

論 文 内 容 要 旨

C-C motif chemokine ligand 15 may be a useful biomarker for predicting the prognosis of patients with chronic hypersensitivity pneumonitis

(慢性過敏性肺炎の患者において、CCL15 は予後予測バイオマーカーになり得る)

Respiration, in press.

主指導教員：服部 登 教授

(医系科学研究科 分子内科学)

副指導教員：濱田 泰伸 教授

(医系科学研究科 生体機能解析制御科学)

副指導教員：岩本 博志 講師

(医系科学研究科 分子内科学)

渡部 雅子

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

背景：慢性過敏性肺炎（Chronic hypersensitivity pneumonitis：CHP）は吸入抗原への長期的な暴露により引き起こされる予後不良な間質性肺炎である。原因抗原の回避で肺線維化の抑制が期待できるため、早期に正確な診断が望まれる一方で、明確な診断基準がなく原因抗原の同定も困難な場合が多いことから、その診断はしばしば困難である。われわれは、CHP患者の肺組織を用いてマイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行い、C-C motif chemokine ligand 15

（CCL15）の mRNA 発現が CHP 患者の肺で亢進していることを見出した。CCL15 はケモカインの Macrophage inflammatory protein-1（MIP-1）に属して肺ではマクロファージやリンパ球に発現し、CC chemokine receptor1（CCR1）や CCR3 に結合して T 細胞、単球、血管内皮に対し走化性因子として働くことが知られている。そこでわれわれは、CHP のバイオマーカーとしての CCL15 の有用性について検討するため本研究を実施した。

方法：2001 年から 2014 年に広島大学病院で診断された CHP 患者 51 例、IPF 患者 78 例および健常コントロール 69 例を対象に、肺組織の免疫染色による CCL15 発現の検討と、血清及び気管支肺胞洗浄液（Bronchoalveolar lavage fluid: BALF）を用いた Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法による CCL15 濃度測定を行い、背景因子との相関を検討し、予後解析を行った。

CHP と IPF の診断にはそれぞれ 1999 年に報告された吉澤らの診断基準と、2011 年版 ATS/ERS/JRS/ALAT の IPF ガイドラインを使用した。免疫染色の健常肺には、手術肺検体の非癌部分を用いた。免疫染色には LifeSpan BioSciences 社の抗 CCL15 抗体（Lot ID: 52039）を使用し、血清と BALF の CCL15 濃度測定には、R&D Systems 社の ELISA キットを使用した。

結果：CHP 患者の肺組織では、健常肺や IPF 肺と比べて CCL15 の発現が亢進しており、CHP 患者の血清 CCL15 ($29.1 \pm 2.1 \mu\text{g/ml}$) は、IPF 患者 ($19.7 \pm 1.3 \mu\text{g/ml}$, $p = 0.01$) および健常者 ($19.7 \pm 1.3 \mu\text{g/ml}$, $p = 0.01$) と比較して有意に高かった。また、CHP 患者において、BALF CCL15 を BALF 中 Albumin (Alb) で徐した値 (BALF CCL15/Alb) は努力肺活量 ($\beta = -0.47$, $p = 0.0006$)、肺拡散能 ($\beta = -0.41$, $p = 0.0048$)、BALF 中のリンパ球数 ($\beta = -0.34$, $p = 0.01$) と有意に相関し、さらに肺機能の経時変化量とも有意に相関していた ($\beta = -0.47$, $p = 0.0024$)。Cox 比例ハザード解析では、BALF CCL15/Alb が CHP 患者の独立した予後予測因子であることが示された (HR = 1.1, 95% C.I. 1.03 - 1.18, $p = 0.004$)。

考察：本研究により、われわれは CHP 患者の肺組織ならびに血清中で CCL15 蛋白の発現が健常コントロールに比べて上昇していることを明らかにした。特に BALF CCL15 が診断時の肺機能およびその経年的な変化と相関し、CHP 患者の予後と有意に相関していたことより、CHP の病態形成に CCL15 が何らかの役割を果たしている可能性が示唆され、CHP のバイオマーカーとしての CCL15 の有用性が期待される結果が得られた。

CCL15 は CCR1 および CCR3 と結合することが知られている。CCR1 は matrix metalloproteinase (MMP) -2 および MMP-9 を誘導する方向に作用し、CCR3 は好酸球、好塩基球、肥満細胞、Th2 細胞上に発現して Th2 免疫応答の誘導に関わっている。したがって CCL15 は MMPs や Th2 応答を介して CHP 肺における炎症および線維化の進展に関与している可能性

が考えられる。

CCL15 は肺に特異的な蛋白ではなく全身の種々の器官で発現が報告されており、BALF CCL15 には肺局所の CCL15 だけでなく、全身性に産生されて毛細血管を通じて肺胞へ移行した CCL15 も含まれていると考えられる。また、BALF 中の蛋白濃度は肺胞への生理食塩水の注入量と回収量が関係し、ELISA での測定値に大きく影響する。われわれは BALF CCL15 を Alb 値で除することにより、毛細血管から肺胞へ移行してきた全身性の CCL15 の影響を除外し、近似的に肺局所の CCL15 の動態を評価し得ると考えた。結果として BALF CCL15/Alb のみが肺機能や CHP 患者の予後と有意に相関していたことから、全身組織に由来する CCL15 よりも、肺局所に由来する CCL15 が CHP の病態形成に大きく関わり、CHP の新規バイオマーカーとなり得ると考えられた。

本研究を通して、BALF CCL15/Alb の CHP における新規バイオマーカーとしての有用性が示された意義は大きく、今後は多施設共同前向き研究でさらに多くの症例を対象にその有用性が検証されるべきと考える。