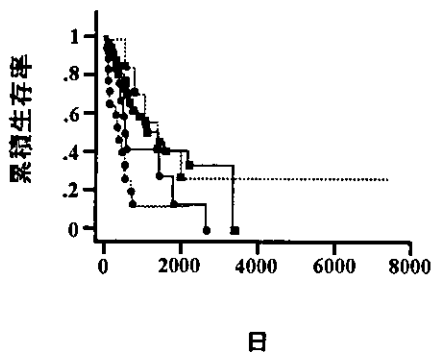
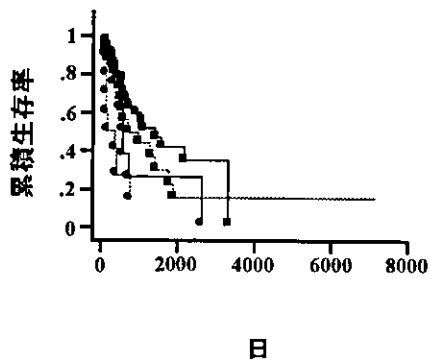


a)



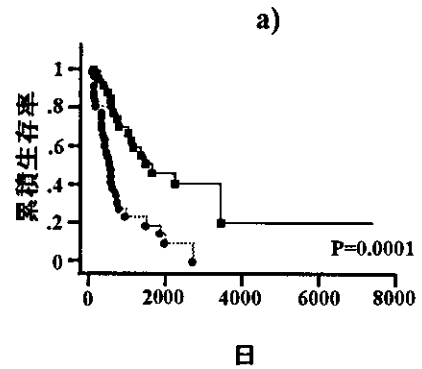
b)



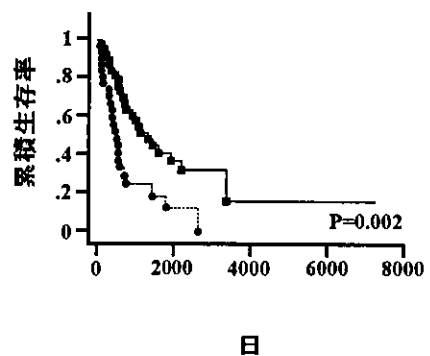
c)

図3 重症度別の生存曲線 (■—■; I度 ■……■; II度 ●—●; III度 ●……●; IV度, a) 試案 b) 新分類 c) 旧分類)

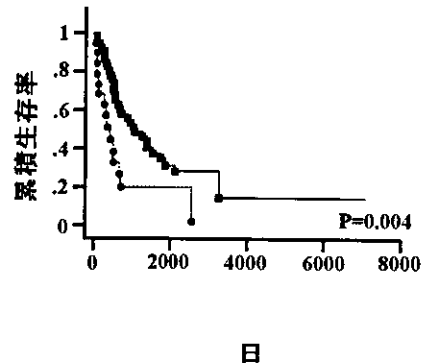
予後に関する当院の IPF 症例 72 例の内訳は、男性 49 例・女性 23 例で、平均年齢は 63 ± 9.9 歳、外科的肺生検により病理組織診断された例は 32 例、剖検診断 22 例、残りの 18 例は ATS/ERS consensus statement により臨床的に診断された⁴⁾。改訂された重症度分類では I 度 34 例、II 度 7 例、III 度 13 例、IV 度 18 例であるが、我々の試案分類では I 度 18 例、II 度 14 例、III



a)



b)



c)

図4 重症度別の生存曲線 (■—■; I+II度 ●……●; III+IV度, a) 試案 b) 新分類 c) 旧分類)

度 14 例、IV 度 26 例であった。

対象とした 72 例全体の生存曲線では、生存期間中央値 (median survival time: MST) は 808 日であった (図 2)。また重症度分類別では、試案、改訂された新分類、旧分類別に生存曲線を見ると、いずれの分類においても重症度が増すにつれて予後が不良になっている傾向を示していた。新・旧分類を比較すると、むし

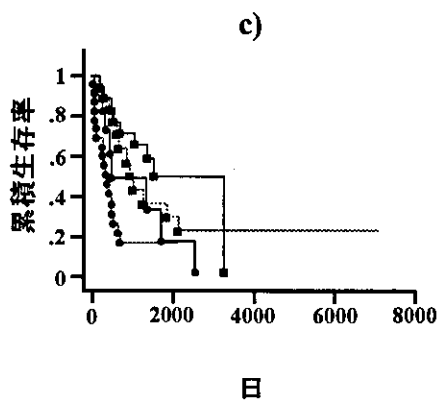
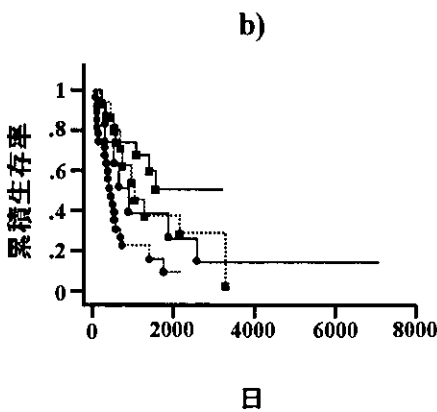
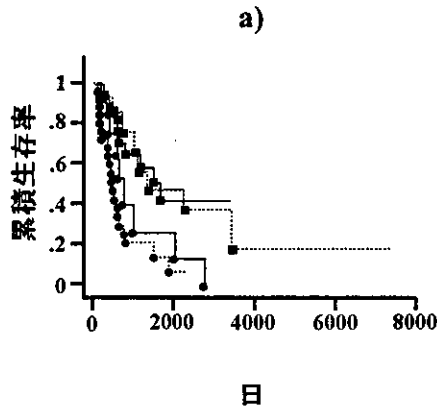


図5 %VC<60%, 70%, 80%にした場合の重症度別の生存曲線 (■: I度, □: II度, ●: III度, ○: IV度, a) %VC<70%, b) %VC<80%, c) %VC<60%)

ろ旧分類の方がより予後を反映するようであった。試案と旧分類を比較した場合では、旧分類ではII度とIII度が重なる傾向であり、試案ではI度とII度が一部重なる傾向であった(図3)。公費負担の対象となる

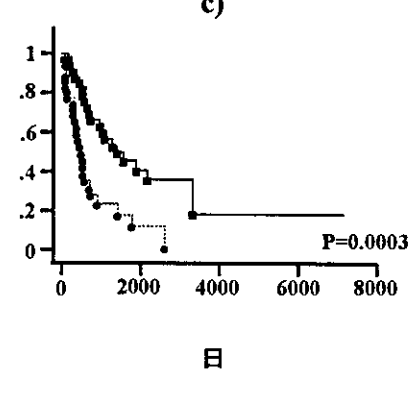
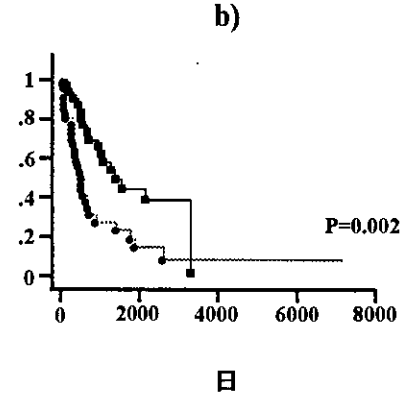
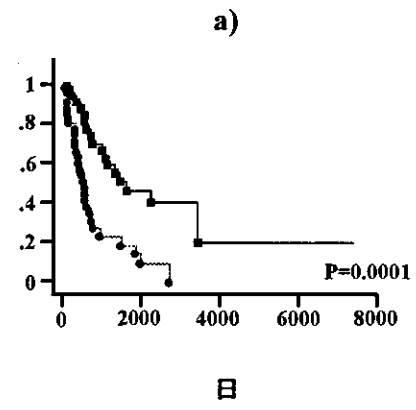


図6 %VC<60%, 70%, 80%にした場合の重症度別の生存曲線 (■: I+II度, ●: III+IV度, a) %VC<70%, b) %VC<80%, c) %VC<60%)

III度以上の症例とII度以下の症例の比較ではいずれの分類においても有意差が認められたが、試案ではその差がより有意であった(図4)。

また、試案の項目のひとつである%VC<70%の妥

当性を検討する目的で、%VC<60%と%VC<80%に区切って重症度分類を再検討しそれぞれで予後を比較した。生存曲線をみると、試案の%VC<70%ではI度とII度が一部重なる傾向で、%VC<80%ではII度とIII度が重なる傾向であった(図5)。同様にIII度以上の症例とII度以下の症例の比較ではいずれの%VCの基準においても有意差が認められたが、試案ではその差がより有意であった(図6)。

考 察

昨年我々が提唱した試案は当院40例のIPF症例のQOLに基づいて作成したが¹²⁾、今回日本医科大学の症例に同様のQOL調査をした結果ほぼ同様の傾向を示していた。また、11例の日本医科大学の症例においても、SF-36の各サブスケールと%VCの相関はみられており(結果未発表)、QOLを考慮した重症度分類に%VCの項目を追加する意義はあるものと考えられる。

そこで、新・旧重症度分類と昨年我々が提唱した試案が予後を反映するか否かを検討した。新・旧の比較では、むしろ旧分類の方が予後の面では優れた分類であるという結果であった。しかし、QOLを重視した我々の試案は、予後の面でも従来の分類に比して優れたものであることも示された。

IIPのなかで最も症例数が多く、難治性であるIPFでは標準的な治療法が確立されていないのが現状である。IPFの予後を推定する因子として、組織学的所見⁹⁾や肺機能検査値⁹⁾⁻¹²⁾、高分解能CT所見¹³⁾などが知られている。それらのなかで簡便かつ客観的な指標となる肺機能検査では、診断時のFVC⁹⁾、DLco⁷⁾、6分間歩行時のSpO₂値⁹⁾や6-12か月間のFVC¹⁰⁾¹¹⁾・DLco¹²⁾の変化率などが予後因子とされている。我々の試案は改訂された重症度分類に%VCの低下の項目を追加しさらにPaO₂≥80 Torrの症例にも運動時の低酸素血症を考慮していることより、従来の分類よりも予後を反映しやすいことは当然の結果かもしれない。DLcoについては、測定方法の煩雑さや低肺機能症例での再現性の低さなどから敢えて試案に取り入れなかった。%VC<70%という設定は予後の面からも妥当であることも示された。

本邦の重症度分類は公費負担の目的に作成された経緯がある。その意味では疾患のQOLを反映させることは意義あるものと考えられる。さらに本来疾患の重症

度分類はその予後を反映させ、重症度別に管理・治療方針を決めるためのものである。気管支喘息¹⁴⁾やCOPD¹⁵⁾では国際的な重症度分類に基づいて治療方針が定められ、特に歴史のある気管支喘息では一定の効果が見られている。IIPにおいてもようやく国際的な病型分類がなされ¹⁶⁾、今後はその治療に重点がおかれることになる。IPFではさまざまな治療法が考案されているが、決定的なものはない。そのなかで、近年抗線維化療法が注目されIFN- γ ¹⁷⁾やピルフェニドン¹⁸⁾などの治験が進められている。これまでの報告では進行したIPF、換言すれば線維化が進んだものでは無効であることが示され¹⁷⁾、重症度毎に治療法を考慮する必要がある。そのためにも国際的な重症度分類を作成し、それに基づいて各国で治療を検討することが望まれる。

結 論

QOLを反映させた我々のIIPの重症度分類試案は新旧重症度分類と比べ予後を反映するものであることが示された。

参考文献

- 1) 大野彰二, 中澤晶子, 小林 晃他: SF-36による特発性肺線維症の重症度分類の再評価. 厚生省特定疾患呼吸器系疾患調査研究班びまん性肺疾患分科会平成15年度研究報告書2004; 129-132.
- 2) Ohno S, Nakazawa S, Kobayashi A, et al: Re-assessment of the classification of the severity in idiopathic pulmonary fibrosis. *Internal Medicine* 2005; 44 (in print).
- 3) 福原俊一, 鈴鴨よしみ, 尾藤誠司, 黒川 清: SF-36日本語版マニュアル (ver. 1.2). (財)パブリックヘルスリサーチセンター, 東京, 2001.
- 4) American Thoracic Society: Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Diagnosis and Treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 646-664.
- 5) King TE, Schwarz MI, Brown K, et al: Idiopathic pulmonary fibrosis: relationship between histopathologic features and mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1025-1032.
- 6) King TE, Toozé JA, Schwarz MI, et al: Predict-

- ing survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 ; 164 : 1171-1181.
- 7) Mogulkoc N, Brutsche MH, Bishop PW, et al : Pulmonary function in idiopathic pulmonary fibrosis and referral for lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 ; 164 : 103-108.
- 8) Lama VN, Flaherty KR, Toews GB, et al : Prognostic value of desaturation during a 6-minute walk test in idiopathic interstitial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2003 ; 168 : 1084-1090.
- 9) Hallstrand TS, Boitano LJ, Johnson WC, et al : The timed walk test as a measure of severity and survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2005 ; 25 : 96-103.
- 10) Flaherty KR, Mumford JA, Murray S, et al : Prognostic implications of physiologic and radiographic changes in idiopathic interstitial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2003 ; 168 : 543-548.
- 11) Collard HR, King TE, Bartelson BB, et al : Changes in clinical and physiologic variables predict survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003 ; 168 : 538-542.
- 12) Latsi PI, du Bois RM, Nicholson AG, et al : Fibrotic idiopathic interstitial pneumonia : the prognostic value of longitudinal functional trends. *Am J Respir Crit Care Med* 2003 ; 168 : 531-537.
- 13) Gay SE, Kazerooni EA, Toews GB, et al : Idiopathic pulmonary fibrosis : predicting response to therapy and survival. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 ; 157 : 1063-1072.
- 14) National Heart, Lung, and Blood Institute, World Health Organization. Global initiative for asthma, global strategy for asthma management and prevention (revised 2002). Bethesda : National Institute of Health ; 2002.
- 15) NHLBI/WHO Workshop Report : Global initiative for chronic obstructive lung disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. Updated 2003.
- 16) American Thoracic Society, European Respiratory Society. ATS/ERS international multidisciplinary consensus classification of idiopathic interstitial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 165 : 277-304.
- 17) Raghu G, Brown KK, Bradford WZ, et al : Idiopathic Pulmonary Fibrosis Study Group. A placebo-controlled trial of interferon gamma-1b in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 125-133.
- 18) Azuma A, Nukiwa T, Tsuboi E, et al : Double blind, placebo-controlled trial of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2005 Jan 21 ; [Epub ahead of print]

特発性肺線維症 (IPF) の臨床的検討 —— 急性増悪例の解析 ——

岡本 竜哉¹ 一安 秀範¹ 一門 和哉^{1,2} 村中 裕之^{1,2}
佐藤 圭創¹ 岡本真一郎¹ 彌永 和宏^{1,3} 菅 守隆^{1,2*}

特発性肺線維症 (IPF) の急性増悪は、「1ヶ月以内の経過で、呼吸困難の増強、HRCT 所見で蜂巢肺所見に加え、新たに生じたすりガラス陰影・浸潤影、PaO₂ の低下 (同一条件下で 10 mmHg 以上) のすべてがみられる場合」と定義され、極めて予後不良の病態である。今回我々はその臨床像を検証するため、当科過去 10 年間 (1994-2004 年) において経験した IPF 症例について急性増悪例を中心に解析した。IPF 112 症例のうち、56 例が死亡しており、その死因は、急性増悪 (42.9%)、肺癌 (21.4%)、慢性呼吸不全 (14.3%)、感染 (8.9%)、その他 (12.5%) であった。急性増悪は IPF 症例の 28 例 (25%) にみられ、その大部分は初診から 2 年以内に発症しており、発症後の平均生存期間は 1.95 ヶ月、死亡率は 85.7% であった。IPF 全体の初診時からの 5 年生存率は 38.3% であったが、急性増悪例に限ると 10.7% で、肺癌の合併と並んで重要な予後不良因子と考えられた。急性増悪の誘因として、32.1% に先行気道感染が疑われ、BAL、肺癌治療、ステロイドの減量が誘因と考えられた例は合わせて 21.5%、残り 46.4% は誘因不明であった。近年治療として、ステロイドパルス療法に加え、シクロスポリン A や好中球エラストラーゼ阻害薬を用いているが予後の改善には到っておらず、急性増悪発症の基礎的な病態解明ならびに免疫抑制によらない新たな治療法の開発が望まれる。

Analysis of clinical features in patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis

Tatsuya Okamoto¹, Hidenori Ichiyasu¹, Kazuya Ichikado^{1,2}, Hiroyuki Muranaka^{1,2},
Keizo Sato¹, Shinichiro Okamoto¹, Kazuhiro Iyonaga^{1,3}, and Moritaka Suga^{1,2}

¹Department of Respiratory Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University.

²Department of Respiratory Medicine, Saiseikai Kumamoto Hospital.

³Department of Respiratory Medicine, NTT West Japan Kyusyu Hospital

The clinical course of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is chronic in nature, however some patients with IPF have phases of accelerated deterioration superimposed on the chronic course of their illness, which is so called acute exacerbation (Aex) of IPF. We defined the patients who fulfilled the following criteria for Aex of IPF: 1) exacerbation of dyspnea within 1 month, 2) new diffuse pulmonary ground-glass opacities and consolidations superimposed on honeycombing on HRCT, 3) a decrease in PaO₂ of more than 10 mmHg under similar conditions, and 4) absence of apparent infectious agents, pneumothorax, malignancy, pulmonary embolism, and heart failure. To further evaluate the clinical feature of Aex of IPF, we analyzed clinical findings of the 112 patients with IPF who admitted in our hospital over a 10-yr period from 1994 to 2004. 56 of 112 patients with IPF died during the observation period due to Aex (42.9%), lung cancer (21.4%), chronic respiratory failure (14.3%), and lower respiratory infection (8.9%). Aex of IPF was seen 28 of 112 patients with IPF (25%). In most cases, Aex occurred within 2 years after the first diagnosis. The mean survival period after the onset of Aex was 1.95 month, and the mortality was 85.7%. The 5-yr survival rate of the patients with IPF (total), IPF with Aex, IPF without Aex after the first diagnosis was 38.3%, 10.7%, and 50.3%, respectively. Thus, these findings indicated that the patients with Aex of IPF have poor prognosis. The triggers of Aex were suggested to be lower respiratory infection (32.1%), bronchoalveolar lavage (7.1%), therapy of lung cancer (7.1%), and tapering of corticosteroid (7.1%), and the rest of 46.4% occurred without any trigger. We have treated the patients with Aex with methylprednisolone pulse therapy in combination with immunosuppressants such as cyclophosphamide or cyclosporine A, and/or neutrophil elastase inhibitor, which did not improve the prognosis of Aex. In conclusion, there is little evidence that currently accepted treatments are effective in Aex of IPF, and further studies should be needed for the pathogenesis and prevention of Aex.

はじめに

特発性間質性肺炎 (IIPs) は原因不明の間質性肺炎の総称で、このたびの「特発性間質性肺炎・診断と治療の手引き (第4次改定)」¹⁾ では、2002年の「ATS/ERS 国際多分野合意分類」²⁾ を受けて、その病理組織学的所見に基づき、7つの臨床病理学的疾患単位に分類されるようになった (Table 1)³⁻⁶⁾。特発性肺線維症 (IPF) は IIPs の約半数以上を占め⁷⁾、慢性進行性に高度の線維化と肺胞構築の改変を呈し、不可逆的な蜂巢肺の形成をきたす予後不良の疾患である。IPF の慢性経過中に両肺野に新たな浸潤影の出現とともに急速な呼吸不全の進行がみられる病態が認識されており、「IPF の急性増悪 (acute exacerbation)」として我が国で提唱された概念である^{8,9)}。IPF の死因は、急性増悪 (25.7%)、肺癌 (20.0%)、慢性呼吸不全 (41.0%)、感染

(2.0%) と報告されており、初回急性増悪での死亡率は約 80%、改善例でも平均 6ヶ月で死亡するとされ、IPF の予後を規定する最も重要な病態と考えられる。欧米には急性増悪の概念はなく、2000年の ATS/ERS international consensus statement¹⁰⁾ にも記載されておらず、IPF の進行様式の一つとして理解されてきた。しかしながら、急性増悪に相当する病態は確かに認識されていたと考えられ、例えば、“Advanced IPF requiring mechanical ventilation for ARDS”¹¹⁾、“IPF admitted to ICU”¹²⁾、“DAD in IPF”¹³⁾ 等といった様々な呼び名で表現されてきた。しかしながら、2002年の ATS/ERS 国際多分野合意分類²⁾ に“acute exacerbation”という言葉が明記されて以降、次第に欧米においても認識されるようになった^{14,15)} (Table 2)。今後「急性増悪」を全国規模で症例集積し、この概念を世界に向けてアピールしていくことが、病態の解明と治療法の開

Table 1. IPF の臨床病理学的疾患単位とその頻度

	n	IPF	NSIP	DIP / RB-ILD	COP	AIP	文献
Bjoraker	63	64 %	14 %	10 %	4 %	2 %	AJRCCM 1998; 157: 199
Travis	101	55 %	29 %	16 %	---	---	Am J Surg Pathol 2000; 24: 19
Nicholson	78	47 %	36 %	17 %	---	---	AJRCCM 2000; 162: 2213
Nagai	111	58 %	28 %	---	14 %	---	Eur Respir J 1998; 12: 1010
本邦例	606	53 %	17 %	5 %	9 %	2 %	びまん性肺疾患研究班平成 13 年度報告書: 99

IPF: 特発性肺線維症, NSIP: 非特異性間質性肺炎, DIP: 剝離性間質性肺炎, RB-ILD: 呼吸細気管支炎-間質性肺疾患, COP: 特発性器質化肺炎, AIP: 急性間質性肺炎, LIP: リンパ球性間質性肺炎

Table 2. IPF の急性増悪に関する主な英文報告

報告者	急性増悪の呼び名	n (M)	age	%died	Journal
Kondoh	acute exacerbation	3 (3)	61.0	0	Chest 1993; 103: 1808
Akira	accelerated deterioration	17 (14)	63.2	52.9	Am J Roentgenol 1997; 168: 79
Stern	advanced IPF requiring mechanical ventilation for ARDS	23 (19)	52.9	95.7	Chest 2001; 120: 213
Saydain	IPF admitted to ICU	38 (25)	68.3	97.4	AJRCCM 2002; 166: 839
ATS/ERS	acute exacerbation	Consensus Classification			AJRCCM 2002; 165: 277
Ambrosini	acute exacerbation	5 (4)	70.2	80.0	Eur Respir J 2003; 22: 821
Rice	DAD in IPF	12 (10)	66.0	---	Am J Clin Pathol 2003; 119: 709
Al-Hameed	acute exacerbation	25 (23)	69.0	96.0	Can Respir J 2004; 11: 117
本報告	acute exacerbation	28 (20)	68.2	85.7	-----

1 熊本大学大学院医学薬学研究部 呼吸器病態学分野

2 済生会熊本病院 呼吸器・糖尿病センター

3 NTT 西日本九州病院 呼吸器内科

* びまん性肺疾患調査研究班 分担研究者

発において急務であると考え、当科における IPF の症例について急性増悪例を中心に検討を行った。

IPF 入院症例の概略

熊本大学附属病院呼吸器内科 (第一内科) における過去 10 年間 (1994-2004) の IPF 入院症例数 112 例 (平均年齢 67.9±8.4 歳, 男性 87 例) の解析を行った (特定疾患認定 20 例, 17.9%)。入院件数はのべ 247 件で、一部の症例 (33 例, 29.5%) は、肺癌や感染症のため 3 回以上の入院を余儀なくされている。初診時の臨床検査値を生存・死亡群に別けて示した (Table 3) が、有意な差は多くの因子において認めることはできなかった。VATS は 27 例 (24.1%)、病理解剖と合わせ 46 例 (41.1%) で組織診断を得た。「診断と治療の手引き」においては、HRCT にて典型的な IPF 像 (肺底部

胸膜直下優位の蜂巢肺) を呈し、副診断基準 4 項目中 3 項目を満たす IIPs は外科的肺生検を行わなくても臨床的に IPF と診断できると明記されている³⁾ が、当科においても HRCT による臨床診断の比率が年々増加傾向にあり、VATS による組織診断は 1994 年をピークに減少し、2000 年を最後に以後行っていない。

IPF の死因分析

急性増悪は、28 例 (男性 20 例) に認め、急性増悪時の平均年齢は 68.2±10.2 歳であった。このうち、24 例が急性増悪にて死亡し、死亡率は 85.7% と他の死因に比べ有意に高かった (Fig. 1A)。2 例が急性増悪改善後に肺癌にて死亡し、今日まで生存している急性増悪症例は 2 例である。IPF 全体では、この 10 年間で 56 例

Table 3. IPF の臨床検査値

	n	PaO ₂	%VC	DLco/va	BAL-AM	BAL-PMN	BAL-Ly
Total	112	77.4 ± 14.8	77.4 ± 20.5	3.14 ± 1.15	82.5 ± 12.7	7.5 ± 11.5	8.1 ± 8.0
Alive	56	78.3 ± 15.0	76.8 ± 20.9	3.14 ± 1.08	83.1 ± 13.0	7.4 ± 10.6	8.3 ± 8.8
Died	56	76.5 ± 14.6	78.2 ± 20.2	3.14 ± 1.25	81.8 ± 12.6	7.7 ± 13.0	7.7 ± 6.8
	n	WBC	CRP	LDH	IgG	KL-6	SP-D
Total	112	7449 ± 2607	1.54 ± 3.32	243 ± 113	2007.7 ± 682.4	1504 ± 1467	383.6 ± 578.1
Alive	56	7357 ± 2274	1.01 ± 2.02	212 ± 60	1990.7 ± 686.5	1446 ± 1576	283.4 ± 118.2
Died	56	7544 ± 2927	2.06 ± 4.19	275 ± 143	2023.0 ± 685.7	1574 ± 1363	483.7 ± 808.6

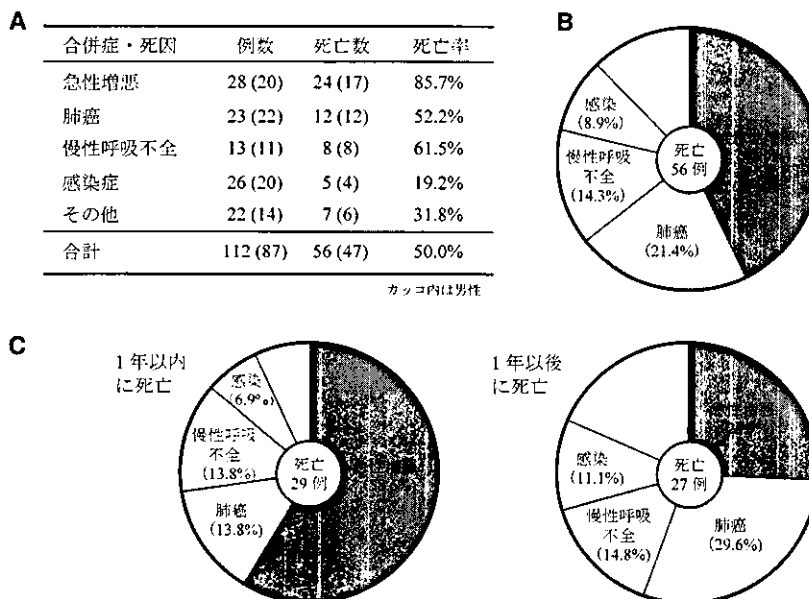


Fig. 1 IPF の合併症と死因分析

A. IPF の合併症とその死亡率。急性増悪は、28 例に認め、死亡率は 85.7% と他の死因に比べ高かった。B, C. IPF の死因分析。死亡例の 4 割が急性増悪、2 割が肺癌による死亡であった。特に初診から 1 年以内に死亡した症例では、その 6 割が急性増悪による死亡であった。

(50.0%) が死亡しており、その約 4 割 (24 例, 42.9%) が急性増悪, 約 2 割 (12 例, 21.4%) が肺癌, ついで慢性呼吸不全 (14.3%), 感染 (8.9%), その他 (12.5%) による死亡であった (Fig. 1B). 班会議の全国統計では, 急性増悪は IPF の死因の 25.7% と報告されており, 当科のデータはこれに比べ高い値であったが, それは, 急性増悪による初回入院の比率 (急性増悪例の 10 例, 35.7%) が当科の特性上高いためである (Fig. 5A). 初診から死亡までの期間で分けると, 1 年以内に死亡した症例は 29 例 (51.8%) で, その約 6 割 (58.6%) が急性増悪による死亡であった. 一方, 1 年以後に死亡した症例は 27 例 (48.2%) で, 急性増悪による死亡は

25.9% と減少し, 代わりに肺癌による死亡 (29.6%) の割合が増加した (Fig. 1C).

IPF 入院症例の生存曲線

当科 IPF 患者の初診からの平均生存期間は 54.8ヶ月 (4.6 年), 5 年生存率は 38.3% であり, 班会議の全国調査の 40% とほぼ一致するものであった. 急性増悪 28 例は有意に予後が悪く, 平均生存期間は 21.3ヶ月 (1.8 年), 5 年生存率は 10.7% であった. 一方, 急性増悪を起こさなかった症例 84 例では, 平均生存期間は 69.2ヶ月 (5.8 年), 5 年生存率は 50.3% であった (Fig. 2).

	Aex	Non-Aex	Total
症例数	28 例	84 例	112 例
平均生存期間	21.3 ヶ月	69.2 ヶ月	54.8 ヶ月
5 年生存率	10.7%	50.3%	38.3%

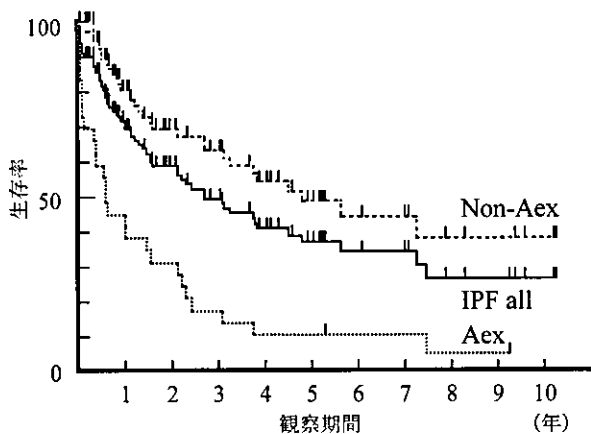


Fig. 2 IPF 入院症例の生存曲線 (急性増悪の有無)
初診からの平均生存期間は 54.8ヶ月, 5 年生存率は 38.3% であった. 急性増悪例は有意に予後が悪く, 平均生存期間は 21.3ヶ月, 5 年生存率は 10.7% であった. 一方, 急性増悪を起こさなかった症例は, 平均生存期間は 69.2ヶ月, 5 年生存率は 50.3% であった.

IPF と肺癌の合併症例の解析

主旨とは離れるが, 肺癌合併の問題は IPF の予後を議論する上で避られない問題であり, またその治療に伴う IPF の増悪 (放射線治療や, gefitinib などに代表される抗癌剤による薬剤性肺炎など) の問題も大きな課題であるので解析を加えた. 肺癌の合併は IPF 症例の 23 例 (20.5%) に認めた. そのうち 70% は NSCLC で, 病期は進行例 (stage IIIA 以上) が約 3/4 を占めていた. 肺癌合併 IPF の死亡例は 16 例 (70%) で, その 75% (12 例) は肺癌が原因で死亡した (Fig. 3). 17 例 (74%) は初診時にすでに IPF と肺癌の両方を持っていたが, 6 例 (26%) は, IPF の経過観察中に肺癌が発生したものと考えられた. この場合, IPF の初診から肺癌の発症 (発見) までの期間は平均 4.0 ± 1.5 年であった. また, 病期は IIIA 4 例, IV 1 例, IB 1 例, と, 経過観察中といえども肺癌の早期発見は困難であることを物語っており, その理由としては, (1)

A 肺癌の合併率と死亡率

	合併数 (n = 112)	死亡 (%)	死因		
			LC	Aex	others
NSCLC	14 (12.5%)	7 (50%)	4	2	1
SCLC	7 (6.2%)	7 (100%)	6	1	0
NSCLC + SCLC	2 (1.8%)	2 (100%)	2	0	0
合計	23 (20.5%)	16 (70%)	12	3	1

B IPF 合併肺癌の発見時臨床病期

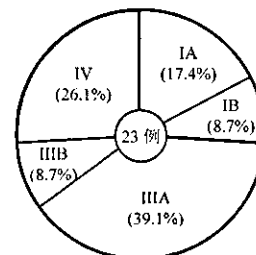


Fig. 3 IPF と肺癌の合併
肺癌の合併率と死亡率. 肺癌の合併は約 1/5 の症例に認め, そのうち 70% は NSCLC で, 死亡率は 70% であった. B. IPF 合併肺癌の発見時臨床病期. 進行例 (stage IIIA 以上) が約 3/4 を占めており, 早期発見が困難であることが示唆された.

既存構造が壊れているために結節影の読影が難しく、炎症性結節等との鑑別が困難 (2) 肺癌を疑っても肺機能が悪いために積極的な検査が不可能 (3) IPF 自体が予後不良であるため、たとえ肺癌があっても生命予後には影響しないであろうというあきらめ的な臨床判断、などが挙げられる。肺癌の合併の有無を加味して生存曲線を求めた (Fig. 4)。肺癌合併症例の平均生存期間は 41.8ヶ月 (3.5年)、5年生存率は 25.8%であった。急性増悪と肺癌の両方を合併する症例の平均生存期間は 16.9ヶ月 (1.4年)、5年生存率は 0%であった。以上の結果より、肺癌の合併は IPF の予後を明らかに悪化させ、逆に IPF の合併は肺癌の予後を悪化させると同時に治療の選択肢を狭める要因となるもの

	Aexのみ	LCのみ	Aex+LC	合併なし	Total
症例数:	23例	18例	5例	66例	112例
平均生存期間:	22.3ヶ月	41.8ヶ月	16.9ヶ月	78.4ヶ月	54.8ヶ月
5年生存率:	13.0%	25.8%	0.0%	57.2%	38.3%

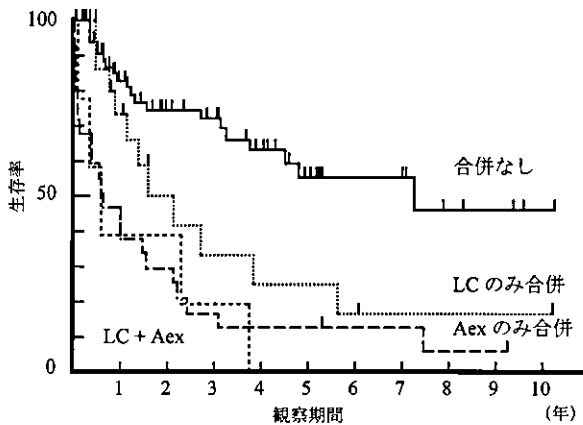


Fig. 4 IPF 入院症例の生存曲線 (急性増悪と肺癌の合併の有無) 肺癌合併例の平均生存期間は 41.8ヶ月、5年生存率は 25.8%であった。急性増悪と肺癌の両方を合併する症例の平均生存期間は 16.9ヶ月、5年生存率は 0%であった。いずれの合併もない症例の平均生存期間は 78.4ヶ月で、5年生存率は 57.2%であった。

と結論される。一方、いずれの合併もない症例の平均生存期間は 78.4ヶ月 (6.5年) で、5年生存率は 57.2%であった。この数字が、純粋に肺線維症そのものの進行による IPF の予後を反映しているものと考えられた。

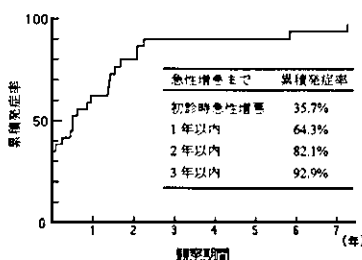
IPF 急性増悪の発症時期

急性増悪は IPF のいずれの病期にも生じ得ると考えられている。初診から急性増悪までの期間を検討したところ、初診後 2年以内に 82.1%が、3年以内に 92.9%が急性増悪を発症した事が分かった (Fig. 5A)。多くの症例において IPF の発症時点を特定することが困難であるため、発症から急性増悪までの期間がどのくらいかという疑問に答えることは困難であった。拘束性障害は、IPF の予後推定因子の一つとされ、初診時の %VC が平均値以上の群 (high %VC 群) と、%VC が平均値以下の群 (low %VC 群) で比較すると、平均生存期間は 63 vs 53ヶ月、5年生存率が 42 vs 38%と、その傾向が確認された (Fig. 6A)。しかしながら、初診時の %VC と急性増悪発症までの期間の間には有意な相関はみられず、拘束性障害の程度で急性増悪の時期や可能性を予測することは困難であった (Fig. 6B)。

IPF 急性増悪の誘因

急性増悪は冬～春季に多く (1～6月: 20例 71.4%)、夏～秋季に少ない傾向があった。このことは、何らかの気道感染 (とくにウイルス感染) が急性増悪の誘因となる可能性を示唆するものである。実際、約 1/3 (32.1%) の症例で先行気道感染が誘因と考えられたが、約

A 初診から急性増悪までの期間 (28例)



B 急性増悪発症後の生存期間 (24例)

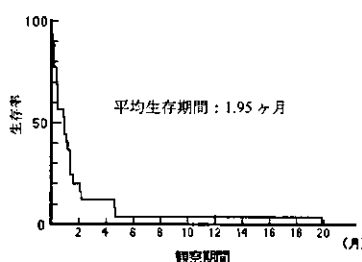


Fig. 5 IPF の急性増悪までの期間と急性増悪後の生存期間

A. 初診から急性増悪までの期間。初診後 2年以内に 82.1%が、3年以内に 92.9%が急性増悪を発症した。B. 急性増悪発症後の生存期間。ほとんどの症例が 1-2ヶ月以内に死亡し、発症後の平均生存期間は 1.93ヶ月であり、1例を除き 5ヶ月以内に死亡した。

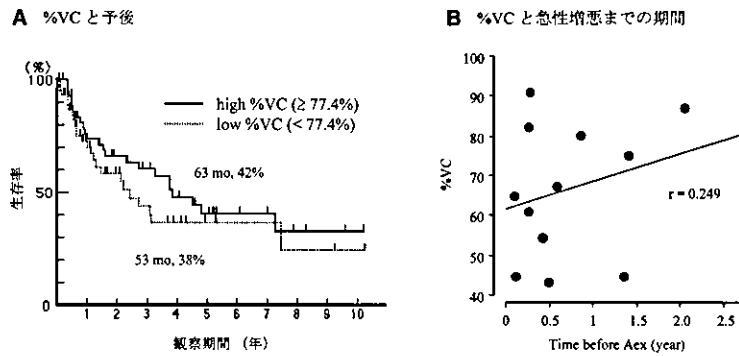


Fig. 6 IPFの予後と%VC

A. 初診時の%VCと予後曲線。%VCが平均値以上の群と、以下の群と比較すると、平均生存期間は63 vs 53ヶ月、5年生存率が42 vs 38%であり、%VCの低下は予後不良を予測する因子となり得ることが推測された。B. 初診時の%VCと急性増悪発症までの期間。有意な相関はみられず、%VCの低下の程度で急性増悪の時期や可能性を予測することは困難と考えられる。

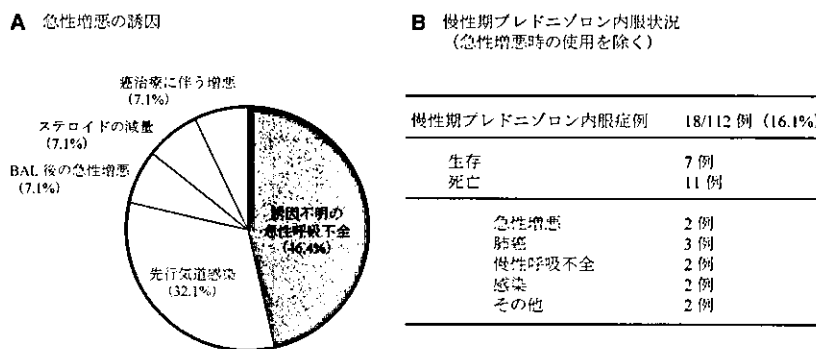


Fig. 7 IPFの急性増悪の誘因と急性増悪中の合併症

A. 急性増悪の誘因。約1/3の症例で先行気道感染が誘因と考えられたが、約1/2の症例で誘因不明であった。B. 慢性期のPSLの内服状況。IPF症例の83.9%に対して当科ではこれまでPSLを用いてこなかった。PSLを用いた18例のうち11例はすでに死亡し、そのうち2例が急性増悪であり、その減量がきっかけと考えられた。

1/2 (46.4%) の症例で誘因不明であった。原因が明らかかなものに、BAL後、ステロイドの減量、癌治療に伴う例をそれぞれ2例 (7.1%) ずつ認めた (Fig. 7A)。ステロイドの減量が急性増悪の原因となる割合は19.4%とこれまで報告されているが、当科においてはあまり認められなかった。IPF症例の94例 (83.9%) に対して当科ではこれまでプレドニゾン (PSL) を用いてこなかったため、割合が低かったものと考えられる。PSLを用いた18例 (16.1%) においては、呼吸困難感の増強や肺機能の悪化、本人の強い希望などの理由で投与を開始したことが多かった。このうち11例はすでに死亡し、そのうち2例が急性増悪、残りの9例は別の原因 (肺癌、感染、呼吸不全) にて死亡した (Fig. 7B)。生存7例については、今後も減量せず使用する方針である。IPFに対しては安易なステロイドの使用は控えるべきで、やむを得ず投与を始める場合は、減量せず投与を継続する覚悟が必要であるという意見を耳にするが、本当かもしれない。

IPF 急性増悪の治療

急性増悪の病理組織所見がorganizing DAD (diffuse alveolar damage) であることから、その成因には急性肺傷害や炎症病態が強く関与していることが推定され、これを根拠としてこれまでステロイドパルス療法に代表される免疫抑制療法が行われてきた。現に「診断と治療の手引き」¹⁾においても、mPSLパルス療法 (1g/日を3日間、1週間隔、1-4クール)、もしくはmPSL漸減法 (2mg/kg/日を2週間、次いで0.5~1.0mg/kg/日を2週間) (両者とも場合によっては免疫抑制剤を併用してもよい) といった方法が「治療例」として明記されている。当科においても全例にmPSLパルス療法を行っており、反応不良例・重症例にはシクロフォスファミドや、2001年以降は治療開始時よりシクロスポリンAや好中球エラスターゼ阻害薬を併用するようになった (Fig. 8A)。しかしながらその治療成績と予後は著しく不良と云わざるを得ず、

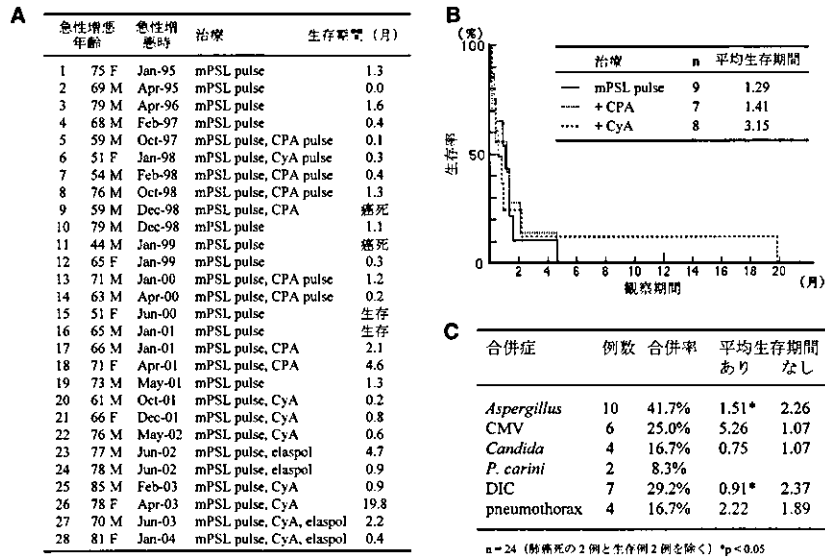


Fig. 8 IPF 急性増悪の治療と予後

A. 急性増悪の治療内容と生存期間。全例に mPSL パルス療法を行っており、反応不良例・重症例にはシクロフォスファミドや、シクロスポリン A や好中球エラストナーゼ阻害薬を併用した。B. 治療内容と予後。免疫抑制剤の併用が予後の改善をもたらしているとは結論できなかった。C. 急性増悪治療中にみられた合併症。41.7% にアスペルギルス感染を、29.2% に DIC を認め、合併により平均生存期間の有意な短縮を認めた。

ほとんどの症例が 1-2ヶ月以内に死亡し、発症後の平均生存期間は 1.93ヶ月であり、1例を除き 5ヶ月以内に死亡した (Fig. 5B)。さらに、免疫抑制剤を併用することが、著明な治療効果や生存率の改善をもたらしているとも結論できず (Fig. 8A, B)、現時点では、ことさら効果的な治療法とは結論できなかった。

IPF 急性増悪とアスペルギルス感染症

急性増悪死亡例 (24例) のうち 10例 (41.7%) にアスペルギルス感染を、7例 (29.2%) に DIC を認め、これらの合併により平均生存期間の有意な短縮を認め (Fig. 8C)、特にアスペルギルス感染例は全例死亡した。一方、サイトメガロウイルス感染症やカリニ肺炎、アスペルギルス以外の真菌症の合併については克服可能と考えられた。免疫抑制剤の併用は、致命的と考えられるアスペルギルス感染のリスクを高めると当初予測したが、実際の合併率は、mPSL パルス単独群: 5/12例 (41.7%)、エンドキサン併用群: 3/8例 (37.5%)、シクロスポリン A 併用群: 2/8例 (25.0%) であり、免疫抑制剤の併用が感染のリスクを高めているとは必ずしもいえず、むしろ、末梢血リンパ球比率の低下といった免疫能力の低下が感染成立に深く関与することがわかった。臨床経過を検討すると、急性増悪例の 2大死因は、(1) 急性期の病状の進行 (陰影の

進展や LDH などのマーカーの増加) をステロイドパルスや免疫抑制剤にてコントロールできなかったことに起因する急性呼吸不全の進行、(2) 仮になんとかコントロールできたとしてもその後に起こるアスペルギルス感染症に伴う諸問題 (慢性呼吸不全の進行、咯血、膿気胸など)、と云えた。従って、アスペルギルス感染の予防は、可能かつ有効な補助手段と考えられ、免疫能低下状態 (特にリンパ球比率) の注意深い監視や、病室の室内換気口やエアコンの清拭、エアフィルターや場合によってはクリーンルームの使用などを今後検討する必要がある。但し、一度アスペルギルス感染が起こってしまうと現在の抗真菌薬では克服が極めて困難で、予後は極めて厳しいと云わざるを得ないのが現状であろう。

最後に

IPF の病態については従来「炎症論」で論じられてきた。すなわち、「繰り返す刺激や傷害が慢性の胞隔炎を惹起し、その過程で修復機転の障害や筋線維芽細胞の増殖とリモデリングを招き、線維化が進行する」という考え方である。これは、膠原病肺や慢性過敏性肺炎、プレオマイシンに代表される薬剤性肺炎には当てはまる考え方であり、ステロイド治療も有効性が期待できる。しかしながら、近年「炎症なき線維化」ある

いは「上皮障害論 (epitheliopathy)」が³, (1) IPF にはステロイドが無効である¹⁶, (2) 炎症がなくても線維化は惹起できる^{17,18}, (3) IPF の初期像に炎症所見は見られない¹⁹, (4) IPF の予後や病勢と炎症所見が必ずしも相関しない²⁰, などの理由から注目されるようになった。これは「上皮の傷害・活性化がまず起こり、ここに TGF- β や PDGF といった増殖因子の過剰産生が加わり、筋線維芽細胞による fibroblastic foci が形成され、再上皮化の失敗、筋線維芽細胞のアポトーシスの抑制、コラーゲンの過剰沈着などが起こり、線維化に至る」という考え方である²⁰。いずれにせよ IPF 自体の病因・病態が解明されていない現在、「IPF の急性増悪」の病因・病態に迫ることは、甚だ困難であると云わざるを得ないが、本病態の治療抵抗性、とくにステロイドや免疫抑制剤に対するレスポンスが極めて低い事を考えると、やはり単なる急性炎症論のみでは語ることができない病態と考えられ、現在第 III 相試験中の抗線維化薬である pirfenidone や、今後発展が期待される再生医療といった、免疫抑制とは異なる観点からの新しい治療法の開発が強く望まれる。

参考文献

- 1) 特発性間質性肺炎 診断と治療の手引き, 日本呼吸器学会びまん性肺疾患 診断・治療ガイドライン作成委員会. 2004. 南江堂.
- 2) American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 277-304.
- 3) Nicholson AG, Colby TV, du Bois RM, et al. The prognostic significance of the histologic pattern of interstitial pneumonia in patients presenting with the clinical entity of cryptogenic fibrosing alveolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 2213-2217.
- 4) Bjraker JA, Ryu JH, Edwin MK, et al. Prognostic significance of histopathologic subsets in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 199-203.
- 5) Travis WD, Matsui K, Moss J, et al. Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia: prognostic significance of cellular and fibrosing patterns: survival comparison with usual interstitial pneumonia and desquamative interstitial pneumonia. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 19-33.
- 6) Nagai S, Kitaichi M, Itoh H, et al. Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia/fibrosis: comparison with idiopathic pulmonary fibrosis and BOOP. *Eur Respir J* 1998; 12: 1010-1019.
- 7) 吾妻安良太, 工藤翔二, 菅 守隆. 特発性間質性肺炎の診断基準改訂作業経過報告. 厚生科学研究特定疾患対策研究事業 びまん性肺疾患研究班平成 13 年度研究報告書 2002; 99-105.
- 8) Kondoh Y, Taniguchi H, Kawabata Y, et al. Acute exacerbation in idiopathic pulmonary fibrosis. Analysis of clinical and pathologic findings in three cases. *Chest* 1993; 103: 1808-1812.
- 9) Akira M, Hamada H, Sakatani M, et al. CT findings during phase of accelerated deterioration in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 168: 79-83.
- 10) American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 646-664.
- 11) Stern JB, Mal H, Groussard O, et al. Prognosis of patients with advanced idiopathic pulmonary fibrosis requiring mechanical ventilation for acute respiratory failure. *Chest* 2001; 120: 213-219.
- 12) Saydain G, Islam A, Afessa B, et al. Outcome of patients with idiopathic pulmonary fibrosis admitted to the intensive care unit. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 839-842.
- 13) Rice AJ, Wells AU, Bouros D, et al. Terminal diffuse alveolar damage in relation to interstitial pneumonias. An autopsy study. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 709-714.
- 14) Ambrosini V, Cancellieri A, Chilosi M, et al. Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis: report of a series. *Eur Respir J* 2003; 22: 821-826.
- 15) Al-Hameed FM, and Sharma S. Outcome of patients admitted to the intensive care unit for acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Can*

- Respir J 2004; 11: 117-122.
- 16) Collard HR, King TE, Jr., Bartelson BB, et al. Changes in clinical and physiologic variables predict survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 538-542.
- 17) Hardie WD, Le Cras TD, Jiang K, et al. Conditional expression of transforming growth factor- α in adult mouse lung causes pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L741-749.
- 18) Xu YD, Hua J, Mui A, et al. Release of biologically active TGF- β 1 by alveolar epithelial cells results in pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 285: L527-539.
- 19) Katzenstein AL, and Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1301-1315.
- 20) Selman M, King TE, and Pardo A. Idiopathic pulmonary fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy. *Ann Intern Med* 2001; 134: 136-151.

【平成 16 年度】

ブレオマイシン肺線維症モデルにおける imatinib の 抗線維化効果： α 1-acid glycoprotein の重要性

西岡 安彦 東 桃代 青野 純典
稲山 真美 曾根 三郎*

我々は昨年度に分子標的治療薬 imatinib (Gleevec) の肺線維化抑制効果について報告した。しかしながら、線維化後期 (ブレオマイシン投与後 14 日目以後) の投与では抗線維化効果が減弱したことから、そのメカニズムについて検討した。 α 1-acid glycoprotein (AGP) は imatinib に結合しその活性を抑制する作用を示すことが報告されている。ブレオマイシン投与後 7 日目ごろよりマウス血清中に AGP が上昇し、14 日目にピークに達し、その後も高値が持続することが明らかとなった。実際に AGP は *in vitro* で imatinib によるマウス肺線維芽細胞の増殖抑制効果を阻害した。一方、エリスロマイシンの併用は *in vitro*, *in vivo* において AGP の作用を解除し、imatinib によるマウス肺線維芽細胞増殖抑制効果、ブレオマイシン肺線維症抑制効果を増強した。IPF 患者血清中にも AGP が増加しており imatinib 投与時には AGP 濃度を考慮し投与法に工夫が必要であると思われた。

Anti-fibrotic effects of imatinib in bleomycin-induced pulmonary fibrosis: a critical role of α 1-acid glycoprotein

Yasuhiko Nishioka, Momoyo Azuma, Yoshinori Aono, Mami Inayama,
and Saburo Sone

Departments of Internal Medicine and Molecular Therapeutics, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, Japan

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a progressive and lethal pulmonary disorder. We reported the anti-fibrotic effects of imatinib using a bleomycin-induced lung fibrosis model in mice. However, anti-fibrotic effect of imatinib was not observed when imatinib was administered in the late phase of fibrosis. To clarify this mechanism, we examined an α 1-acid glycoprotein (AGP) in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. The level of AGP was elevated in murine serum from 7 days after BLM treatment and reached the plateau on day 14. AGP (800 μ g/ml) completely abrogated the inhibitory effect of imatinib on the growth of lung fibroblasts *in vitro*. The addition of erythromycin (EM) reversed the effects of AGP to restore the anti-proliferative effects of imatinib. The combined therapy of imatinib with EM showed the marked inhibition of BLM-induced pulmonary fibrosis even when these were administered in the late phase (day 14 to day 28). AGP in the serum of patients with IPF was significantly higher than that of healthy volunteers. These results suggest that AGP is a critical regulator in the anti-fibrotic effects of imatinib in bleomycin-induced pulmonary fibrosis, and that a co-administration of EM might be useful for enhancing the effect of imatinib.

はじめに

特発性肺線維症 (IPF) は、線維芽細胞の増殖と細胞外マトリックスの沈着によって特徴づけられる予後不良の慢性進行性肺疾患である。ステロイド、免疫抑制剤等にて治療が試みられているが、未だ生命予後を延長する治療法が確立されていないのが現状である。Imatinib (Gleevec) は bcr-abl と c-kit に対する特異的なチロシンキナーゼインヒビターであり、CML, GIST に対する有効性が確立しているが、PDGF レセプターのリン酸化も特異的に阻害することが報告されている¹⁾。一方、PDGF は肺線維症の病態において重要な役割を果たしている増殖因子の1つであり²⁾、PDGF の阻害は肺線維症の治療のターゲットとしての可能性を秘めている。既に、我々は PDGFR の阻害作用を有する imatinib (Gleevec) の肺線維化抑制効果について報告した³⁾。しかしながら、線維化後期の投与では抗線維化効果が見られなかったことから、そのメカニズムについて検討した。特に、imatinib と結合しその効果を抑制する⁴⁾ことが報告されている α 1-acid glycoprotein (AGP) に注目し、その関与について検討した。

方 法

肺線維症モデルは 8 週齢の C57BL/6 マウスにプレオマイシン (BLM) 125 mg/kg を Alzet mini-osmotic pump を用いて持続皮下投与することにより作成した。経時的にマウス尾静脈より採血し、血清 AGP 濃度を radial immunodiffusion assay (Cardiotech Services, Inc.) により測定した。C57BL/6 マウス肺より樹立した線維芽細胞株を用いて、PDGF による増殖反応に対する imatinib と AGP, エリスロマイシン (EM) の効果を ³H-TdR 取り込み試験にて検討した。BLM 肺線維症モデルにおける肺線維化評価は Sircol Collagen Assay を用いた肺コラーゲン含量の定量にて行った。Imatinib による *in vivo* での肺線維芽細胞の増殖抑制効果を検討するため bromodeoxyuridine (BrdU) の免疫染色を行った。また、IPF 患者の血清 AGP 濃度についても検討した。

結 果

BLM 投与後、マウス血清 AGP 濃度は 7 日目から上昇し、14 日目にピークとなりその後 42 日目においても高値であった (700-900 μ g/ml) (図 1)。AGP は *in vitro* において、imatinib の肺線維芽細胞増殖抑制効果を濃度依存性に阻害した。800 μ g/ml の AGP の添加

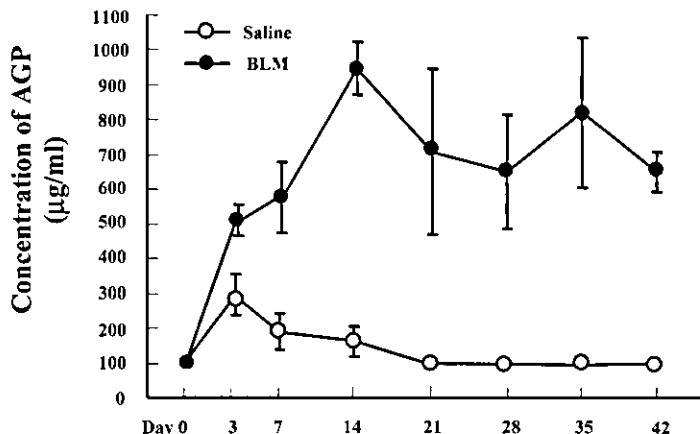


図 1 BLM 投与マウス血清中の AGP の推移

BLM 125 mg/kg あるいは生理食塩水を osmotic mini-pump により C57BL/6 マウスに投与した。経時的に尾静脈より採血し、AGP 濃度を測定した。BLM 投与後 7 日目より血清 AGP 濃度は上昇し、14 日目にピークとなりその後も高値が持続した。一方、生理食塩水投与では手技によると思われる一過性の上昇を 3 日目に認めたが、その後投与前のレベルに低下した。

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部分子制御内科学

* びまん性肺疾患調査研究班 分担研究者

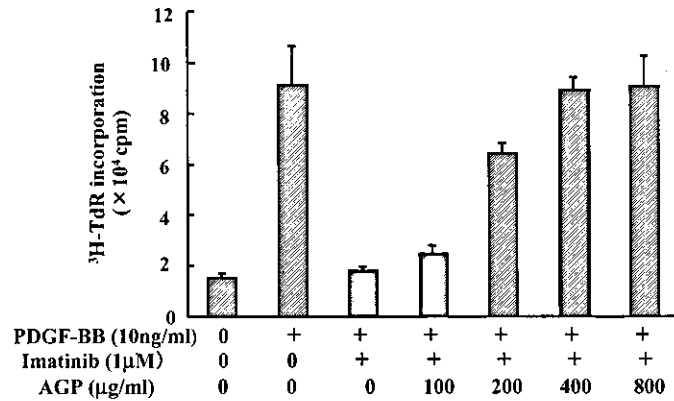


図2 Imatinibによるマウス肺線維芽細胞の増殖抑制効果に及ぼすAGPの影響

C57BL/6マウスより作成した肺線維芽細胞を用いて、PDGF-BB (10 ng/ml) で72時間刺激後³H-TdR (1 μCi/well) を18時間パルスし、増殖能を測定した。1 μMのimatinibに対しAGPを100~800 μg/mlの濃度で添加しその効果を検討した。その結果、800 μg/mlのAGP添加により1 μMのimatinibの線維芽細胞増殖抑制効果は完全に消失した。

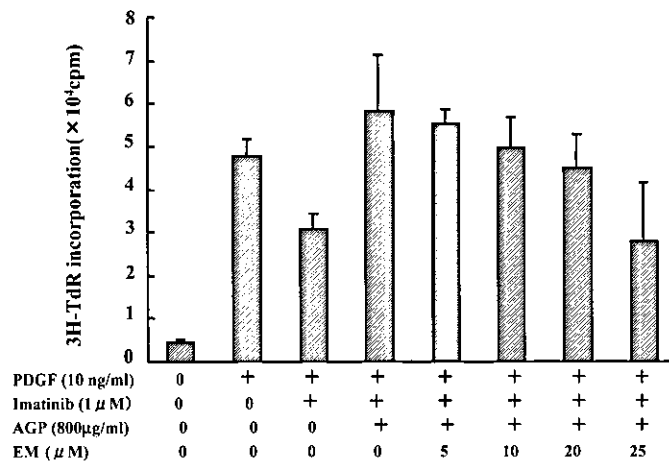


図3 ErythromycinによるAGPの作用抑制

C57BL/6マウスより作成した肺線維芽細胞を用いて、PDGF-BB (10 μg/ml) で72時間刺激後³H-TdR (1 μCi/well) を18時間パルスし、増殖能を測定した。1 μMのimatinibと800 μg/mlのAGPに対し、EMを5~25 μMの濃度で添加しその効果について検討した。その結果、800 μg/mlのAGPの効果は25 μMのEMの添加で完全に解除された。

は1 μMのimatinibの効果を完全に抑制した(図2)。一方、EMの添加によりAGPの効果は解除され、imatinibの肺線維芽細胞増殖抑制効果が回復した(図3)。BLM肺線維症モデルにおいて線維化後期(day 14以後)の投与スケジュールにおいてもimatinibとEMの併用投与は、線維化をほぼ完全に抑制した(図4)。

IPF/UIP患者血清中のAGPは、健常人に比較して高値を示した(図5)。

BrdUの取り込み試験の結果から、imatinibはBLM投与マウス肺の間質細胞の増殖を抑制していることが明らかとなった。一方、上皮細胞の増殖は抑制しなかった(図6)。

考 察

BrdUの免疫染色の結果からimatinibは、上皮細胞の増殖すなわち上皮の再生を阻害することなく、間質細胞すなわち線維芽細胞の増殖を抑制する可能性が示唆された。一方、BLM肺線維症モデル後期にはマウス血清中にAGPが増加していた。AGPはimatinibの肺線維芽細胞増殖抑制効果を阻害したことから、線維化後期にはAGP上昇によりimatinibの効果が減弱していることが推測された。IPF患者においてもAGPは高値を示しており、臨床応用の際には注意が必要である。EMの併用は、*in vitro*のみならず*in vivo*においてもimatinibの効果を増強したことから、臨床的に併用療法の有効性が示唆された。以上から、現在

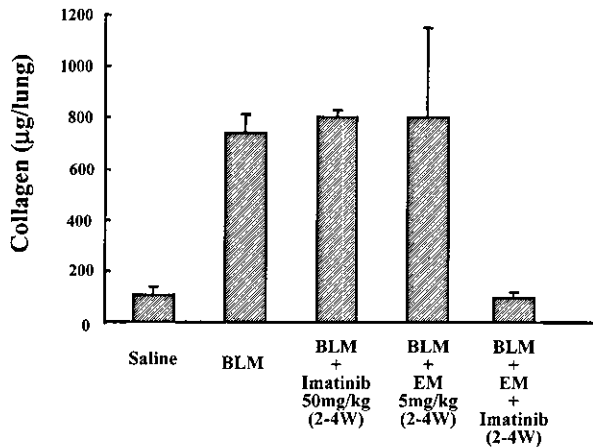


図4 BLM誘発肺線維症モデルにおける imatinib と EM の併用効果 C57BL/6 マウスに osmotic mini-pump を用いて 125 mg/kg の BLM を持続皮下投与した。BLM 投与開始 14 日目から, imatinib (50 mg/kg) 単独投与, EM (5 mg/kg) 単独投与, imatinib と EM の併用投与を行った。28 日後の右肺を用いてコラーゲン量を Sircol assay kit により定量化した。14 日目からの後期の投与では, imatinib あるいは EM 単独投与では, コラーゲン産生を抑制しなかったが, 併用投与において有意にコラーゲン産生が抑制された。

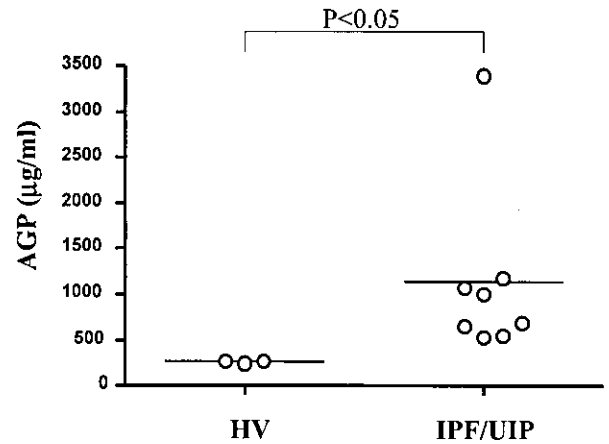


図5 IPF/UIP 患者血清中の AGP 濃度 IPF/UIP 患者 (8 人) と健常人 (3 人) の血清中 AGP 濃度を測定した。IPF/UIP では有意に AGP 濃度が高値であった。

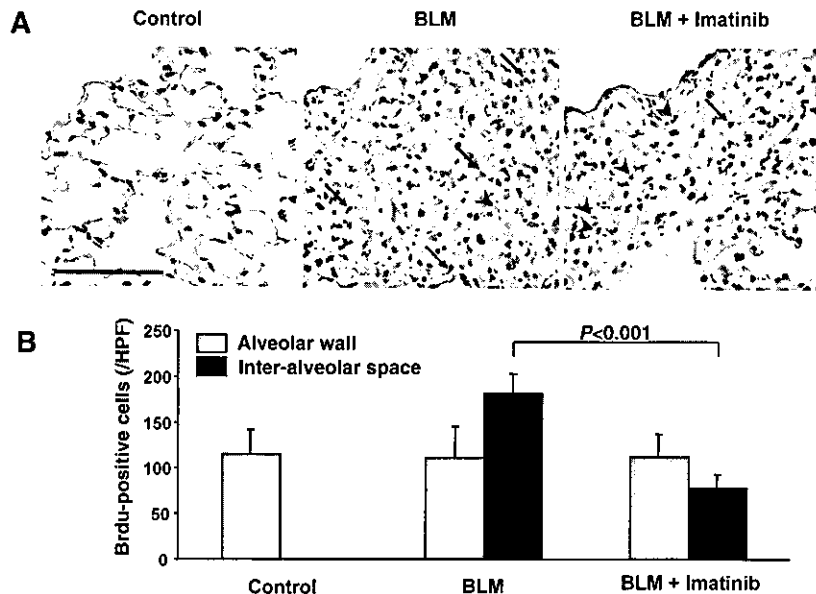


図6 BLM誘発肺線維症における imatinib の *in vivo* 細胞増殖抑制効果 C57BL/6 マウスに osmotic mini-pump を用いて 125 mg/kg の BLM を持続皮下投与し, 14 日目に bromodeoxyuridine (BrdU) の免疫染色により *in vivo* の増殖細胞数を検討した。その結果, imatinib は, 上皮細胞の増殖抑制効果は示さず間質細胞の増殖を有意に抑制した (文献 3 より引用)

米国では IPF に対する imatinib の臨床試験が展開されているが, IPF 患者に対する抗線維化薬として imatinib を投与する際には, 血清 AGP 濃度の考慮が必要であり, EM との併用療法がより効果的である可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, Zimmermann J, Lydon NB. 1996. Effects of a selective inhibitor of the abl tyrosine kinase on the growth of bcr-abl positive cells. Nature Med 2: 561-566.

- 2) Selman M, King TE Jr., Pardo A. 2001. Idiopathic pulmonary fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy. *Ann Intern Med* 134: 136-151.
- 3) Aono Y, Nishioka Y, Inayama M, Kishi J, Ugai M, Uehara H, Izumi K, Sone S. Imatinib is a novel anti-fibrotic agent in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Am J Respir Crit Care Med* (in press).
- 4) Gambacorti-Passerini C, Barni R, le Coutre P, Zucchetti M, Cabrita G, Cleris L, Rossi F, Gianazza E, Brueggen J, Cozens R, Pioltelli P, Pogliani E, Corneo G, Formelli F, D'Incalci M. 2000. Role of alpha1 acid glycoprotein in the in vivo resistance of human BCR-ABL(+) leukemic cells to the abl inhibitor STI571. *J Natl Cancer Ins* 92(20): 1641-1650.

【平成 16 年度】

分子標的治療薬による肺線維症治療の可能性 ——ブレオマイシン肺線維症モデルにおける EGF および PDGF 受容体チロシンキナーゼ阻害薬の効果——

石井 芳樹* 藤本 栄 福田 健

EGF 受容体チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) である gefitinib, AG1478 および PDGFR-TKI である AG1296 のブレオマイシン誘発肺線維化に対する抑制効果を検討した。これらの薬剤は、いずれもブレオマイシンによる肺線維化を抑制した。免疫組織染色による検討で、肺組織の上皮細胞や間質細胞におけるブレオマイシンによる PDGFR および EGFR のリン酸化がこれらの薬剤によって抑制されることが確認された。以上より基本的に、PDGFR や EGFR のシグナル抑制は、線維芽細胞増殖抑制によって肺線維化抑制に働くことが明らかになった。また、臨床例で認められる gefitinib や PDGFR-TKI による間質性肺炎がレセプターシグナルの抑制により普遍的に発症するものではなく、おそらく種の違いや固体の感受性などの他の要因が関与して発症するものと考えられた。

Treatment of Pulmonary Fibrosis by EGFR tyrosine kinase inhibitors and PDGFR tyrosine kinase inhibitor

Yoshiki Ishii, Sakae Fujimoto, and Takeshi Fukuda

Department of Pulmonary Medicine and Clinical Immunology, Dokkyo University School of Medicine

Molecular target-based drugs that block a signal of growth factor and inhibit cell growth attract attention as new cancer therapy. Inhibition of a growth signal in fibroblasts by molecular target-based drugs may be useful for a pulmonary fibrosis treatment. We used a bleomycin pulmonary fibrosis model in order to investigate the possible application of molecular target-based drugs for pulmonary fibrosis treatment.

EGF receptor-tyrosine kinase inhibitors (RTKI), gefitinib and AG1478, and PDGF-RTKI AG1296 attenuated pulmonary fibrosis induced by bleomycin in mice. Immunohistochemistry revealed that gefitinib inhibited phosphorylation of EGFR in the lungs. AG1296 inhibited both PDGFR expression and phosphorylation of the receptor induced by bleomycin. As drugs having the similar effect have already used clinically, such drugs may be applicable to treatment for pulmonary fibrosis. Because interstitial pneumonia and acute lung injury induced by gefitinib and imatinib was reported, it is necessary for us to elucidate enough the mechanism.

はじめに

分子標的治療薬は、増殖因子の受容体チロシンキナーゼなどを阻害することによって増殖シグナルを阻止し、癌細胞の増殖を抑制することを目標とし、新しい悪性腫瘍治療法として注目されている。増殖因子の受容体はがん細胞のみならず正常細胞にも存在し細胞増殖に関与している。したがって、線維芽細胞の増殖因子受容体シグナルを阻止すれば肺線維化治療に有用な可能性がある。線維芽細胞の増殖因子としては、TGF- β やPDGF, IGF-1などのほかTGF- α やEGFがあげられる。TGF- α は、EGF receptor (EGF-R) のリガンドのひとつであり線維芽細胞の増殖を刺激し¹⁾、IPF症例の肺において発現が亢進していることが知られている。また、プレオマイシンによる肺線維症モデルにおいてTGF- α とEGF-RのmRNA発現が亢進している²⁾。TGF α のトランスジェニックマウスでは、肺線維化が認められる³⁾一方でノックアウトマウスでは、線維化が抑制される⁴⁾。同様にPDGFも肺線維化の病態に重要な役割を演じている⁵⁻⁷⁾。Ratのvanadium pentoxideを用いた肺線維症モデルにおいてEGF-receptor tyrosine kinase inhibitor (RTKI) AG1478およびPDGF-RTKI AG1296が線維化を抑制することが報告されている⁸⁾。EGFR-TKIとしてgefitinibがすでに肺癌の治療薬として臨床使用されているが、その副作用として急性肺傷害の発症が報告されている⁹⁾。また、マウスプレオマイシン肺臓炎モデルにおいて高用量のgefitinibが線維化を悪化させたという報告もなされている¹⁰⁾。本研究では、EGFRおよびPDGFRのチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) の肺線維化に及ぼす作用を検討するためプレオマイシン肺線維症モデルを用いてPDGFR-TKI, 及びEGFR-TKIの効果を検討した。さらに、肺組織における各レセプターのリン酸化が薬剤によって抑制されているか否かを検討した。

方 法

プレオマイシンによる肺線維化モデルの作成と線維化の評価

C57BL/6マウスの気管内にプレオマイシン (3 mg/kg) を生理食塩水 60 μ l に溶解して投与し肺線維症モデルを作成した。14日後に肺を取り出し、右肺はホルマリン固定してH&E染色およびMasson & Trichrome染色して病理学的変化をスコア化 (Aschcroft法) して評価した。また、左肺は、ホモジナイズしてコラーゲン含量を測定した。Gefitinib群は、生理食塩水を気管内注入し vehicle の1% Tween 80溶液を連日経口投与したコントロール群、生理食塩水を気管内注入し gefitinib 200 mg/kgを連日経口投与した gefitinib alone群のほかプレオマイシンを気管内注入し vehicleを連日腹腔内投与したBLM群、プレオマイシンを気管内注入し gefitinib 20, 90, 200 mg/kgを連日経口投与した群、別のEGFR-TKIであるAG1478 12 mg/kgを連日腹腔内投与した群に分けて解析した。別の実験ではプレオマイシンを気管内注入しPDGFR TKI (AG1296) を連日腹腔内投与し比較検討した。

免疫組織染色による受容体発現とリン酸化の解析

肺組織を-20°Cでアセトン固定したのちAmex法でパラフィン包埋した。連続切片を用いてEGFR, p-EGFRおよびPDGFR, p-PDGFRをLSAB法にて染色した。一次抗体はpolyclonal anti-EGFR antibody 1005 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) とgoat affinity purified polyclonal anti-p-EGFR antibody Tyr 1092m (Santa Cruz Biotechnology) およびpolyclonal anti-PDGFR β (958, Santa Cruz Biotechnology) 及びgoat affinity purified polyclonal anti-p-PDGFR β (Tyr 1009, Santa Cruz Biotechnology) を100倍希釈で用いた。二次抗体であるbiotinylated anti-rabbit, anti-mouse and anti-goat immunoglobulins (Dako) で処理したのちstreptavidin-horseradish peroxidase conjugate (Dako) と反応させ3,3'-diaminobenzidineをクロモジェンとして発色させた。陰性コントロールとしてrabbit nonspecific immunoglobulinを使用した。受容体発現の半定量的評価として抗体を用いた免疫組織化学染色標本について、500個以上の細胞をカウントし、下式によりlabeling index (%) を算定した。

獨協医科大学 呼吸器・アレルギー内科

* びまん性肺疾患調査研究班 分担研究者