ($p < 0.0001$)。対照群において喫煙者と非喫煙者では AECA 値に差を認めなかった [0.370 (0.290 - 0.427) vs 0.325 (0.258 - 0.401), $p = 0.58$]。

上記の方法で算出したカットオフ値を用いると、COPD 患者 116 例中 35 例 (31 %) が陽性と判定された。COPD 患者において AECA 陽性患者と陰性患者を比較したが、臨床所見、喫煙歴、肺機能および胸部 CT での肺気腫スコアのいずれも差を認めなかった。

AECA 値と各種臨床所見との相関に関して検討したが、COPD 患者群および対照群において年齢、body mass index (BMI)、喫煙量、AECA 以外の自己抗体価および肺機能いずれとも相関を認めず、性別による相違も認めなかった。COPD 群に関しては肺気腫スコアおよび GOLD の重症度とも相関がみられなかった。これらは AECA 陽性の COPD 患者に限定した検討においても同様であった。

[考察]

COPD 患者における AECA 値は、COPD を発症していない喫煙者と比較しても有意に高く、AECA の発現が喫煙によるものではなく、COPD の発症や病態に関与している可能性が示唆された。COPD 患者のなかでも AECA 発現に差が認められたが、AECA 高値を呈する患者群と低値の患者群では臨床的背景に差を認めず、また AECA 発現値は COPD の重症度や他の自己抗体の発現とは相関しなかった。

[結論]

COPD 発症において、血管内皮細胞に対する自己免疫が関与する可能性が示唆された。COPD を自己免疫の関与する疾患として検討する事は、COPD の病態の解明と新しい治療法の開発への重要な情報となりうる。

論文審査の結果の要旨

近年、COPD 患者において各種自己抗体の存在が指摘され、病態への自己免疫の関与が注目されている。抗血管内皮抗体 (antiendothelial cell antibody: AECA) は膠原病や血管炎症候群で認められる自己抗体で、血管障害を引き起こし臓器障害と関連する。申請者らは、COPD 患者 116 名と背景が一致する対照群 157 名の血清 AECA を ELISA 法を用いて測定した。測定値は ELISA ratio (ER) = (サンプル - 陰性コントロール) / (陽性コントロール : SLE 患者血清 - 陰性コントロール) で表し、Rosenbaum らの報告に準じ、対照群の平均値に標準偏差の 3 倍を加えた値を ER 陽性のカットオフ値とした。

COPD 患者の AECA 値は対照群より有意に高値であり ($p < 0.0001$)、COPD 患者と同等の喫煙歴を有する対照群 82 名との比較においても同様であった。一方、対照群の喫煙者と非

喫煙者間には差を認めなかった($p = 0.58$)。AECA 値と年齢、body mass index、喫煙量、AECA 以外の自己抗体価、肺機能、肺気腫スコア、気流閉塞の重症度との間には相関を認めず、性別による差も認めなかった。COPD 患者 116 例中 AECA 陽性は 35 例 (31 %) で、陽性患者と陰性患者の臨床所見、喫煙歴、肺機能、胸部 CT 上の肺気腫スコアには差を認めなかった。

申請者らは本研究により、COPD 患者における AECA の発現は喫煙によるものではなく、COPD の発症や病態に関与している可能性を示唆するものと結論した。本研究は、自己免疫の関与する疾患として COPD の病態の解明と新しい治療法の開発への重要な情報となりうるものであり、高く評価した。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 椎谷 紀彦
副査 梶村 春彦 副査 海野 直樹