

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16564

研究課題名(和文) 膠原病合併間質性肺炎におけるS100タンパク質の臨床的意義の検討

研究課題名(英文) Clinical significance of S100 proteins in connective tissue diseases associated with interstitial pneumonia

研究代表者

平松 ゆり (Hiramatsu, Yuri)

大阪医科薬科大学・医学部・助教

研究者番号：70850072

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、膠原病に伴う間質性肺炎(CTD-IP)におけるS100A8およびS100A9の役割を明らかにした。CTD患者では健常者と比較すると、S100A8、S100A9およびcalprotectinは有意に高値であった。特に、Calprotectinは顕微鏡的多発血管炎(MPA)-IPと関節リウマチ(RA)-IPで、S100A8は、MPA-IP、強皮症-IP、RA-IPで、S100A9はMPA-IPで高値であった。MPAにおいてIPの有無でS100タンパク質A8/A9に差を認めず、KL-6値との相関もなかったが、他のCTDにおいてIPの有無で差がある疾患があった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膠原病に伴う間質性肺炎(CTD-IP)においてS100A8/A9タンパク質血中濃度が高値であり、疾患、特に顕微鏡的多発血管炎と関節リウマチおよびIPとの関連が示唆された。これまでにS100A8/A9タンパク質は肺の炎症のみならず線維化に関与することが報告されている。本研究の結果から、S100A8/A9タンパク質がCTD-IPのバイオマーカーのみならず新たな治療標的となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：S100A8/A9 (calprotectin) is associated with the fibrosis and inflammation in lung. The aim of this study is to reveal the role of serum S100A8/A9 proteins in connective tissue diseases associated with interstitial pneumonia (CTD-IP). Serum levels of S100A8, S100A9, and calprotectin in patients with CTD were higher than those in controls. Calprotectin was increased in microscopic polyangiitis (MPA)-IP and rheumatoid arthritis (RA)-IP. S100A8 was elevated in MPA-IP, systemic sclerosis-IP, and RA-IP. S100A9 was increased in MPA-IP. There were no significant differences in S100A8/A9 proteins between MPA with and without IP and no correlation between serum levels of S100A8/A9 proteins and KL-6. However, there were differences in S100A8/A9 proteins between other CTD with and without IP. S100A8/A9 proteins may be related to the pathogenesis of CTD-IP. Further studies are needed to show the relation between S100A8/A9 proteins and CTD-IP.

研究分野：Rheumatology

キーワード：rheumatic disease interstitial pneumonia S100 protein calprotectin

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膠原病 (CTD) は原因不明の全身性炎症性疾患であり、しばしば間質性肺炎 (IP) を合併する。IP は肺の間質を病変の主座としリンパ球を中心とする炎症細胞の浸潤、肺上皮細胞の障害や線維化が様々な程度にみられるびまん性肺疾患である。炎症病態に対してはステロイドや免疫抑制剤が、線維化に対しては pirfenidone や nintedanib などの抗線維化薬が用いられる。しかし、IP はしばしば治療抵抗性であることや免疫抑制治療による感染症などの有害事象が問題であることから新たな治療法の開発が望まれている。

これまで研究者らは、IP、特に CTD-IP に絞ってその治療法の開発やバイオマーカーの探索を行ってきた。ステロイドおよび免疫抑制剤による併用療法を行った CTD-IP 患者の保存検体を用いて治療前後の血中サイトカイン濃度を測定した結果、治療不応群において Th1 サイトカインである LIGHT、CCL2、CXCL2 の血中濃度が有意に高く、治療により低下していないことを報告した。(Kotani T. PLoS ONE 2015, Oda K. Sci Rep 2017, Fujiki Y. Mod Rheumatol 2018)。他施設からも血中 IL-6、IL-8、IL-10、IL-18 など高値であることが報告されている (Gono T. Rheumatol 2014; Korai Y. Mod Rheumatol 2015)。これらの研究から CTD-IP において Th1 細胞およびマクロファージが病態形成に深く関与することが示唆されている。

S100 タンパク質は関節リウマチ患者の関節液中から見出されたカルシウム結合タンパク質で、そのうちマクロファージの主要タンパク質である S100A8/A9 (calprotectin) は潰瘍性大腸炎 (UC) や肝移植後の拒絶反応などの優れたバイオマーカーとして報告されている。研究協力者らが開発した S100 タンパク質を標的としたリコンビナントタンパク質 X が UC モデルラットにおいて UC の発症を抑制すること (Okada K. Inflammation 2021) やブレオマイシン誘導性肺線維症マウスにおいて肺の炎症と線維化を明らかに抑制することを明らかにした。また、Xu X らは S100A9 タンパク質が肺線維芽細胞を活性化することを (Clin Exp Immunol 2013)、Zhong A らは乾燥により上皮細胞から S100 タンパク質が誘導され、線維芽細胞の活性化と線維化を誘導することを報告している (Am J Pathol 2016)。これらの研究は S100A8 および S100A9 タンパク質は炎症のみならず線維化に関与していることを意味しており、IP の治療標的となり得ることを示唆している。

### 2. 研究の目的

本研究では、CTD-IP における S100A8 および S100A9 の役割を明らかにすること、既存のバイオマーカーとの関連性を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

大阪医科薬科大学病院リウマチ膠原病内科に通院中の CTD 患者のうち、研究に同意が得られているものを対象とする。研究内容に同意を得た後に採取され血清は測定まで冷凍庫 (-70) に保存されている。臨床データとしては、基本データ (CTD および IP 発症時期、合併症、IP 以外の臓器病変)、全身状態の評価 (発熱、血圧、体重、NYHA/WHO 機能分類など)、血液検査 (自己抗体、KL-6、SP-D、P/F 値、フェリチンなど)、胸部高解像度 CT (HRCT)、呼吸器機能検査による評価を診療録より得る。

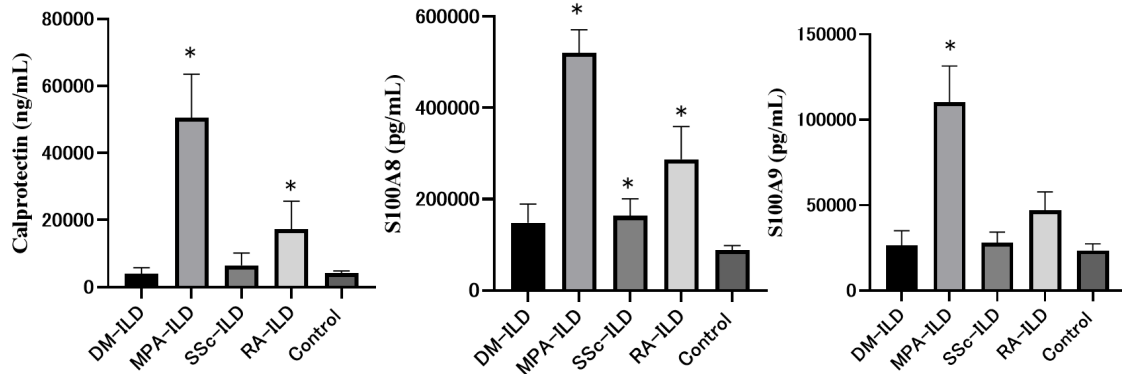
S100 タンパク質 (S100A8, S100A9, calprotectin) の測定は市販の ELISA キット (M BL 社) を用いて測定する。S100 タンパク質血中濃度について CTD 各疾患および IP の有無・予後により統計学的に比較検討する。また、IP に対する治療前後の S100 タンパク質血中濃度を測定することで、治療反応性との関連性を検討する。2 群間の比較は Mann-Whitney U-test を用いる。生存曲線は Kaplan-Meier method を用い、log-rank test にて 2 群間を比較する。統計解析は統計解析ソフト JMP Pro version 14 を用いる。

### 4. 研究成果

代表的な CTD である全身性エリテマトーデス (SLE)、関節リウマチ (RA)、強皮症 (SSc)、皮膚筋炎 (DM)、顕微鏡的多発血管炎 (MPA) 患者について S100 タンパク質血中濃度 (S100A8、S100A9 および S100A8/9 [calprotectin]) を測定した。その結果、CTD 患者では健常者と比較すると、それぞれ 266595 [42156-1025176] pg/mL vs 80547 [46194-115615] pg/mL、46854 pg/mL [5829-157218] vs 15375 [9080-30735] pg/mL、15885 ng/mL [351-83282] vs 3690 [990-6860] ng/mL といずれも高値であった。また、疾患ごとに S100A8、9, calprotectin 血中濃度を比較した。S100A8 は、いずれの疾患においても健常者に比べて高値であったが、S100A9 は SLE、MPA、RA、SSc において、calprotectin は SLE、MPA、RA において高値であった。

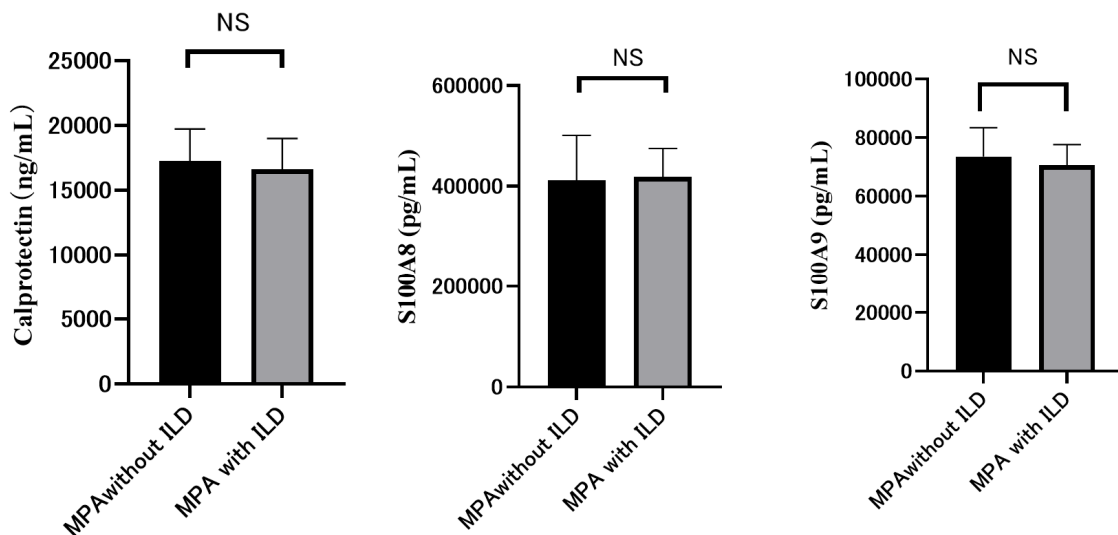
次にCTD-ILDごとに血中S100A8, S100A9, calprotectin 血中濃度を比較した(図1)。Calprotectin 血中濃度は、MPA-IP (55500 [22473-76117] ng/mL), RA-IP (10425 [3350-34683] ng/mL)で有意に高値であった。S100A8 血中濃度は、MPA-IP (552225 [409779-615289] pg/mL), SSc-IP (152758 [83657-237293] pg/mL), RA-IP (339877 [124592-423919] pg/mL)で有意に高値であった。また、S100A9 血中濃度はControl (15375 [9080-30735] pg/mL)と比較し、MPA-IP (91584 [69115-160605] pg/mL)で有意に高値であった。

図1. CTD-IPにおけるcalprotectin, S100A8, S100A9 血中濃度



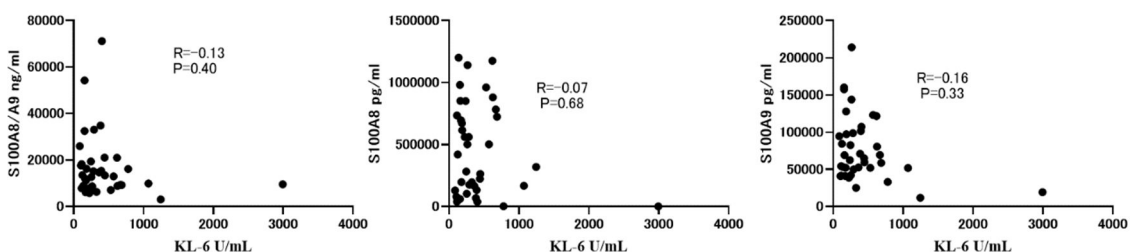
MPA-IPの病態にcalprotectin, S100A8, S100A9が関与するか検討するため、IP合併しないMPA (MPA-nonIP)患者22例とIP合併したMPA (MPA-IP)患者38例の治療前血清を用いてcalprotectin, S100A8, S100A9 血中濃度を測定した(図2)。MPA-nonIP群では各々15121 [8469-20599] ng/mL, 201520 [74523-764127] pg/mL, 66576 [41244-86780] pg/mLであったのに対し、MPA-IP群では各々12843 [7685-19740] ng/mL, 300543 [125738-678070] pg/mL, 59036 [38767-99413] pg/mLと有意差を認めなかった。

図2. MPA-IPにおけるcalprotectin, S100A8, S100A9 血中濃度



また、MPA-IPにおけるCalprotectin, S100A8, S100A9 血中濃度とKL-6値との相関を検討した(図3)。これらS100タンパク質とKL-6とは有意な相関は認めなかった。

図3. MPA-IPにおけるcalprotectin, S100A8, S100A9 血中濃度との相関



他のCTDにおいてIPの有無でcalprotectin、S100A8、S100A9 血中濃度には差がある疾患があり、症例数を増やして検討中である。

CTDにおいてS100タンパク質A8、A9、calprotectin 血中濃度が高値であることが明らかになり、疾患との関連が示唆されCTDにおいて治療標的となる可能性がある。また、IPのあるMPA、SSc、RAでもこれら血中濃度は有意に高値であり、DMにおいては高値である傾向であった。MPAにおいてはIPの有無でS100タンパク質血中濃度に差が見られず、これらのS100タンパク質は疾患自体に直接関係していると考えられた。近年、DM-IPにおいてcalprotectinが疾患活動性と相関することが報告された(Lou T. BMC Pul Med 2020; 20: 196.)。本研究でもCTDにおいてIPの有無で血中濃度に差があるものもあり、さらなる検討が必要であると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	武内 徹  (Takeuchi Tohru)		
研究協力者	小谷 卓矢  (Kotani Takuya)		
研究協力者	松田 翔悟  (Matsuda Shogo)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関