

Ⅲ.びまん性汎細気管支炎

びまん性汎細気管支炎の疾患感受性遺伝子に関する研究

びまん性汎細気管支炎(DPB)の疾患感受性候補領域の中には、我々がクローニングした新規ムチン様遺伝子などいくつかの遺伝子が存在しているが、これらの遺伝子のヒト気道上皮細胞での役割については不明の点が多い。今年度ヒト気道上皮細胞を用いてムチン様遺伝子の発現をRT /real time PCRで検討したところ、mRNA発現が炎症刺激により誘導されることがわかった。候補領域の遺伝的多型により発現量や刺激時の発現パターンに違いがみられるのかを、今後さらに検討する必要があると思われる。

評 価

1)達成度について

研究目的で目標とした全体研究のうち、疫学研究は初年度でほぼ目標を達成した。また、急性増悪の遺伝子については、資料の収集がスタートし、収集済のものについての検索が始まっている。新しい治療法の検討ではPMX-カラムのまとめが行われ、今後新たな方向性をさぐる。新規薬剤のピルフェニドンについての調査態勢を整えた。間質性肺炎合併肺癌については、指針策定へむけての第一歩を踏み出した所である。

2)研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

多くの英文論文による報告が行われた。スタートしたばかりの研究が多いが、2年目の次年度にはさ

らなる成果が得られることと思われる。

3)今後の展望について

疫学研究はさらに続行し、十分に信頼性のあるデータとしていきたい。急性増悪の遺伝子解析はその結果がきわめて注目されることであり、薬剤性肺炎の原因遺伝子へのアプローチともなる可能性がある。世界初の抗線維化薬ピルフェニドンによる治療効果の検討は、これも世界から注目される結果となろう。間質性肺炎合併肺癌については治療の手引きの策定がまたれている。

4)研究内容の効率性について

全国にわたる多くの施設により共通のテーマを追求するシステムはこういった班の存在以外にあり得ず、きわめて効率のよいものと考えられる。さらに有効に利用して発展させていく必要があろう。

結 論

きわめて予後不良であり原因の不明な特発性間質性肺炎に対して、疫学、臨床像、治療、原因遺伝子、基礎的検討といった幅広い分野から集中的な研究を行った。この難病に対する研究の集中により少しずつ解明が進んでいる。さらに専門家集団の力を結集させて新たな道を開拓し、この難病に苦しむ患者さんを益することを目指していく。

また、サルコイドーシス、びまん性汎細気管支炎についても研究を続行していく。

総括研究報告
—平成21年度研究—

平成21年度
厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
びまん性肺疾患に関する調査研究班

研究代表者 杉山幸比古
(自治医科大学呼吸器内科 教授)

〈研究目的〉

びまん性肺疾患に関する調査研究は、特定疾患治療研究事業対策疾患である特発性間質性肺炎、サルコイドーシスの2疾患と、慢性過敏性肺炎、びまん性汎細気管支炎、閉塞性細気管支炎などを研究対象疾患としている。これらの疾患の疫学、病態、治療および病因論を含めた周辺の基礎的研究を行うことによって、難治であるこれら疾患の新しい治療法の確立を目指している。さらにガイドライン等の発行を通して難病に苦しむ多くの国民の健康とQOLの改善に役立てることを研究の目的としている。

〈研究方法〉

この班の研究は基礎的研究から臨床研究、治療への応用ときわめて広汎にわたっており、その詳細については以下の各論において述べることとする。これらの研究においては当然のことではあるが倫理面への配慮は十分に行っている。すなわち、臨床研究はGCPを重視し、特に結果の公表、論文発表などに関してプライバシー保護の観点に留意し、守秘義務を徹底した。また研究の目的などを十分説明した上で納得の得られた患者の自由意志によりエントリーを行い、検体採取につとめた。また全ての実験動物は、National Society for Medical Researchによる“Principals of Laboratory Animal Care”およびNational Academy of Sciences(NIH公刊)による“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”(NIH Publication No.86-23, revised 1985)に従って、愛護的に取り扱った。

また、本年度から班組織の中に以下にあげるような部会組織を作り、各部会に部会長及び数名の部会員をおいて、さらに重点的な項目についてより機動性、横断性をもって成果をあげることを企画し、こ

れをスタートさせた。設置された部会および部会長は、①ピルフェニドン検証部会(杉山幸比古)②PMX部会(吾妻安良太)③IP合併肺癌の治療指針策定部会(海老名雅仁)④IIPs「診断と治療の手引き」の改訂準備部会(本間栄)⑤急性増悪部会(田口善夫)⑥膠原病肺病部会(千田金吾)⑦慢性過敏性肺炎部会(稲瀬直彦)⑧在宅酸素療法・リハビリテーション部会(谷口博之)⑨画像部会(酒井文和)である。

〈研究の要旨〉

A. 特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonia ; IIPs)

今年度は重点研究として、(1)疫学的研究 (2)急性増悪の解明(遺伝子の解析) (3)新しい治療法の検討 (4)間質性肺炎合併肺癌の治療指針策定 (5)ガイドラインとしての「手引き」改訂の5つをあげて、これに重点的に取り組んだ。

(1)疫学的研究

従来、部分的で小規模な研究しか行われておらず、日本全体としてIIPs、特発性肺線維症(idiopathic pulmonary fibrosis:IPF)患者がどれ位存在するのか不明であった。昨年度、北海道地区をモデルとして大規模で信頼性の高いstudyが行われ、日本全体としてIIPsが約1万5千人、IPFがおそらく1万数千人存在することが初めて明らかとなった。今年度はさらに、モデル地区北海道で予後の解析が行われ、IPFの生存中央値は初診時から61ヶ月であることが示され、また死亡原因として急性増悪が最も多く45%であることが示された。

また、貫和班でスタートしたWEB登録については、5年が経過し、新規登録が終了予定(2010年3月)である。これまで全国19施設から登録され、IPFが73%、内53%が重症度I・II度である。今後、

WEB情報の詳細な解析を予定している。

(2)急性増悪の解明(遺伝子の解析)

遺伝子解析のエキスパートである埼玉医大萩原教授を中心とするきわめてユニークな研究で、全国の班員からIPF急性増悪例と薬剤性肺障害例のサンプルを採集している。現在、急性増悪69例、薬剤障害59例のサンプルが収集され、全ゲノムハプロタイプ解析が行われる予定である。この研究により急性増悪および日本人に多い重症薬剤性肺障害の原因遺伝子解明が期待される。

(3)新しい治療法の検討

i)ピルフェニドン

日本発、世界初の抗線維化薬ピルフェニドンがIPF治療薬として発売されて1年余が経過した。班として、構成施設に依頼して市販後の呼吸機能変化を中心とした予後調査を行っており、現在93例のデータが回収され、解析中である。第Ⅲ相試験の後解析とあわせ、どのような例で最もピルフェニドンの効果があるのかを明らかにする予定である。

ii)急性増悪に対するPMX治療

IPFの急性増悪に対して、PMX-DHP吸着療法の有用性を多施設後ろ向きで解析した。140例の解析により、PMX後P/F値の改善がみられた例では、発症1ヶ月後の生存率の改善がみられ、これをふまえて、今後前向き無作為化試験の企画が進行している。

iii)N-アセチルシス테인(NAC)

H16年度の工藤班でスタートしたNAC吸入療法の結果がまとめられ、%FVCが95%未満および%DLcoが55%未満の層別解析においてNAC群がFVC変化量で良好の結果であった。この結果はNACのIPF治療薬としての有用性を示すものといえる。今後ピルフェニドン+NACの併用療法なども十分、考慮できるものと考えられる。

(4)間質性肺炎合併肺癌の治療指針策定

IIPs合併肺癌の手術時の急性増悪の問題、化学療法時の薬剤性肺炎の問題、放射線照射時の急性増悪の問題がある。本年度は、第79回間質性肺疾患研究会が外科手術後の急性増悪を主題に行われた。ま

た、日本医大弦間教授により全国アンケート調査が行われ、IIP合併肺癌の初回化学療法の有力な候補レジメンとしてカルボプラチン+パクリタキセル、プラチナ製剤+エトポシド併用療法があげられた。今後さらに詳しい検討を重ねていく予定である。

(5)ガイドラインとしての「手引き」改訂

2004年に「特発性間質性肺炎・診断と治療の手引き」が刊行されてから既に5年以上が経過した。この間、特にピルフェニドンを中心とした治療の進歩があり、早急な「手引き」改訂が望まれている。この5年余の進歩を入れた改訂版の原稿が既に2010年2月末に締め切られており、3月に改訂のためのレビューワー選定と依頼が予定されている。最終的に2010年11月刊行を予定している。

その他、新設された各部会を中心に、各テーマについて活発な研究が行われている。詳細な内容については各部会報告を参照されたい。特に画像部会においてはIPFの臨床診断に重要なHRCT上での「蜂巣肺」について放射線学会、呼吸器学会を合わせた検討が予定されており、将来的にはアトラス発行も視野に入れている。

B.サルコイドーシス

サルコイドーシスに関しては、一部にきわめて難治な例が経験されており、多臓器に病変がわたることとあいまって患者のQOLの大きな障害が招来されている。こういった例を中心に、従来の経口ステロイド治療に加えて、吸入ステロイド治療、抗菌薬による治療、免疫抑制剤による治療が考えられている。今後、こういった治療の有用性についてさらに検討が必要である。

C.びまん性汎細気管支炎その他

従来からのびまん性汎細気管支炎の責任遺伝子の研究が続けられている。また、新たに間質性肺炎関連として慢性過敏性肺炎の全国疫学調査が行われ、10施設から165例が集積され、解析が進められている。また、稀な疾患ではあるが、きわめて難治である閉塞性細気管支炎についても研究を進めている。

〈研究結果および考察〉

A. 特発性間質性肺炎

I. 重点項目

(1) 疫学的研究

・北海道における臨床調査個人票に基づく特発性間質性肺炎の疫学調査(北海道 Study)

昨年度に引き続き平成15年から平成19年の5年間に北海道で新規に受理された特発性間質性肺炎臨床個人調査票を用いて疫学調査を行った。北海道は他の都府県と異なり、I度からIV度の全ての重症度で申請を受理し、診断基準に基づいた厳密な審査が行われている。このような背景から、北海道ではIPFの実態を正確に把握できる。昨年は、特発性間質性肺炎(IIPs)の北海道における有病率(2008年8月時点)は10万人対11.8人であり、全国調査の約3.6倍存在することを報告した。今年度は各医療機関に予後調査票を送付し、結果の解析を行った。その結果、IPFの生存中央値は初診時から61ヶ月であった。またIPFの死亡原因として急性増悪が最も多く45%を占めた。予後因子としては、年齢の高い群、ばち状指を認める群、安静時PaO₂の低い群、%VCの低い群、%DLcoの低い群、BAL中好中球比の高い群で、いずれも予後が悪く、有意な差を認めた。

・特発性間質性肺炎患者に関するプロスペクティブ調査研究(WEB登録)の現状と今後の方向性

2005年度よりわが国の特発性間質性肺炎(IIPs)患者の自然経過や治療内容・効果などの臨床情報を全国から集積し、IIPs診療に関する実態把握を目的としたWEB登録が開始され5年が経過した。2010年1月までの新規登録症例は412例で、本年度の新規登録症例は62例であった。新規登録は2010年3月で終了予定である。今後は、追跡登録症例数が年を経るごとに減少傾向にあるため、死亡例を含めさらなる入力徹底が重要であると考えられる。また、これまでに集積されたWEB登録症例の特徴として、1)全国19施設からの症例登録、2)IPFが72.8%を占め、かつ52.7%が重症度I・II度、3)NSIPも78例登録、4)ピルフェニドンによる治療症例が40例、などがあげられ、種々の観点からのデータ解析を検討すべきであると思われる。

(2) 急性増悪の解明(遺伝子の解析)

・特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害に関する遺伝子の解析

本研究は、薬剤性肺障害および特発性肺線維症急性増悪に関する遺伝因子の同定を目的としている。近年、日本人肺の脆弱性が指摘されている。(1)薬剤性肺障害が他国(西洋や他のアジア人)より高頻度で見られ、高率に致死的な経過をたどること、(2)肺線維症を有する患者で他国より高頻度に急性増悪が起こり、高い致死率を示すと推定されることが典型例である。薬剤性肺障害や特発性肺線維症急性増悪に関する遺伝因子は多数あると想定されるが、その中でも特に強く関与する遺伝因子を1つ想定すると、民族差を説明しやすいため、この考察を支持するものとして、集団の中で良く見られる疾患でも、一人の先祖から生じ集団内に広がった遺伝因子が関与しているという「common disease-common variant-common origin仮説」がある。本研究では、(1)薬剤性肺障害に関する遺伝因子が「common disease-common variant-common origin仮説」に従い日本人に広がった、(2)特発性肺線維症急性増悪に関する遺伝因子も「common disease-common variant-common origin仮説」に従い日本人に広がった、という作業仮説にて研究を行っている。

サンプル採集は、薬剤性肺障害および特発性肺線維症急性増悪が疑われる呼吸器疾患患者より、末梢血リンパ球を採取、DNAを分離するとともに、EBウイルスを感染させてB細胞を不死化し、再度のDNA調整に備えている。2010年1月現在での収集症例数はIIPs + IPF急性増悪 69症例、薬剤性肺障害 59症例、うちイレッサ+タルセバ 18症例である。

まず少数例から行なえる候補遺伝子解析を行った。AKT1, BAD, BCL2, BCL2L1, PIK3CA, PIK3CB, PIK3R1, PIK3R2, PIK3R3, PDPK1の全exonを2名のイレッサ肺障害患者で検索したが、遺伝子異常は認められなかった。

次に、薬剤性肺障害6名の患者のうち、4名以上で欠失している可能性がある部位を検出した。これらの領域に遺伝子が存在するか否かは、今後検討して行くべき課題である。

今後サンプル収集を継続し、全ゲノムハプロタイプ解析による包括的解析を行う予定である。

(3)新しい治療法の検討

・新規抗線維化薬ピルフェニドンの検証

日本発で世界初の抗線維化薬ピルフェニドンが市販されて、既に1年以上が経過している。そこで班の施設に依頼して、市販後の短期的・長期的効果について検討を企画した。17施設より参加申し込みがあり、130例近くが登録され、現在93例のデータが回収された。今後、これらのデータを解析し、ピルフェニドンがどういった患者に最も効果があるのかを検討し、新しい薬剤ピルフェニドンの位置づけ、効果的な使用法の確立につなげたい。

・間質性肺炎の急性増悪に対するPMX治療

—IPFの後ろ向き解析と今後の展望—

特発性肺線維症の急性増悪に対するPMX-DHP吸着療法の有用性を多施設後ろ向き研究により解析した。その結果、従来の報告と比較してPMX療法施行前後でP/F比値の改善が見られた症例では発症1か月後の生存率の改善が見込まれた。前向き無作為化臨床試験を企画する価値が高いと考えられた。

・早期特発性肺線維症に対するN-アセチルシステイン吸入療法に関する前向き多施設共同治療研究

本研究はH16年度厚生労働科学研究「特発性間質性肺炎の画期的治療法に関する臨床研究」(班長:工藤翔二)として計画された。早期の特発性肺線維症(IPF)を対象とし、N-アセチルシステイン(NAC)単独吸入療法の有効性及び安全性を無治療群を対照として検討した。試験デザイン:中央登録方式による多施設共同、無作為、オープン、並行群間比較試験。主要評価項目:努力肺活量(FVC)の投与開始前から48週間の変化量、変化率および安定率。症例数:NAC吸入群(A群):50例、無治療群(B群):50例。選択基準(抜粋)1)年齢が50歳以上80歳未満。2)HRCTで肺底部胸膜直下優位に軽度の蜂巣肺、緩徐な発症、3ヶ月以上の経過、両側肺野の捻髪音を有し、未治療のIPF。3)重症度がI度もしくはII度、かつ6分間歩行試験時の最低SpO₂が90%以上。全国27施設より100例が登録され、PPS適格例A群38例、B群38例であった。FVCの経時的(0,12,24,36,48週)変化は全体では2群間に有意差はなかったが、%FVCが95%未満(p = 0.0213)およびDLcoが55%未満(p = 0.0086)の層別解析においてA群の方がB

群より良好であった(FVC平均値差;前者:0.12L/48W, 後者:0.17L/48W)。有害事象は3例で、本試験とは因果関係なしと判断された。本結果はIPFの治療法を新たに確立し、予後の改善を図るための新しい知見を得る一助になるものと考えられる。

(4)間質性肺炎合併肺癌の治療指針策定

・特発性間質性肺炎合併肺癌に対する化学療法の現状と治療関連急性増悪に関する実態調査

特発性間質性肺炎には、高頻度に肺癌が合併し、肺癌の最も一般的な合併症の一つでもある。一方で、特発性間質性肺炎合併肺癌に対する抗がん治療を行う上で、治療に関連した特発性間質性肺炎の急性増悪は、重要な問題として認識されている。特に進行期肺癌の場合、化学療法の効果は限定的であり、治療に関連した急性増悪のリスクがあっても特発性間質性肺炎合併進行肺癌に対して化学療法が予後に寄与できるのか、については一定の見解はない。実際の治療関連急性増悪の発症率、症例や抗悪性腫瘍薬の選択についてもエビデンスが乏しく、臨床の現場では、その指針となる研究報告が望まれている。我々は、本病態を有する症例に対して、具体的にどのような抗悪性腫瘍薬が使用されているのか、化学療法に関連した急性増悪の発症頻度は実際どの程度なのか、を明らかにすること、さらには、治療戦略の一つとして、安全性が高く、有効性のある化学療法レジメンの候補を検証することを目的に実態調査を計画した。びまん性肺疾患に関する調査研究班の分担者および協力者の所属施設に対して、特発性間質性肺炎合併進行肺癌の初回化学療法の実施状況についてアンケート調査を行った。全国19施設より396症例の化学療法レジメンと急性増悪の有無について回答が得られた。このなかで治療関連急性増悪と診断されたのが、52例(13.1%)であった。頻用されていた化学療法レジメンでは、カルボプラチン+パクリタキセル、プラチナ製剤+エトポシドが各々、140例(35.4%)、120例(30.3%)であった。急性増悪の発症率は、それぞれ8.6%、5.8%であった。その他、ビノレルビン、ドセタキセルの使用頻度が比較的高率であった。本検討から、使用実績、急性増悪の発症頻度および肺癌に対する有効性を考慮するとカルボプラチン+パクリタキセルおよびプラチナ製剤+エトポシド併用療法が特発性間質性肺炎合併肺

癌の初回化学療法の有効な候補レジメンと考えられた。今後、レジメンを上記に絞って追加調査を行い、治療適応、急性増悪の危険因子の検討を行う。

(5) ガイドラインとしての「手引き」改訂

・特発性間質性肺炎診断と治療の手引き第2版

この「特発性間質性肺炎診断と治療の手引き」は、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が、今日における特発性間質性肺炎の正しい理解を進め、臨床における診断・治療の指針となるよう、厚生科学研究特定疾患対策事業びまん性肺疾患研究班との共同で作成した物である。初版発行(2004年9月)から5年以上が経過しており、特に最近の治療の進歩を中心に盛り込み、早い時期の改訂版発行を目指す。本書は日本における手引きであり、日本の実情を反映するものとする。

II. 臨床像に関する研究

・特発性肺線維症(IPF)急性増悪の病理学的解析

IPFにみられる急性増悪の病理学的詳細は明らかではない。剖検例15例で、臨床経過、治療、病理所見を検討した。増悪から死亡までの期間は3日から6ヶ月で、増悪のきっかけは、不明7例、感染症関連3例、心筋梗塞および、または手術操作3例、手術および放射線治療1例、抗癌剤投与1例であった。1)全例で臨床病期に一致したDAD所見がみられた。2)ポリープ型線維化が5例で目立ったが、リング状線維化への移行像、肺胞上皮・毛細血管再生不良、筋線維芽細胞化、TIMP優位など、OPとは異なりDADの一所見と理解された。3)DADに加え、線維芽細胞巣(FF)が約半数で顕著であり、同様に蜂巣肺部のFFがみられた。IPFとしての活動性が強い症例が多いと判断された。

・外科的肺生検を施行した肺気腫合併間質性肺炎の病理学的検討

肺気腫合併間質性肺炎が最近注目されているが、その間質性肺炎の組織パターンは明らかにされていない。目的：肺気腫合併間質性肺炎の病理像を明らかにすること。組織パターンを明らかにすることはSRILにおける治療ならびに予後の点から重要なこと。方法：当院で外科的肺生検を施行しえた肺気腫合併の間質性肺炎症例70例の臨床像や病理

学的特徴をretrospectiveに解析した。結果：間質性肺炎のパターン分類では、UIP pattern 37例(52.9%)、NSIP pattern 17例(24.3%)、RB-ILD pattern 4例(5.7%)、DIP pattern 2例(2.9%)、分類不能10例(14.3%)であった。結語：UIPパターンを50%で認めた。25%の症例をNSIPパターンとしたが、気腔の拡大を伴う線維化(AEF)との鑑別が重要である。Report of an American Thoracic Society Projectで特定されたNSIPの特徴は、中年女性の非喫煙者であり、喫煙者のNSIPもそのsubgroupになりうるか検討が必要である。

・線維化性特発性間質性肺炎(UIP, NSIP)の高分解能CT所見

線維化性特発性間質性肺炎(IIPs)の高分解能CT(HRCT)画像診断に、肺気腫の合併の及ぼす影響を明らかにするため、外科的肺生検でusual interstitial pneumonia (UIP) pattern, nonspecific interstitial pneumonia (NSIP) patternと診断されたIIPs 96名の高分解能CTについて気腫合併の影響を解析した。肺気腫非合併UIPとNSIPでは多くの所見で有意差を認めた。それに比べて肺気腫合併UIPと合併NSIPで有意差認めたのは、extent of ground-glass attenuation, reticular opacity-to-ground-glass opacity ratio, subpleural sparing, traction bronchiolectasisと僅かであった。Receiver-operator curveによる解析で、気腫合併例でUIPとNSIPを鑑別する良い指標はtraction bronchiectasis, reticular opacity-to-ground-glass opacity ratioであった。

・間質性肺炎の遺伝子発現プロファイルの解析と臨床応用

今回我々は間質性肺炎における遺伝子的特徴を知ることがを目的に、疾患肺から抽出したmRNAを用いてマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。その上で、間質性肺炎の疾患間に遺伝子的差異を見出せるかを検証し、更に治療標的分子や新規診断マーカーを同定することを試みた。臨床病理学的に診断された特発性間質性肺炎(IPF/UIP)7症例、非特異的間質性肺炎(NSIP)4症例、慢性過敏性肺炎(CHP)9症例の患者の肺生検検体を用いてマイクロアレイを施行し、まずこれらの間質性肺炎症例において正常肺に対して高レベルに発現上昇する遺

伝子群を多数同定した。これらの発現上昇遺伝子群は、間質性肺炎の遺伝子的特徴が示されており、病態の解明に有用な情報であると考え解析した。さらに、発現上昇遺伝子には膜、分泌蛋白をコードする遺伝子が多数含まれており、間質性肺炎の有望なマーカーあるいは治療標的となりうる遺伝子と考えられ、その発現を Real-time PCR 法により確認した。次に、UIP と NSIP、UIP と CHP 間でクラスター解析を行い、UIP と CHP 間で発現に差異を認める遺伝子群を同定した。これら遺伝子群はそれぞれの疾患の遺伝子的特徴を示していると考えられ、鑑別診断における有望なマーカー候補になりうる可能性があると思われる。

・びまん性肺疾患の病態における呼気凝縮液中の増殖因子測定の意義

特発性間質性肺炎の肺局所の病態を臨床的に把握することは、診断や治療管理上重要であるが、気管支内視鏡検査や肺生検は侵襲性があり、稀にこれらを契機として急性増悪がありうる。呼気凝縮液は気道被覆液の一部が呼気と共に回収されると推定され、最近では肺末梢の変化も反映しうるものとして注目される。そこで、びまん性肺疾患、特に特発性間質性肺炎を対象にして、呼気濃縮液(EBC)を採取し、その含有する各種因子、特に増殖因子を測定して、病態における意義を解明することを目的とした。健常ボランティア及びびまん性肺疾患患者において、当施設の倫理委員会の承認のもと、同意を得て R-tube(Respiratory Research Co, Charlottesville, VA)を用いて、呼気凝縮液採取を行った。従来の ELISA の検出下限濃度より、高感度に検出可能な MUSTag 法(Synthera Technologies, Tokyo, Japan)を用いて EBC 内の微量なサイトカインや増殖因子を測定した。昨年度は気管支喘息患者との対比を主に検討した。本年度は、喫煙コントロールを加え検討した。各サイトカインなど各種変数と画像所見や呼吸機能検査、KL-6 値などとの相関の検討、びまん性肺疾患とくに IIPs における EBC 中の増殖因子測定の実用性と意義について検討した。また NSIP 症例・過敏性肺炎で画像・自覚症状の改善が EBC の低下に反映する症例を認め、EBC の治療モニターとしての可能性が予想された。

・特発性肺線維症における日米重症度分類の比較

【目的】特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis; IPF) の日米重症度分類で乖離を認める症例に関して、臨床的特徴を明らかにする。

【対象および方法】過去6年間で当科に入院した IPF 患者 40 例中、本邦の重症度分類で I 度かつ米国の重症度分類で mild であった A 群(n=12 例)と、重症度 I 度でありながら moderate あるいは severe であった B 群(10 例)の 2 群に分けて、臨床、画像、予後を比較検討した。さらに A 群と重症度 I 度かつ severe であった C 群(6 例)との 2 群についても同様に比較検討した。

【結果】本邦の重症度 I 度 22 例における米国の重症度は mild/moderate/severe: 12/4/6 例で乖離が認められた。一方、重症度 III 度の 9 例は moderate/severe: 2/7 例、IV 度の 7 例はいずれも severe と判定され、乖離は認められなかった。性別、年齢は A 群、B 群 (M/F: 8/2 例, 72.0 ± 5.1 歳, C 群で 3 群間に年齢の差はみられなかった。B 群は、A 群に比べて有意に Lowest SpO₂ が低値、 Δ SpO₂ が高値、% が低値であった。さらに C 群は、A 群に比べて有意に Hugh-Jones score, 推定収縮期肺動脈圧, SpO₂, Borg scale, GGO score が高値、%FVC, %DLco が低値であった。A 群と B 群の予後に有意差は認められなかったが、C 群では A 群に比して有意に予後不良であった。

【結論】本邦の重症度 I 度に相当する症例の中には、米国分類の中等～重症例も多く含まれており、今後、重症度の分類基準の再考が必要と考えられる。

・ATS-ERS02 診断基準によるリンパ球性間質性肺炎(LIP)の CT 所見

ATS-ERS 02 consensus classification では、LIP はリンパ球が高度に肺胞隔壁へ浸潤した病態と定義された。従来 LIP と疾患されたものの多くは、diffuse lymphoid hyperplasia (DLH) と別扱いせざるを得なくなった。本研究では新分類に即した LIP の CT 像を解析した。ATS-ERS02 基準による LIP の CT 像の特徴は下肺野優位のすりガラス影であり、cellular NSIP との鑑別が問題となる。

・虎の門病院における間質性肺炎合併進行期原発性肺癌の治療成績

【背景】間質性肺炎合併肺癌の抗癌剤による治療

成績の報告は僅少である。[目的] 間質性肺炎合併肺癌に対する化学療法の成績を後向きに検討する。[方法] 2003年から2009年に当院で経験した間質性肺炎合併肺癌患者22例(男性19例, 女性3例, 年齢中央値68歳)を対象とし, KL-6, SP-D等の線維化マーカー, 使用されたレジメン, 奏功率, 予後・副作用などを検討した。[結果] 肺癌の組織型は, 腺癌・扁平上皮癌各8例, 小細胞癌・大細胞神経内分泌癌各2例, その他2例で, KL-6の平均値は801 U/mL, SP-D 184 ng/mLであった。肺癌の治療は化学療法単独が21例(平均2.8レジメン), 化学放射線療法が1例であった。一次治療としてカルボプラチン併用療法が19例に実施された。一次治療の奏功率は27.3%, 生存期間中央値は328日, 1年生存率は40.7%であった。一次治療後に間質性肺炎の急性増悪は2例(9.1%)に発症したが, 全治療経過中では7例(31.8%)に認められ, 5例が急性増悪により死亡した(死亡率71.4%)。[結論] 間質性肺炎合併肺癌に対して化学療法は有効であるが間質性肺炎急性増悪のリスクが高い。

・ 特発性NSIPにおけるUCTD診断の臨床的意義についての検討

研究要旨: 特発性NSIP (non-specific interstitial pneumonia) は, 現在, 特発性間質性肺炎における独立した疾患として認識されてきている。一方で, Kinderらは特発性NSIPの多くがUCTD (undifferentiated connective tissue disease) の診断基準を満たしており, 特発性NSIPはUCTDの肺病変であると提唱している。今回, KinderらのUCTD診断基準を用いて, 自験の特発性NSIPにおけるUCTDの頻度を明らかにし, さらに, 診断基準を満たす症例と満たさない症例との臨床像について比較検討した。結果は, 特発性NSIP 47例中22例(47%)がUCTDの診断基準を満たした。また, UCTD-NSIPの方がBAL中リンパ球分画の有意な高値を示し($P<0.05$), CD4/8比率の有意な低値 ($P<0.05$) を示した。予後はUCTD-NSIPの方が良好であり($P<0.01$), UCTDの診断は特発性NSIPの独立した予後規定因子であった。

・ 外科的肺生検(VATS)確定線維性間質性肺炎に対する少量ステロイド(PSL)およびシクロスポリン

A(CsA)併用療法の前向き検討: 長期効果について

A 研究目的

一昨年われわれは線維性間質性肺炎において少量ステロイドとシクロスポリンA(CsA)の併用療法はf-NSIPに対して効果的であることを報告した。今回, 症例の蓄積と観察期間の延長を行い, 線維性間質性肺炎における治療反応性がCRP diagnosisの臨床指標となるかを明らかにすること。

B 研究方法

2004/10/1よりVATS肺生検にて診断された線維性間質性肺炎33症例のうち, PSL10mg/日とCsA2-3mg/kg/日にて前向き一律に治療開始後6ヶ月以上経過した20症例, 2名の病理医の診断に基づく診断確定群(全例fNSIP 8症例), 診断未確定群(UIP/fNSIP診断困難例12症例)に分け, その治療反応性を, 肺機能(%VC, %FVC, %DLCO), KL-6, ATS/ERSガイドラインによる効果判定基準で評価した。

C 研究結果

診断確定群は, 治療前後でKL-6の有意な改善($P<0.05$)を示し, 効果判定基準で改善, もしくは不変が87.5%を占めた。診断未確定群では, 治療前後で有意な改善なく, 効果判定基準で悪化が58%を占めた。

・ 非敗血症性急性肺傷害に対するPMXの効果の研究

本研究は, 当科で経験した非敗血症性急性肺傷害に対するPMXの効果を検討した。非敗血症性急性肺傷害6例, うち特発性間質性肺炎3例, 薬剤性肺障害2例, ANCA関連1例でステロイドパルス療法後にPMX治療を行い, 一時的なP/F ratio, KL-6, IL-6, HMGB1等の改善は認めたが, 結果的には1ヶ月以内に全例死亡の転機をたどった。これまで報告された文献症例を含め検討したところ, 生存者, 非生存者を分ける有効なパラメータは明らかにできなかった。したがって, 非敗血症性の急性肺障害についてのPMX療法については, 適応症例の条件, 各種臨床症状, 血液等の生物学的パラメータをあらかじめ決定した上で前向き検討を実施する必要があると考えられた。

Ⅲ. 基礎的研究

・ IPFにおける上皮細胞老化について

特発性肺線維症 (IPF) では肺胞構造改変領域を中心に bronchiolization など異常な再生上皮を認め、これが肺の線維化に関わっている可能性がある。加齢は IPF の重要な危険因子であり、テロメア長の短縮が IPF の肺胞上皮細胞で報告されている。肺線維化進展の中心的役割を果たす transforming growth factor (TGF)-b は上皮細胞に対して、細胞老化を誘導する。近年細胞老化と関連する sirtuin family が同定され、そのうち SIRT6 のノックアウトマウスは早老症様の表現型を呈する。今回我々は IPF 肺では上皮細胞の老化亢進を認め、in vitro の検討から TGF-b が気道上皮細胞老化促進から interleukin (IL)-1b 分泌による異常な epithelial-mesenchymal interaction を介して線維化病態に関与し、SIRT6 がその過程に抑制的に働くことを明らかにした。本検討により、上皮細胞老化が IPF の病態に関与している可能性が示唆された。

・ IPF の線維化と血管

特発性肺線維症 (IPF) 患者肺においては線維化病変において毛細血管が消失すると同時に、その周辺には血管増殖病変があることを以前報告した (Ebina M, et al. 2004)。本年度の研究では、小葉間隔壁および胸膜下組織の線維化において血管が消失する機序として VEGF 刺激に応じて血管内皮細胞で誘導される血管新生抑制因子である Vasohibin-1 (VASH 1) の役割に注目した。IPF 患者肺における VASH1 発現を免疫組織染色にて検討したところ、VASH1 が線維化病変周辺の毛細血管増殖病変の血管内皮細胞のみならず線維芽細胞巢の筋線維芽細胞に発現することを確認した。TGF-b1 により分化誘導した 3 種のヒト胎児肺由来筋線維芽細胞から VASH1 タンパク発現が亢進し、さらに培養上清中の VASH1 増加したことから、筋線維芽細胞が VASH1 を産生および分泌していること確認した。VASH1 遺伝子の発現を抑制したところ、定常状態で aSMA タンパク発現量が著明に増加し、TGF-b1 刺激後にはさらに顕著な aSMA の発現亢進を認めた。これらの結果から VASH1 は線維化病態において血管抑制作用のみならず線維化過程を制御している可能性が初めて示された。

・ ブレオマイシン誘発肺線維症モデルマウスにおける PDGF レセプター α , β 阻害抗体の抗線維化効果

イマチニブは PDGF レセプター α , β 両者のリン酸化阻害を介して、ブレオマイシン誘発肺線維症モデルマウスに対する抗線維化作用を発揮する。最近の報告ではイマチニブのヒト IPF に対する治療効果は証明されず、PDGF レセプターを介した治療戦略には更なる検討が必要と考えられる。肺線維症における PDGFR- α , β の詳細な役割は明らかでない。今回我々は PDGFR- α , β に特異的阻害抗体である APA5, APB5 を用いてブレオマイシン肺線維症モデルにおける抗線維化効果を検討した。【方法】 APA5, APB5 は PDGF-AA, BB によって誘発されるマウス肺線維芽細胞の増殖を抑制した。ブレオマイシン誘発肺線維症モデルマウスを用いて、APA5, APB5 の抗線維化効果を検証した。【結果】 マウス肺線維芽細胞の PDGF-AA, BB による増殖作用を、APA5, APB5 は特異的に抑制した。ブレオマイシン誘発肺線維症は、APB5 投与群で有意に抑制された。

・ シリカによる慢性肺線維化モデル確立のための長期検討

特発性肺線維症は緩徐に進行する線維化を特徴とするが、病態解析のための動物モデルは十分には確立していない。シリカによる肺線維症モデルは、緩徐に進行する線維化を示す点で有用なモデルとなる可能性があるが、長期の時系列的な病態変化、特に局所液性因子については十分に検討されていない。慢性肺線維化モデルを確立する目的で、C57/BL6j マウスにシリカを点鼻投与し、1-24 週後に解析した。肺病変は、炎症細胞浸潤、ヒドロキシプロリン増加、組織学的変化の順に生じ、慢性肺線維化モデルとしては、8 週以降が至適解析時期と考えられた。BALF 中液性因子の網羅的解析では、1 週後にピークを示し早期に低下する因子が多かったが、IL-9 のみは 24 週後に遅れてピークを示すことを見出した。既報とあわせると、IL-9 は抗線維化に働くネガティブフィードバック機構を担っていることが想定された。

・ Bax 標的 siRNA によるブレオマイシン肺臓炎マウスもでの抑制の検討

肺線維化病態において肺胞上皮障害が重要であ

る。細胞死シグナルの一つBaxに対するsiRNAを作成し、マウス肺線維化モデルを用いてその効果を検討した。

・ マウス肺標識保持細胞によるニッチ形成およびII型肺胞上皮細胞との空間的関連性の解析

マウス肺標識保持細胞群の組織学的解析を行い、2型肺胞上皮細胞との間に空間的関連性があることを見出した。

・ びまん性肺疾患における肺の免疫学的恒常性維持に関するCD40分子の役割

サーファクタントは表面活性物質としてのみではなく自然免疫においても重要な役割を果たすと考えられる。サーファクタントはII型肺胞上皮から産生され肺胞マクロファージとII型肺胞上皮自身で代謝されるが、この恒常性の破綻により引き起こされる病態の一つにびまん性肺疾患のひとつである肺胞蛋白症がある。一方、CD40は抗原提示細胞に発現し免疫グロブリンのクラススイッチに重要な役割を果たす分子である。本研究では、CD40遺伝子欠損マウスに発症した続発性肺胞蛋白症を解析し、その発症機序が自己免疫性肺胞蛋白症とは異なり肺胞上皮のサーファクタント産生亢進であることを明らかにした。CD40-CD154系は獲得免疫に重要であるばかりでなく、自然免疫に重要なサーファクタントの産生を調節し、肺の免疫学的恒常性を維持していることが示唆された。

B. サルコイドーシス

・ サルコイドーシスにおけるsyndecan-4の役割に関する研究

Syndecanは炎症や組織の修復に重要な役割を果たしているが、サルコイドーシス(SAR)における役割についてはまだよく知られていない。そこで、SAR患者、特発性肺線維症(IPF)患者と健常者の血清・気管支肺胞洗浄(BAL)液中のsyndecan-4を測定した。Syndecan-4は、BAL液中でSARにおいて健常者より高値であったがIPFとは差がみられなかった。血清ではIPFと健常者よりも高値であった。血清syndecan-4はSAR患者において血清ACRと正の相関を示し、また、血清syndecan-4濃度は27.6ng/mlをcut offとすると感度94.7%、特異度100%でサル

コイドーシスを非サルコイドーシス(健常者とIPF患者)と区別できた。以上の結果より、syndecan-4はサルコイドーシスにおいて肺における肉芽腫形成に関与し、血清syndecan-4の測定はサルコイドーシス診断に有用であると考えられる。

・ サルコイドーシスにおける血清Cathepsin S濃度の臨床的意義

昨年はtranscriptome scanの結果から選出したcathepsin S (CTSS)の血清濃度の診断的意義について検討した。今年度はACE活性が上昇する他の対照疾患についてもCTSSを測定し、ACEとの比較において、その意義をさらに検討した。その結果血清CTSSは、健常対照と比較して塵肺、肝硬変症、甲状腺機能亢進症、肺抗酸菌症でも上昇していた。しかしサルコイドーシスでは、肝硬変症を除くそれらの疾患より有意に上昇していた。血清ACE活性も既報のように肝硬変症、甲状腺機能亢進症で上昇していた。画像上鑑別が時に問題となるサルコイドーシスと塵肺に関して、CTSSのROC解析ではCTSS濃度72ng/mlでサルコイドーシスの診断感度は78%、特異度は79%であった。血清ACE活性についてはACE13.9IU/lで、サルコイドーシスの診断感度は68%、特異度は69%であり、CTSSの曲線下面積はCTSSが有意に大きかった。以上の結果よりサルコイドーシスの診断に関して、血清CTSS濃度は検討の対象とする疾患によっては高い鑑別能を有し、有用なマーカーと考えられる。

・ サルコイドーシスではBAL細胞中マクロファージのガレクチン9発現が亢進している

サルコイドーシスは原因不明の全身性肉芽腫疾患であるが、何らかの抗原により惹起されたTh1型過敏性免疫応答が病態の本質であり、疾病素因を有する宿主において発症するものと考えられている。本研究ではその疾病素因としてTh1免疫反応の制御系であるガレクチン9-Tim-3回路に着目し、本症への関与を検討した。

・ サルコイドーシスにおける代替治療について

サルコイドーシス(以下サ症)患者に対する治療については2003年に策定された本邦の治療ガイドラインに沿って行われるが、近年ステロイド剤の全

身投与に代わる新しい治療法が試みられるようになった。即ちステロイド剤の全身投与のみではコントロールの難しい症例に対して免疫抑制剤の単独またはステロイド剤との併用療法を行い一定の効果が得られている。またミノサイクリン系の抗菌剤による治療効果が皮膚サ症の症例を中心に確認されつつある。さらにステロイド剤の全身投与の適応がない肺サ症症例または患者がステロイド剤の全身投与に同意しない肺サ症症例においてステロイド剤の吸入療法が試みられており自覚症状の改善を認める症例が報告されている。こうしたステロイド剤の全身投与に代わる代替療法については本邦ではいまだ大規模な臨床研究が行われていないが、現時点での実態調査の結果と一部施設での臨床研究の結果を紹介する。

・サルコイドーシスの抗菌薬治療

サルコイドーシスには *Propionibacterium acnes* が関与していると考えられている。2001年 Bacheletzらは、テトラサイクリン系抗菌薬がサルコイドーシス皮膚病変に極めて有効(12例中10例有効)であると報告した。2008年山口もミノサイクリンまたはドキシサイクリンで治療を行い、20症例中6例有効と報告している。今回、サルコイドーシス患者に対して行った抗菌薬の治療成績をまとめた。

著効を示したのは、DOXY単剤投与群23例中7例(30.0%)であり、全例でサルコイドーシス皮膚病変が軽快した。ST合剤単剤投与群・MINO単剤投与群ではそれぞれ有効例は14例中1例(7.1%)、15例中1例(6.7%)にとどまり、他の群では著効例は見られなかった。また副作用発現率を単剤投与群で比べると、ST合剤・CLDM・MINOで皮疹・嘔気・胃部不快感・めまい・ふらつきが60-80%出現したのに対し、DOXY単剤群での副作用出現率は23例中6例(26%)と低値であった。

DOXY単剤投与群は有効率が高かったと言える。

特に皮膚病変に対して著効を示した印象である。胃腸障害やめまいの副作用出現率もMINOに比べ少なく、内服継続が可能である。

C. びまん性汎細気管支炎

・びまん性汎細気管支炎の疾患感受性遺伝子に関する研究

びまん性汎細気管支炎(DPB)の疾患感受性候補領域の中には、我々がクロニングした新規ムチン様遺伝子などいくつかの遺伝子が存在しているが、これらの遺伝子のヒト気道上皮細胞での役割については不明の点が多い。ヒト気道上皮細胞を用いてムチン様遺伝子の発現をRT/real time PCRで検討したところ、mRNA発現が気相液相培養・炎症刺激により誘導されることがわかった。遺伝的多型により発現量や刺激時の発現パターンに違いがみられるか、今後さらに検討する必要があると思われた。

〈評 価〉

最重要課題である特発性間質性肺炎については、重点項目として5つの項目をあげ、班全体として力をそそいで研究を推進することが出来た。特に疫学的研究は、さらに重要なデータを追加し、当初の目的をほぼ達成している。遺伝子研究についても、資料の収集が進み、まさに解析が進行中で、今後の成果がきわめて注目される。新しい治療法に関しても、ピルフェニドン、NAC、PMXについて新たな方向性が確定し、3年目のH22年度に大きな成果が期待される。また、ガイドラインとしての「手引き」改訂も順調に進行し、3年目に果実として出版が予定されており、全体を通して順調に目標が達成されつつある。今後は、サルコイドーシス、閉塞性細気管支炎などの疾患研究をさらに充実させる必要がある。

総 括 研 究 報 告
——平成22年度研究——

平成22年度
厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
びまん性肺疾患に関する調査研究班

研究代表者 杉山幸比古
(自治医科大学呼吸器内科 教授)

〈研究目的〉

びまん性肺疾患に関する調査研究班は、特定疾患治療研究事業対策疾患である「特発性間質性肺炎」、 「サルコイドーシス」の2疾患と、「びまん性汎細気管支炎」「閉塞性細気管支炎」を中心にそれらの関連疾患を含めて研究の対象疾患としている。これらの疾患の疫学、病態、病因、治療の研究を臨床面と基礎面の両面から行うことによって、きわめて難治であるこれら対象疾患の新しい治療法の開発と確立を目指している。さらに疾患の治療ガイドライン等の発行を通して、難病に苦しむ多くの国民の健康改善とQOLの改善に役立てることを研究の目的としている。

〈研究方法〉

この班の研究は基礎的研究から臨床研究、治療への応用ときわめて広汎にわたっており、その詳細については以下の各論において述べることとする。これらの研究においては当然のことではあるが倫理面への配慮は十分に行っている。すなわち、臨床研究はGCPを重視し、特に結果の公表、論文発表などに関してプライバシー保護の観点に留意し、守秘義務を徹底した。また研究の目的などを十分説明した上で納得の得られた患者の自由意志によりエントリーを行い、検体採取につとめた。また全ての実験動物は、National Society for Medical Researchによる“Principals of Laboratory Animal Care”およびNational Academy of Sciences(NIH公刊)による“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”(NIH Publication No.86-23, revised 1985)に従って、愛護的に取り扱った。

また、平成21年度からは班組織の中に、以下にあげるような部門、部会組織を作り、各部門、部会

に長および数名の部門員、部会員を置いて、重点的な項目については、より機動性、横断性をもって成果が上がるように企画した。

設置した部門および部会とその長は以下の通りである。

部門；特発性間質性肺炎部門(杉山幸比古)、サルコイドーシス部門(千田金吾)、びまん性汎細気管支炎・閉塞性細気管支炎部門(長谷川好規)

部会；特発性間質性肺炎部門に設置

①ピルフェニドン検証部会(杉山幸比古)、②PMX部会(吾妻安良太)、③IP合併肺癌の治療指針策定部会(海老名雅仁)、④IIPs「診断と治療の手引き」の改訂準備部会(本間栄)、⑤急性増悪部会(田口善夫)、⑥膠原病肺病部会(千田金吾)、⑦慢性過敏性肺炎部会(稲瀬直彦)、⑧在宅酸素療法・リハビリテーション部会(谷口博之)、⑨画像部会(酒井文和)

〈研究の要旨〉

A. 特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonia; IIPs)

今年度も重点項目として、(1)疫学的研究(2)急性増悪の解明(遺伝子の解析)、(3)新しい治療法の検討(4)間質性肺炎合併肺癌の治療指針策定(5)ガイドラインとしての「手引き」改訂の5つをあげて、これらに重点的に取り組んだ。

(1)疫学的研究

これまで大規模で正確な疫学的調査が皆無であったため、人口数が多く、しかも全数把握が可能な北海道地区において、札幌医大 高橋教授により詳細な疫学調査を行った。

(2)急性増悪の解明(遺伝子の解析)

日本人に多いとされる重症薬剤性肺炎(DAD型)とIIPsの急性増悪に関して共通の遺伝子異常がある可能性から、両病態の遺伝子検体を収集し、この分

野で卓越した研究能力を有する埼玉医大 萩原教授のもとに検体を集中させ、遺伝子解析を行った。

(3) 新しい治療法の検討

i) ピルフェニドン

世界初の特発性肺線維症(IPF)の治療薬である抗線維化薬ピルフェニドンが、日本で世界に先駆けて発売され2年余がたとうとしている。この薬剤の発売後の状況、どういった患者に効果があるのかといったことを後向きに調査した。また、著効例を集めた会を開き、著効例について詳細に検討した。

ii) 急性増悪に対するPMX治療

2008年よりPMX療法に関する全国調査を行っており、約160例(うちIPF 73例)が集積され、それらの例の詳細な解析を行い、この結果を論文化公表し、次の高度医療を用いた医師主導治験へとつなげていく予定である。

iii) N-アセチルシステイン

工藤班でのN-アセチルシステイン治験のデータを論文化し、投稿中である。さらに基礎的な研究も続行している。

(4) 間質性肺炎合併肺癌の治療指針策定

間質性肺炎合併肺癌の治療に関しては、大きな問題として外科手術時の急性増悪の問題と、化学療法時の薬剤性肺炎の問題があげられる。外科手術時の急性増悪については、呼吸器外科学会と共同で大規模アンケート調査を行い、リスクファクターの検出を目指している。また、化学療法については、安全なメニューの検討を行った。

(5) ガイドラインとしての「手引き」改訂

2004年発行の初版に、現在の新たな情報を加えた改訂版の編集を行い、2011年3月上旬に刊行予定である。

(6) その他の臨床的検討

画像部会では蜂巢肺の検討を行い、その他、膠原病肺の検討等、様々な視点から関連疾患を含めての臨床的検討が行われた。

(7) 基礎的検討

肺の線維化の基礎研究が分子レベルで様々な方向から多数行われた。

B. サルコイドーシス

特定疾患治療研究事業のデータを用いた疫学研究や、北海道地区での大規模な喫煙との関連の調査が

行われた。また、病因論としての基礎研究であるPacnes研究も引き続き行われた。治療としての免疫抑制剤の検討、GWASを用いたゲノム解析も行われた。

C. びまん性汎細気管支炎その他

びまん性汎細気管支炎の疾患感受性遺伝子の研究が行われ、新たなムチン様遺伝子が候補領域から2つクローニングされた。

〈研究結果および考察〉

A. 特発性間質性肺炎

I. 重点項目

(1) 疫学的研究

・北海道における臨床調査個人票に基づく特発性間質性肺炎の疫学調査(北海道Study)

平成15年から平成19年の5年間に北海道で新規に受理された特発性間質性肺炎臨床個人調査票を用いて疫学調査を行った。北海道は他の都府県と異なり、I度からIV度の全ての重症度で申請を受理し、診断基準に基づいた厳密な審査が行われている。このような背景より、北海道ではIPFの実態を正確に把握できる。我々は各医療機関に予後調査票を送付し、結果の解析を行った。その結果、特発性間質性肺炎(IIPs)の北海道における有病率(2008年8月時点)は10万人対11.8人であり、全国調査の約3.6倍存在する。IPFの生存中央値は診断時から43ヶ月であった。またIPFの死亡原因として急性増悪が最も多く41%を占めた。予後因子としては、単変量解析で年齢の高い群、ばち状指を認める群、安静時PaO₂の低い群、%VCの低い群、%DLcoの低い群、血清SP-DおよびKL-6が高い群、BAL中好中球比の高い群で、いずれも予後が悪く、有意な差を認めた。多変量解析では%VCが最も強く予後に関与していた。

(2) 急性増悪の解明(遺伝子の解析)

特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害は、高率に致死経過を取る重篤な病態である。びまん性肺疾患調査研究班を中心とした近年の研究により、両者の発症頻度には民族差があり、日本人では他民族と比較して高率に両病態が認められると推定されている。民族差が認められる疾患には遺伝因子が関与

している可能性が高く、遺伝因子の解明により疾患原因の解明、治療法、予防法の開発が可能となるため、遺伝因子解明の必要性は高い。

本部会の目的は、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害に関与する遺伝因子解明である。

現在行なわれている全ゲノム関連解析を中心とする遺伝因子解明手法は、診断の確実な症例を多数集積することを前提としている。しかしながら、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害を、類似の病態を有する非特異性肺線維症急性増悪、急性心不全、重症肺炎などと明確に分類することは必ずしも容易ではない。症例を集積するとともに、(1)びまん性肺疾患調査研究班で毎年精密化される疾患概念を取り入れ、集積症例の臨床診断を常に見直しながらか解析対象患者集団を絞り込む、(2)類縁病態患者が混入する可能性を考慮に入れた遺伝解析手法を使用する、という2点を満足した研究でなければ遺伝因子の解明は覚束ない。本部会では(1)画像を含めた臨床情報と共に患者DNAを収集する、(2)少数例、高バックグラウンド集団に使用できる解析手法を開発する、の2つを柱として研究を進めている。

(1)画像を含めた臨床情報と共に患者DNA収集する

2011年1月現在、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害患者DNAを325例(収集中)、うち画像、臨床情報の収集が153例(収集中)、Affymetrix社 SNP 6.0による解析終了症例89例、解析中症例50例と、順調に収集が続いている。500例-1000例の収集を予定している

(2)少数例、高バックグラウンド集団に使用できる解析手法を開発する

我々は以下の手法を開発、発表した。ホモ接合ハプロタイプ法(HH法: Am J Hum Genet 2007;80:1090-102)、定量ホモ接合マッピング法(BMC Bioinformatics 2010;15 Suppl 7:S5.)、ホモ接合ハプロタイプ法の上に構築したホモ接合マッピング法上のqHM法(HM on HH法)。それぞれ、既にデータが利用可能な他疾患(筋萎縮性側索硬化症、COPD)で実際に使用し、期待通りの結果が得られることを確認した(Nature 2010;465:223-6、および投稿中)。特にHM on HH法では、一般集団中に潜在する劣性遺伝子を90%のバックグラウンドの存在下で、60名の患者から検出できる能力が得られている(原稿執筆

中)。

このように本部会では、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害の遺伝解析の基盤を構築し終わり、検体収集が順調に進行している。大量の臨床データ、DNA情報のため、それらのデータベース構築にやや時間がかかると思われるが2011年度初頭からHM on HH法による解析を開始できると考えている。

(3)新しい治療法の検討

・新規抗線維化薬ピルフェニドンの検証

班員の施設で、IPFに対してピルフェニドンが投与され有効と判断された10症例を検討した。有効例の治療開始前の%FVCは平均77.8%で、6MWTでの最低SpO₂は9例で90%未満であった。重症度分類ではI度の5例中4例は、SpO₂が6MWTで90%未満に低下した例であった。以上より、ある程度VCが保たれていて、かつ労作時にSpO₂が低下する群で有効であった。一方で、FVCやDLcoが治療開始前よりも改善する例、重症度IV度でも有効な例などピルフェニドンが効果を示すレスポナー・サブグループの存在がうかがえた。

・急性増悪に対するPMX療法:(ポリミキシンB固定化カラムによる血液浄化)療法:多施設共同による後向き検討

近年、特発性肺線維症(IPF)をはじめとする特発性間質性肺炎や膠原病肺の急性増悪病態に対するPMX(ポリミキシンB固定化カラムによる血液浄化)療法の有効性が報告されているが、これまで多施設による大規模な報告はない。2008年よりPMX療法に関する全国調査を行っており、間質性肺炎の急性増悪に対してPMX療法が施行された160症例(うちIPF73例)のデータについて解析を行った。PMX施行により有意な酸素化(P/F比)の改善が認められ、また末梢血中の白血球数の有意な低下を認めた。増悪後3ヶ月の予後は30%を超えており、有効な治療法となり得ることが示された。

・早期特発性肺線維症におけるNAC単独吸入療法の効果とレドックス制御

【目的】早期特発性肺線維症(IPF)に対する長期NAC単独吸入療法の効果とレドックスバランスの関連性を検討する。【対象・方法】過去3年間で、

未治療のIPF 12例(男9例, 女3例, 70.5±5.9歳)を対象に, 吸入6ヶ月後のFVC変化率で効果判定を行い, 安定群(5%以上の増加あるいは5%未満の変化), 悪化群(5%以上の低下)に分けFVCとレドックスマーカーの経時的変化について比較検討した。レドックスマーカーとして血中総グルタチオン(tGSH), 還元型グルタチオン(GSH), 酸化型グルタチオン(GSSG), GSH/GSSG比, H₂O₂量, 尿中8OHd-Gを経時的に測定した。【結果】6ヶ月後の効果判定は12例中安定群9例, 悪化群3例であった。FVC変化率は安定群では早期にFVCの上昇を認め, 悪化群に比し長期間FVC低下率の減少を認めた。レドックスマーカーは, 全体ではtGSHの増加, GSSGの減少, GSH/GSSGの改善を認めたが, 安定群では, 吸入6ヶ月後よりレドックスマーカーの改善を認め, 悪化群では吸入6ヶ月で悪化したレドックスマーカーが吸入12ヶ月で改善される傾向にあった。(GSH/GSSG: 安定群/悪化群: 105±223 / -243±195 / 6M, P=NS, 232±356 / -189±76.5 / 12M, P=0.016) 【考察】早期IPFにおいてNAC吸入療法の継続はFVCの減少を抑制し, レドックスバランスの改善との関連性が示唆された。

(4) 間質性肺炎合併肺癌の治療指針策定

・特発性間質性肺炎合併進行肺癌に対する標準的化療法の検討

特発性間質性肺炎には高率に肺癌を合併することが知られているが, 各種抗癌治療により致死性でもある急性増悪(急性肺障害)を高頻度に認めることから, 間質性肺病変の合併は肺癌治療の重大な制限因子となっている。しかしながら, 治療法や抗癌剤の選択, 急性増悪の危険因子など治療の指針となる報告はほとんど見られないのが現状であり, 臨床の現場では, 治療適応や治療法選択の指針となる報告が求められている。我々は, 特発性間質性肺炎合併進行肺癌を対象にカルボプラチン+エトポシドおよびカルボプラチン+パクリタキセルの認容性を確認する前向きパイロット研究を実施し, 両治療法が過去の報告と比較しても間質性肺炎急性増悪発症の頻度は低く, 抗腫瘍効果も間質性肺炎非合併例と比較して同等である結果を得た。両治療法は, 間質性肺炎合併進行肺癌の標準的治療の有力な候補になりえ

ると考えられた。

(5) ガイドラインとしての「手引き」改訂

・特発性間質性肺炎診断と治療の手引き改訂第2版

「特発性間質性肺炎 診断と治療の手引き」は, 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が, 今日における特発性間質性肺炎の正しい理解を進め, 臨床における診断・治療の指針となるよう, 厚生科学研究特定疾患対策事業びまん性肺疾患研究班との共同で作成した。

初版発行(2004年9月)から6年以上が経過しており, とくにこれまでの治療の進歩を中心に盛り込み, 早い時期(2011年初旬)の改訂版発行を目指した。今回の改訂規模は小規模とし, 初版同様「手引き」として刊行する。治療については, N-アセチルシステインおよびピルフェニドンの情報充実を図った。また鑑別診断の項目に気腫合併肺線維症を追加した。IPF(ATS/ERS/JRS/ALAT)のガイドラインについては, 参考にはするが, 本書は日本における手引きであり, 日本の実情を反映するものとした。2011年3月刊行。

II. 臨床像に関する研究

・蜂巢肺のCT診断の一致度に関する調査研究

蜂巢肺は, IPF/UIPの画像診断上, 重要な所見であるが, 診断医により一致率が低いことが知られている。今回のその実態を調査するとともに, 不一致の原因を明らかにする目的で, 国内外43名の診断医の蜂巢肺診断の一致度を検討した。標準診断(reference standard)との一致度を見る限り, 蜂巢肺診断は, 診断医個人間のばらつきが大きく, 専門別, 経験別, 地域別で構成したグループ間での有意差はなかった。ばらつきの原因として蜂巢肺診断にあたりどの程度病理像を意識するか, UIP/IPFを意識するかが考えられた。また症例ごとに検討すると, 蜂巢肺と牽引性気管支拡張の区別が難しい例や肺気腫を伴い, 多嚢胞性陰影内に大型の気腫性嚢胞を含む例などで一致率が不良であった。

・Undifferentiated Connective Tissue Disease 関連間質性肺炎の組織学的特徴に関する検討

膠原病に関連した間質性肺炎は, 通常の特発性間質性肺炎とは違う臨床像を示すことが知られてい

る。その一方、症状や検査結果が膠原病を示唆するものの診断基準を満たさない疾患群が存在し、Undifferentiated Connective Tissue Disease (UCTD) と呼ばれる。現在のところ、UCTDに関連した間質性肺炎の詳細は明らかになっていない。本研究では、UCTD関連間質性肺炎の組織像を検討し組織学的特徴や疾患の独立性を検討した。

外科的肺生検された8例のUCTDの基準を満たす、間質性肺炎を組織学的検討および半定量的検討を行った。

UIPパターンが75%と最も多く、25%がNSIPパターンであった。UIPを示した6例のうち5例はNSIP様の部分が認められた。胸膜肥厚は全症例で、蜂巢肺は6例で、胚中心を伴ったリンパ濾胞は5症例、Peribronchiolar metaplasiaは4症例、線維芽細胞巣は4症例、血管内膜の肥厚は2症例を認めた。

UCTD関連間質性肺炎ではUIPパターンが最も多く、NSIP様の部分を伴っていた。また組織所見としては胸膜肥厚が特徴であった。

・気腫合併肺線維症での進行線維化病変診断におけるKL-6、SP-Dの有用性と気腫合併肺線維症の発癌に関する臨床および病理学的検討

気腫を伴う間質性肺炎は「非定型例の特発性間質性肺炎(B群)」として1991年の診断基準にも記載され、よく認識されていたが、近年気腫合併肺線維症として発表されたことによりその重要性が再認識されている。2003年4月から2008年3月までの手術症例を含む患者46人のCPFE患者の90.4%で、間質性肺炎マーカーSP-DあるいはKL-6の両方あるいはいずれかの上昇を認めた。その肺機能との比較では、負の相関が見受けられた。CPFE-CA群で扁平上皮癌が有意に多く(63%)、そのうち末梢型扁平上皮癌は75%であった。肺癌病理背景は線維化病変46%、気腫性病変15%、気腫線維化合併病変23%であった。

・線維間質性肺炎の診断に対する気管支肺胞洗浄検査 とくに慢性過敏性肺炎との鑑別への意義について

臨床的に特発性肺線維症(IPF)を疑う症例の中に、慢性過敏性肺炎(CHP)が含まれていることが指摘されている。線維性間質性肺炎の診断において気管支鏡検査は省略可能な検査であるのかを、当院にて外

科的肺生検にて線維性間質性肺炎と診断された49例を後ろ向きに検討した。CHPはIPFに比較し優位なリンパ球の増加(CHP22.8%, IPF9.0% p=0.02)、マクロファージの減少(CHP66.7%, IPF85% p=0.011)を呈していた。CHPの患者は、HRCTは約半数が蜂巢肺を伴いUIPパターンを呈していた。気管支鏡検査を省くことで、CHPをIPFと誤診してしまう可能性がある。典型的UIPパターンを呈する症例でも、気管支鏡検査の適応を検討する必要がある。

・びまん性肺疾患の病態における呼気凝縮液中の増殖因子測定の意義

特発性間質性肺炎の肺局所の病態を臨床的に把握することは、診断や治療管理上重要であるが、気管支内視鏡検査や肺生検は侵襲性があり、稀にこれらを契機として急性増悪がありうる。呼気凝縮液は気道被覆液の一部が呼気と共に回収されると推定され、最近では肺末梢の変化も反映しうるものとして注目される。そこで、びまん性肺疾患、特に特発性間質性肺炎を対象にして、呼気濃縮液(EBC)を採取し、その含有する各種因子、特に増殖因子を測定して、病態における意義を解明することを目的とした。健常ボランティア及びびまん性肺疾患患者において、当施設の倫理委員会の承認のもと、同意を得てR-tube(Respiratory Research Co, Charlottesville, VA)を用いて、呼気凝縮液採取を行った。従来のELISAの検出下限濃度より、高感度に検出可能なMUSTag法(Synthera Technologies, Tokyo, Japan)を用いてEBC内の微量なサイトカインや増殖因子を測定した。昨年度は気管支喘息患者との対比を主に検討した。本年度は、喫煙コントロールを加え検討した。各サイトカインなど各種変数と画像所見や呼吸機能検査、KL-6値などとの相関の検討、びまん性肺疾患とくにIIPsにおけるEBC中の増殖因子測定の実用性と意義について検討した。またNSIP症例・過敏性肺炎で画像・自覚症状の改善がEBCの低下に反映する症例を認め、EBCの治療モニターとしての可能性が予想された。

・特発性間質性肺炎症例におけるMPO-ANCA陽性症例の臨床的検討

特発性間質性肺炎症例におけるANCA陽性例の臨床像を明らかにするため、当施設にて2000年か

ら2009年の間に、外科的肺生検、または臨床診断にて特発性間質性肺炎と診断した症例のうち、MPO-ANCAを測定した102症例について検討を行った。その結果MPO-ANCA陽性例は7例(6.9%)で既報と同様だった。臨床診断特発性肺線維症が33例中1例(3.3%)、外科的肺生検による特発性肺線維症が48例中5例(10.4%)と、統計学的な有意差は認めないものの外科的肺生検施行例の特発性肺線維症において頻度が高い傾向が見られた。このことから外科的肺生検が施行されるような症例、すなわち画像所見が非典型的な症例ではMPO-ANCAの陽性率が高いことが示唆された。

・特発性NSIPにおける肺病変優位型の膠原病肺(Lung-dominant connective tissue disease)の臨床的検討

特発性NSIP 86例において、膠原病(CTD)の全身症状に乏しく、肺病変が優位なLung-dominant CTDの診断基準(Fischer)を満たす症例は30例(35%)を占めていた。Lung-dominant CTDの診断基準を満たす症例(LD-CTD NSIP)は、満たさない症例(Non-LD-CTD NSIP)と比較し、検査所見、肺機能、気管支肺胞液検査所見などに違いはなかったが、前者でレイノー症状などの膠原病関連症状の頻度が高く、自己抗体では抗SS-A抗体などの陽性率が高かった。今後、さらに治療反応性や予後について比較検討を行うことが重要と考えられた。

・慢性過敏性肺炎の全国疫学調査

本邦では慢性過敏性肺炎の全国疫学調査が1999年に報告されたが、その後10年間に報告例が増加し、臨床像が変化していることが予想される。今回、慢性過敏性肺炎の全国疫学調査を計画した。対象は過去10年間に診断された慢性過敏性肺炎症例で、原因抗原、症状、身体所見、検査成績(KL-6、SP-Dなど)、肺機能検査、動脈血液ガス、6分間歩行、気管支肺胞洗浄(BAL)、画像所見、病理所見、免疫学的検査、治療、予後についてアンケートにより調査した。21施設から213例が集積され、内訳は鳥関連130例、夏型33例、住居関連21例、塗装工肺3例、農夫肺1例、その他25例であった。

・放射線肺臓炎におけるN-アセチルシステイン吸入療法の有用性の検討

【目的】放射線肺臓炎(RP)におけるN-アセチルシステイン(NAC)吸入の予防効果とレドックスバランスの関連性を明らかにする。

【対象・方法】2007年4月～2010年4月まで当センターで胸部放射線治療(60Gy)を施行したIII期非小細胞肺癌3例を対象とした。放射線治療開始時より、症例別に1, 4, 6ヶ月間NAC(352.4 g)を2回/日ネブライザーで吸入を行い、血液中の総グルタチオン(tGSH)、酸化型グルタチオン(GSSG)、還元型グルタチオン(GSH)、尿中過酸化代謝物質(8-OHdG)を放射線治療前および放射線治療1, 3, 6ヶ月後に測定した。

【結果】全例NAC吸入中にはRPの発症はなく、吸入中止後3, 2, 4ヶ月後に発症した。4ヶ月間NAC吸入した症例では、3ヶ月後にGSSGの低下、GSH/GSSG比の上昇が認められ、NAC吸入は放射線治療後のレドックスインバランスを改善させる可能性が示唆された。

【考察】重篤なRPの発症を予防できるかどうかは、更なる症例の集積が必要である。

・Pirfenidoneの自覚症状に対する効果について

Pirfenidoneは、漸次進行性の予後不良な特発性肺線維症(idiopathic pulmonary fibrosis: IPF)に対し、第III相臨床試験において有意に肺活量(vital capacity: VC)の低下を抑制し、無増悪生存期間を延長させ、予後に寄与する可能性が示された。患者に希望を与える抗線維化剤である。pirfenidoneのVC低下抑制効果と呼吸困難、咳嗽については、基線時%VC70%以上かつ労作時SpO₂ 90未満の比較的軽症の患者層において高い有効性が示唆されたが、QOL向上につながる自覚症状に対する効果については、改善を認めた患者背景に関する更なる検討が必要である。画像または胸腔鏡下肺生検により臨床病理学的にUIPと診断した自験25例において、Fletcher, Hugh-Jones: F,H-J分類を用いて呼吸困難を著明改善、軽度改善～不変、悪化に分けて評価したところ各々5例、16例、4例であった。重症度IV度の症例でも著明改善2例、軽度改善～不変を5例認めた。著明改善群で%VCは有意に増加し、SP-D値は有意に減少した。改善例のQOLは著明に向上しており、今後、

pirfenidoneの有効性を更に検討し、患者選択基準や投与開始時期、評価指標を明確にし、予後不良な本疾患において、一人でも多くの患者のQOL向上を図る必要があると考えられる。

・ 特発性肺線維症における急性増悪の危険因子に関する研究

特発性肺線維症における急性増悪の危険因子を検討したところmodified MRC スコア高値、BMI高値、6ヶ月後のFVC10%以上の悪化は、IPFにおける急性増悪の独立した危険因子であった。急性増悪はIPFの独立した予後因子であった。

・ 特発性肺線維症の重症度分類改訂案作成に向けた症例集積

特発性肺線維症(IPF)の新重症度改訂案の考案のために「IPFの診断時にほぼルーチンに6分間歩行テスト(6MWT)を施行している」10施設にアンケート調査を行った。解析対象215例のうち現行重症度Iは103例で全体の47.9%を占めていたが、安静時PaO₂が80 Torr以上で6MWT中desaturationなし群の中央生存期間は99.3 ± 35.0 ヶ月であったのに対し、desaturationあり群は50.5 ± 1.9 ヶ月であり、desaturationあり群は有意に予後不良であった。現行重症度Iのdesaturationあり群を重症度IIに組み入れる新重症度分類改定案では重症度Iと重症度IIにおいて判別性に優れた重症度分類が可能と思われる。

Ⅲ. 基礎的研究

・ 線維形成性肺障害病態におけるマウス肺標識保持細胞挙動の解析

線維形成性肺傷害の修復期、すなわち創傷治癒過程において、呼吸器常在で複数の幹/前駆細胞的性格を有するBRCsがケモカイン依存的に肺内遊走によって線維化巣に集積することを示した。線維化巣は呼吸器自己再生応答の拠点「ニッチ」となっていることが示唆された。

・ 慢性過敏性肺炎の気管支肺胞洗浄液におけるプロテオミクス解析

慢性過敏性肺炎においてUIPパターンを示す症例は潜在発症型が多いこと、またUIPパターンは急性増悪のリスクとなることが報告されている。慢性過

敏性肺炎の病態に関わる蛋白を明らかにするために気管支肺胞洗浄液(BALF)を解析した。【方法】外科的肺生検を行った慢性過敏性肺炎11例(UIPパターン7例、fNSIPパターン4例)のBALFを用いた。2次元電気泳動、SYPRO Ruby染色後、画像解析ソフトを用いて各spotを比較解析した。質量分析(LC-nESI-MS/MS)およびデータベース検索により蛋白を同定した。【結果】UIP群において有意に発現が高いspotはα2 heat shock protein, surfactant protein A(SP-A)などであり、SP-Aには9個のisoformを認めた。一方fNSIP群において有意に発現が高いspotはvitamin D binding protein, glutathione S-transferase piであった。BALF中のSP-AはELISAでもUIP群において高値を示した。【結論】慢性過敏性肺炎のUIPとfNSIPにおいて発現量の異なる蛋白が明らかにされた。

・ オートファジーによる細胞老化の制御

IPFにおいて肺上皮細胞の老化が亢進し、その病態に関与している可能性をこれまで報告してきた。喫煙は細胞老化を亢進させ、IPF発症の重要な危険因子である。オートファジーは、リソソームを介した細胞内蛋白質や小器官の分解機構であり、生理的役割だけでなく、細胞老化など、様々な病態における重要性が報告されている。今回、我々は、喫煙による細胞老化誘導に対して、オートファジーが傷害された蛋白の分解除去により抑制的な役割を果たしていると考え、気道上皮細胞を用いて検討した。その結果、タバコ抽出液(CSE)刺激により、オートファジーは一過性に亢進した後に低下し、それに伴いユビキチン化した蛋白が蓄積し、細胞老化が誘導された。またオートファジーの抑制によりCSEによるユビキチン化した蛋白の蓄積が増加し、細胞老化が亢進した。一方、オートファジーの亢進によりCSEによるユビキチン化した蛋白の蓄積が減少し、細胞老化が抑制された。以上の結果から、喫煙刺激後のオートファジーによる処理機能の相対的な低下により、細胞内に傷害を受けたユビキチン化蛋白が蓄積し、これが細胞老化誘導の引き金となる可能性が示された。つまりオートファジー機能が細胞老化制御によりIPF病態に関与する可能性が示唆された。