若手研究者助成金 実績報告書

令和　7 年　4 月　30 日

日 本 大 学 学 長　　殿

氏　　名：氏家　麻梨
所属・資格：医学部・助教
実施研究所：医学部・トランスレーショナルリサーチセンター

下記のとおり報告いたします。

1　研究課題

和文表記（40 字以内） 間質性肺炎診断における血中新規自己抗体の有用性の検討
英文表記 Investigation of a novel biomarker of interstitial pneumonia

2　研究期間

令和　6　年度

3　研究目的

間質性肺炎は、肺の間質に炎症や線維化が生じる肺疾患群の総称で、様々な病型を有する。いずれの病型の間質性肺炎でも進行性の線維化を伴うものは予後不良であり、このような間質性肺炎を Progressive-fibrosing interstitial lung disease（PF-ILD）と呼称する。PF-ILD は早期からの治療が重要であるが、PF-ILD の早期からの診断は困難で、臨床現場で利用可能なバイオマーカーは現在のところ存在しない。

研究代表者は、過去に健常者及び間質性肺炎患者の血清を用いた網羅的解析を行い、抗 Hexokinase-1（HK-1）抗体が、様々な病型の間質性肺炎で高いシグナル強度を示すことを明らかにしている（Ujike-Hikichi M, et al. Respir Invest. 2023)。これらの結果より、血清中抗 HK-1 抗体は間質性肺炎の診断に有用であると考えるが、抗 HK-1 抗体が PF-ILD 診断にも有用かどうかは不明である。

本研究では抗 HK-1 抗体が上昇し得る間質性肺炎の病型を明らかにするとともに、血中抗 HK-1 抗体が、将来的な PF-ILD への進展を予測できるかどうかを明らかにし、間質性肺炎診療における抗 HK-1 抗体測定の意義を検討していくことを目的としている。

４　研究概要

研究代表者らは、健常者及び間質性肺炎患者の血清を用いた網羅的解析により、「特発性」間質性肺炎患者のうち、研究登録から 2 年後に PF-ILD に進展した症例で、研究開始時の抗 Ubiquitin-conjugating enzyme E2T (UBE2T)抗体が増加していたことを過去に報告した (Ujike-Hikichi M, et al. Respir Invest. 2023)。この既報で行った網羅的解析では、抗 HK-1 抗体をはじめとする抗 UBE2T 抗体以外の自己抗体も、間質性肺炎で複数増加していることがわかっており、間質性肺炎病態への関与や臨床上の意義を解明する必要があると考えた。

既報で発表した抗 UBE2T 抗体は、限られた病型の間質性肺炎のみで増加する可能性があり、幅広い間質性肺炎病型で応用可能な新たなバイオマーカーが必要と考え、本研究を施行することになった。

研究の方法としては、研究代表者は既報で、9,483 種類のたんぱく質を固相化した ProtoArray Human Protein Microarray v5.0® (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)を使用し、少数例の間質性肺炎患者の血清中の自己反応性抗原を網羅的に解析することで、抗 HK-1 抗体が間質性肺炎患者血清に有意に増加していることを示した。また、再現性の確認として、ProtoPlex™ Immune Response Assay を用いて、抗 HK-1 抗体が間質性肺炎患者血清で有意に増加していることを再確認した。

本研究では、Enzymed-linked immunosorbent Assay（ELISA）法による抗 HK-1 抗体の測定法を確立し、より多くの間質性肺炎症例で抗 HK-1 抗体を測定することで、抗 HK-1 抗体の臨床的意義を精査した。

本研究は、日本大学医学附属板橋病院において行われた観察研究であり、「臨床研究に関する倫理指針」や「ヘルシンキ宣言」を遵守した上で、日本大学医学部附属板橋病院臨床研究倫理審査委員会での承認を得て行った（承認番号：RK-150908-13、RK-180710-15、RK-240813-5)。

科研費課題では、血清中抗 UBE2T 抗体の間質性肺炎診療における側的意義をより深く解析していく予定である。間質性肺炎は多数の複雑な病態で成立しており、研究代表者は異常な自己免疫病態も病因のひとつであると考えている。本研究では抗 HK-1 抗体について着目しているが、最終的には、UBE2T 蛋白や HK-1 蛋白、その自己抗体が、肺線維化にどのように関与するのかを解明していく予定である。

５　研究結果

（１）ELISA 法による血清中抗 HK-1 抗体の測定法の確立と患者内訳

ELISA 法で血清中抗 HK-1 抗体の測定法を確立し、より多くの間質性肺炎症例で抗 HK-1 抗体を測定した。健常者 n=62、間質性肺炎患者 n=43 の血清を使用した。間質性肺炎病型の内訳は、膠原病による間質性肺炎患者 n=6、特発性非特異性間質性肺炎患者 n=9、特発性肺線維症患者 n=22、過敏性肺炎患者 n=3、サルコイドーシス患者 n=2 である。健常者及び各疾患群の抗 HK-1 抗体の中央値は、健常者 7670ng/ml、膠原病肺 13489　ng/ml、NSIP 8314 ng/ml、IPF 8437 ng/ml、過敏性肺炎 17352 ng/ml、サルコイドーシス 6287 ng/ml であった。

（２）抗 HK-1 抗体の臨床的特徴の解析

健常群と比較して、間質性肺炎全体、また各病型の抗 HK-1 抗体値は、有意差を認めなかった（図 1、2)。症例数が少ないため、いずれの群も発症早期から進行期までの間質性肺炎を含む。予測努力肺活量（%FVC）は、PF-ILD を診断するための重要な指標である。%FVC は間質性肺炎群 n=40 で測定しており、Spearman 相関係数 r=-0.41、$p<0.01$ で、抗 HK-1 抗体濃度と中程度の負の相関関係を有していた（図 3)。蜂巣肺形成は進行した間質性肺炎でみられる形態変化であるが、研究登録時にすでに蜂巣肺形成がみられた症例（n=16、抗 HK-1 抗体濃度中央値 10827 ng/ml）は、蜂巣肺形成がみられなかった症例（n=25、抗 HK-1 抗体濃度中央値 7513 ng/ml）と比較して、病型を問わず、抗 HK-1 抗体濃度が有意に増加していた（$p<0.05$)。Krebs von den lungen (KL-6）は臨床応用されている間質性肺炎の代表的な血清バイオマーカーで、間質性肺炎の重症度や病勢との相関を示す。本研究では間質性肺炎群については、n=41 において KL-6 が測定されており、抗 HK-1 抗体との相関関係を調査した。抗 HK-1 抗体と KL-6 は、Spearman の相関係数 r =0.22、p=0.17 であり、明らかな相関は認められなかった。抗 HK-1 抗体は、%FVC や蜂巣肺形成などの疾患重症度・進行度と関連を示す一方で、KL-6 とは相関しておらず、KL-6 とは異なる病態や特性をもった新規のバイオマーカーである可能性がある。

以上より、血清中抗 HK-1 抗体は、発症早期から進行期を含む全体の解析では、健常群と比較して、間質性肺炎群における有意な増加は認めないことがわかった。一方で、抗 HK-1 抗体は%FVC との負の相関を示し、また進行期の間質性肺炎の特徴である蜂巣肺形成を伴う症例では、抗 HK-1 抗体の増加がみられるなど、抗 HK-1 抗体は PF-ILD 診療において応用できる可能性があることを示した。このような、進行期間質性肺炎でみられる抗 HK-1 抗体の増加は、特発性以外の間質性肺炎症例でも確認することができ、抗 HK-1 抗体は、幅広い病型において利用できる可能性がある。

（３）結語

本研究では、PF-ILD の特徴をもつ間質性肺炎で抗 HK-1 抗体が増加する可能性が示唆されたが、過敏性肺炎、サルコイドーシス、膠原病に伴う間質性肺炎など、一部の病型の症例数が不足しているため、今後症例数を増やして再検討を行っていく必要がある。また、症例数を増やすことで、それぞれの病期に応じた解析も必要である。最終的には HK-1 やその自己抗体の病態形成への関与を明らかにし、間質性肺炎の病態解明につなげていきたい。

〔５　研究結果（つづき）〕

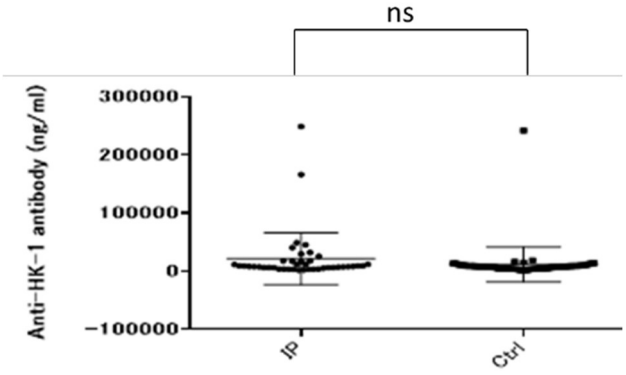


図１　間質性肺炎群と健常群の抗 HK-1 抗体濃度
抗 HK-1 抗体は健常者と各疾患群で有意差を認めなかった。IP：間質性肺炎、Ctrl：健常者

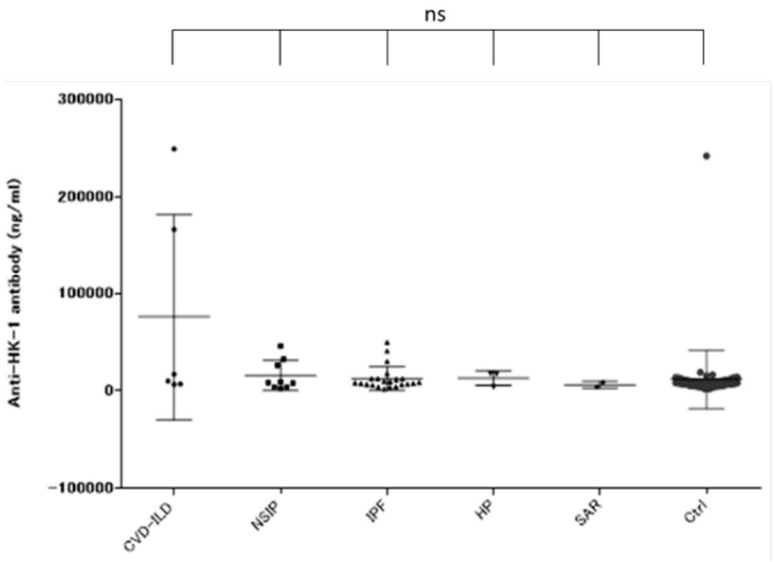


図２　各疾患群における抗 HK-1 抗体濃度
抗 HK-1 抗体は健常者と各疾患群で有意差を認めなかった。CVD-ILD：膠原病肺、NSIP：非特異性間質性肺炎、IPF：特発性肺線維症、HP：過敏性肺炎、SAR：サルコイドーシス、Ctrl：健常者

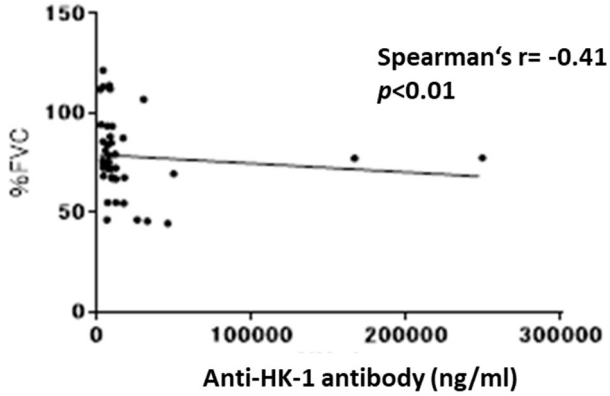


図３　%FVC と抗 HK-1 抗体との相関
%FVC と抗 HK-1 抗体濃度は、中等度の負の相関関係を有していた。Spearman's r= -0.41, p<0.01.
%FVC：予測努力肺活量

６　将来獲得を目指す学内外競争的資金の種類

日本学術振興会科学研究費助成事業基盤研究（C）

７　本研究をもとに申請した外部研究資金及びその獲得状況

氏　　名	申請年度	研 究 種 目	研　究　課　題	採・否

８　学会発表等

要旨集の抜き刷り，発表原稿のコピー等及び発表したことがわかるものを添付してください。

発表者名	学会，発表会名等	発表テーマ	発表年月

９　著書・雑誌論文

著書，雑誌，抜き刷り等を添付してください。コピーの場合は掲載されたことが客観的にわかるものを添付してください。

著者・執筆者	著書名・雑誌名／論文名	巻・号	年月	出版社・発行所

１０　本研究課題に関するその他の発表（新聞，一般雑誌掲載等）

令和６年度はなし。

※申請者は令和６年９月から産前産後休暇、育児休暇を取得しており、学会発表や論文発表は令和７年度９月以降に予定している。

１１　他の研究への発展

本研究では抗 HK-1 抗体の臨床的な側面について解析している。今後は間質性肺炎病態への HK-1 の関与を明らかにするために、細胞株を用いた線維化メカニズムの解析に着手する予定である。また、間質性肺炎の症例数を増やし、抗 HK-1 抗体測定の臨床的意義について、引き続き解析していく。

１２　その他の成果

なし。

１３　本研究課題による発明届の提出及び知的財産権の出願・取得状況

名　　称	知的財産の種類	発　明　者 （考案者・創作者）	権　利　者	出願・登録番号	出願年月日	取得年月日

※ホームページ等での公開（☑可・□否）いずれかをチェックしてください。
否の場合は，理由書を別途添付のこと。