

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療器械レギュラトリーサイエンス総合研究事業

薬剤性肺障害に関する包括的研究
分担研究報告
間質性肺炎のバイオマーカーの欧米人における
有用性に関する検討

研究分担者 服部 登
広島大学大学院医歯薬学総合研究科・分子内科学 准教授
石川 暢久
広島大学大学院医歯薬学総合研究科・分子内科学 講師
河野 修興
広島大学大学院医歯薬学総合研究科・分子内科学 教授

研究要旨

【背景】 Krebs von den Lungen-6 (KL-6) は、私たちが開発した間質性肺炎の血清バイオマーカーであり、わが国の臨床の場に広く普及している。しかしながら、欧米ではKL-6は研究的に測定されているのみであり、欧米人における有用性のデータは限られている。また、血清KL-6値はMUC1遺伝子上の単塩基多型(single nucleotide polymorphism; SNP)であるrs4072037 genotypeごとに異なることが報告されている。

【目的】本研究の目的は日本人と同様に欧米人においても血清KL-6値が間質性肺炎の診断に有用であることを明らかにすることである。同時に、日本人と欧米人における血清KL-6値の違い、ならびに血清KL-6値とrs4072037 genotypeの関連性、についても検討したい。

【方法】2007年2月から2011年11月までに広島大学病院ならびにドイツRuhrlandklinik, University Hospitalで間質性肺炎と診断された267症例(日本人115症例、ドイツ人152症例)ならびに、健常人186症例(日本人110症例、ドイツ人76症例)を対象として、血清KL-6値ならびにrs4072037 genotypeを検討した。さらに、血清KL-6値が最も高い感度・特異度で間質性肺炎症例と健常人を鑑別可能なカットオフ値について、人種別ならびにrs4072037 genotype別に分けて設定した。

【結果】間質性肺炎症例における血清KL-6値は健常人と比較して、ドイツ人ならびに日本人のいずれにおいても有意に高値を認めた。血清KL-6値のカットオフ値は、日本人と比較してドイツ人において高い傾向を認め、さらに血清KL-6値はrs4072037 genotypeと有意な相関を認めた。

【結論】血清KL-6値はドイツ人においても日本人と同様に、間質性肺炎の診断に有用であることを

明らかにした。rs4072037 genotypeの分布の違いにより、KL-6値は日本人とドイツ人で異なるカットオフ値を設定する必要がある可能性が示唆された。

A. 研究目的

間質性肺炎とは、200種以上の疾患の総称であり、原因不明のものは特発性間質性肺炎と呼ばれている。間質性肺炎、特に特発性間質性肺炎の中には難治性で予後不良な病態があることが知られており、早期の診断と治療介入を適切に行うことが重要である。現時点では間質性肺炎の診断は画像診断や病理診断など形態所見に基づくところが大きい。血清バイオマーカーは、低侵襲、低コストで何度でも繰り返し測定でき、結果が数値化されるため、極めて臨床上有用な検査である。

私達は血液中に循環抗原として存在する肺癌関連抗原を探求する目的で、肺癌細胞に対して反応特異性の高い多数のモノクローナル抗体を作製した。その過程で（抗）KL-6抗体と名付けたモノクローナル抗体が検出する循環抗原KL-6が、健常者よりも間質性肺炎患者血清において高率に異常高値を呈することを発見した。免疫染色やアミノ酸組成・糖組成などを含むその後の詳細な検討から、KL-6は膜貫通型の非分泌型ムチンであるMUC1ムチンに属する分子量200kd以上の高分子量糖タンパク抗原であることが明らかになった。その後、1999年には間質性肺炎の診断と疾患活動性指標として厚生省から診断薬として認可され、2000年には医療保険適用を受けるに至り、現在ではわが国において年間約200万検体以上の測定が行われている。しかしながら、欧米ではKL-6は研究的に測定されているのみであり、欧米人における有用性のデータは限られている。一方で、血清KL-6値はMUC1遺伝子上の単塩基多型 (single nucleotide poly-

morphism; SNP) であるrs4072037 genotypeごとに異なることが報告されている。さらに、HapMapデータベースによると、欧米人と日本人ではrs4072037 genotypeの分布の違いがあるとされており、血清KL-6値が人種間で異なる可能性があると考えられる。

以上の背景より、本研究の目的は日本人と同様に欧米人においても血清KL-6値が間質性肺炎の診断に有用であることを明らかにすることである。同時に、日本人と欧米人における血清KL-6値の違い、ならびに血清KL-6値とrs4072037 genotypeの関連性、についても検討したい。

B. 研究方法

2007年2月から2011年3月までに広島大学病院ならびにドイツRuhrlandklinik, University HospitalでATS/ERSのガイドラインに従い、臨床、画像、組織パターンに基づいて間質性肺炎と診断された267症例（日本人115症例、ドイツ人152症例）を対象とした。同時に健常人186症例（日本人110症例、ドイツ人76症例）も対象とした。

初診時に血清を採取し、遠心分離した後、 -80°C で凍結保存した。その後、血清KL-6値をelectrochemiluminescence immunoassay (ECLIA)法で測定した。全血から抽出したゲノムDNAを用いてRT-PCR法によりrs4072037 genotypeを同定した。間質性肺炎症例と健常人を鑑別するカットオフ値をROC (receiver operating characteristic) 曲線を用いて設定した。

(倫理面への配慮)

本研究の対象者は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日文部省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）に沿って作製され、当院のヒトゲノム研究倫理審査研究会で承認された文書によるインフォームド・コンセントが得られた症例とした。患者のプライバシーを厳守して研究を実施している。

C. 研究結果

1) 患者背景

Table 1 に示すように、間質性肺炎症例ならば健常人において、日本人とドイツ人の間において年齢、性別、喫煙歴、呼吸機能検査などの患者背景には差を認めなかった。

2) 間質性肺炎におけるKL-6値の有用性

まず、血清KL-6値の有用性を検討した。Figure 1a に示すように、血清KL-6値は、健常人と比較して間質性肺炎の症例において、ドイツ人においても日本人と同様に有意差を持って

高値を認めた。

次に間質性肺炎の血清KL-6値の日本人と欧米人の間における人種的な違いについて検討を行った。健常人における検討では、血清KL-6値は、日本人と比較してドイツ人で有意に高値を示したが、間質性肺炎症例における検討では人種的な違いを認めなかった。

3) 血清KL-6値のカットオフ値の人種による違い

血清KL-6値が、間質性肺炎症例と健常人を鑑別する能力を評価するために、ROC曲線を用いた検討を、ドイツ人と日本人に分けて検討をした。Figure 1b に示すように、ドイツ人における検討では、ROC曲線下面積(area under the ROC curve; AUC) は0.967 (p<0.001)であった。

Figure 1c に示すように、日本人における検討では、KL-6のAUCは0.987 (p<0.001)であった。以上より、血清KL-6値はドイツ人においても日本人と同様に極めて有用であることが明らかになった。次に、間質性肺炎症例と健常人を鑑別する感度・特異度が最も良くなるカットオフ値

Table 1-The clinical characteristics of study subjects

	German	Japanese	p value
Patients with ILDs			
Number of subjects	152	115	
Age, years	67.4 ± 0.8	67.5 ± 0.8	0.659
Gender, Male / Female	94 / 58	77 / 38	0.388
Smoking status, Non / Ex / Cu / unknown	68 / 56 / 15 / 13	44 / 55 / 14 / 2	0.282
VC, percent predicted	67.3 ± 1.6	72.0 ± 2.1	0.103
DLCO, percent predicted	48.3 ± 1.5	47.5 ± 1.8	0.642
Diagnostic categories of ILDs			
IPF, n	92	61	0.320
NSIP, n	44	34	
COP, n	6	10	
Drug-induced ILD, n	10	10	
Healthy subjects			
Number of subjects	76	110	
Age, years	45.1 ± 1.2	45.8 ± 0.7	0.345
Gender, Male / Female	33 / 43	62 / 48	0.083
Smoking status, Non / Ex / Cu / unknown	36 / 9 / 19 / 12	66 / 15 / 29	0.876

Data are shown as mean ± SEM. Statistical significance was tested by Mann-Whitney U test or Chi-square test. ILD, interstitial lung disease; Non, non-smoker; Ex, ex-smoker; Cu, current smoker; VC, vital capacity; DLCO, diffusing capacity of the lung for carbon monoxide; IPF, idiopathic pulmonary fibrosis; NSIP, nonspecific interstitial pneumonia; COP, cryptogenic organizing pneumonia

Figure 1

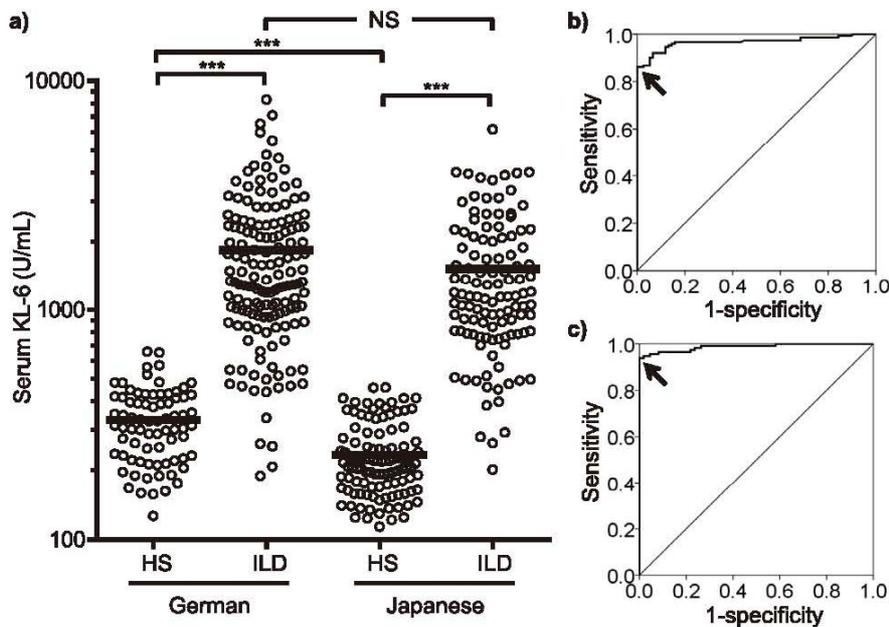


Figure 1

(a) Serum levels of KL-6 according to ethnicity, compared between healthy subjects and patients with interstitial lung diseases. Each point represents the serum KL-6 level in the studied subjects (HS, healthy subjects; ILDs, patients with interstitial lung diseases). The horizontal bars represent the mean values. The significance level was set as $\alpha = 0.0125$ (4 comparisons in 4 groups). *** $P < 0.001$ (Mann-Whitney U test). Receiver operating characteristic (ROC) analyses were performed between patients with IIPs and healthy subjects in (b) German and (c) Japanese cohorts. Arrows at the top left corner are set at the point with best sensitivity and specificity.

を人種ごとに設定した。KL-6のカットオフ値はドイツ人 659 U/ml、日本人では461 U/mlであった (Table 2)。

4) 血清KL-6値のカットオフ値のrs4072037 genotypeによる違い

血清KL-6値とrs4072037 genotypeの違いとの関連性を明らかにするために、rs4072037 A/A, A/G, G/G genotype別の血清KL-6値を検討した。Figure 2a に示すように、血清KL-6値は、健康人と比較して間質性肺炎の症例において、いずれのrs4072037 genotypeにおいても有意差を持って高値を認めた。

ROC曲線を用いた検討では、Figure 2b-dに示

すように、rs4072037 A/A, A/G, G/G genotypeにおける検討では、間質性肺炎症例と健康人を鑑別するKL-6のAUC値はそれぞれ0.991 ($p < 0.001$)、0.990 ($p < 0.001$)、1.000 ($p < 0.001$)であった。次に、間質性肺炎症例と健康人を鑑別する感度・特異度が最も良くなるカットオフ値をrs4072037 genotypeごとに設定した。KL-6のカットオフ値はrs4072037 A/A genotypeでは397 U/ml、A/G genotypeでは461 U/ml、G/G genotypeでは503 U/mlであった (Table 2)。

5) 線形回帰による多変量解析

様々な臨床的因子の血清KL-6値に与える影響について、線形回帰による多変量解析を行っ

Table 2- Optimal cutoff values of serum KL-6 according to ethnicity or rs4072037 genotype

	Ethnicity		rs4072037 genotype		
	German	Japanese	A/A	A/G	G/G
Cutoff value, U/ml	659	461	397	461	503
Sensitivity	0.862	0.939	0.958	0.986	1.000
Specificity	1.000	1.000	1.000	0.981	1.000
Diagnostic accuracy	0.908	0.969	0.977	0.984	1.000

The optimal cutoff values are determined as the serum levels of KL-6 which show the best sensitivity and specificity in ROC analysis. Diagnostic accuracy = (true positives + true negatives) / total subjects

Figure 2

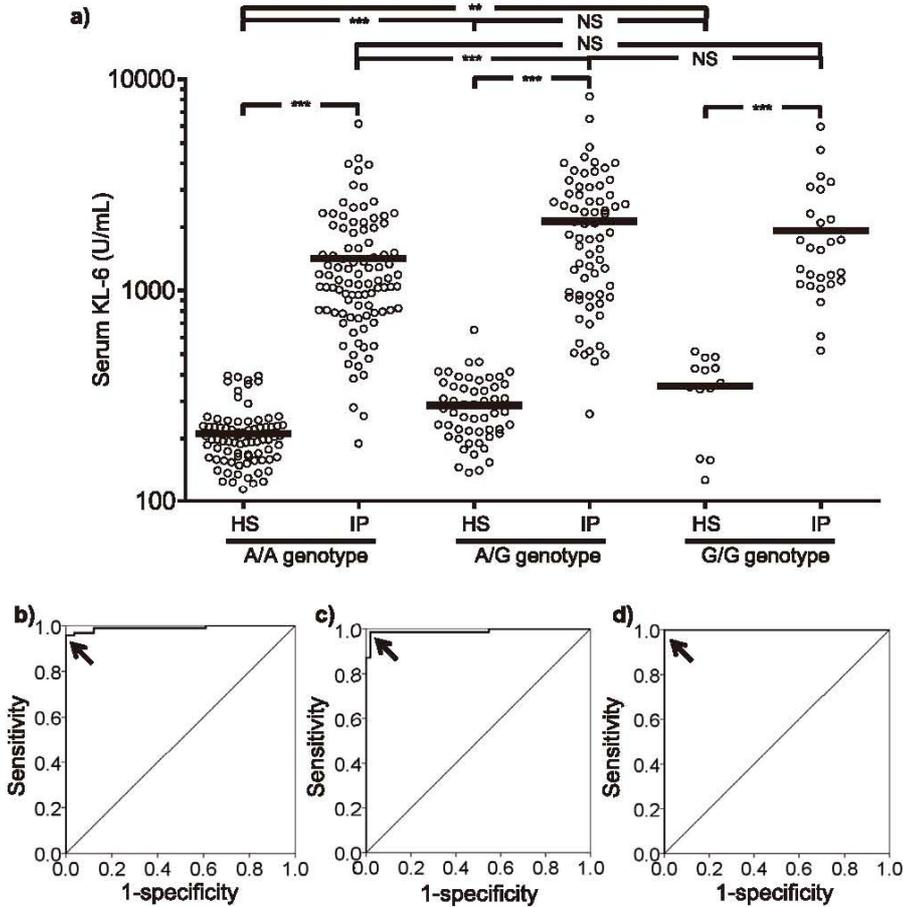


Figure 2

(a) Serum levels of KL-6 according to rs4072037 genotype, compared between healthy subjects and patients with interstitial lung diseases (ILDs). Each point represents the serum KL-6 level in the studied subjects (HS, healthy subjects; ILDs). The horizontal bars represent the mean values. The significance level was set as $\alpha = 0.0056$ (9 comparisons in 6 groups). ** $P < 0.0056$, *** $P < 0.001$ (Mann-Whitney U test). Receiver operating characteristic (ROC) analyses were performed between patients with ILDs and healthy subjects in (b) A/A cohort, (c) A/G cohort and (d) G/G cohort of rs4072037. Arrows at the top left corner are set at the point with best sensitivity and specificity.

た。単変量解析では、年齢 (regression coefficient (B) = 35.413, standard error (SE) = 4.090, $P < 0.001$)、ドイツ人であること (B =

730.926, SE = 125.844, $P < 0.001$)、rs4072037 G/G genotype (B = 333.670, SE = 93.596, $P < 0.001$)、間質性肺炎の存在 (B = 1489.534, SE =

Table 3- Linear regression analysis for serum KL-6

	Regression coefficient	Standard error	P value
Univariate analysis			
Age, years	35.413	4.090	<0.001
Gender, female vs male	135.546	133.043	0.309
Smoking, Non vs Ex vs Cu	23.001	88.610	0.795
Ethnicity, Japanese vs German	730.926	125.844	<0.001
rs4072037, A/A vs A/G vs G/G	333.670	93.596	<0.001
With or without ILDs, HS vs ILDs	1489.534	104.439	<0.001
Multivariate analysis			
Age, years	4.989	5.263	0.344
Ethnicity, Japanese vs German	117.823	120.173	0.328
rs4072037, A/A vs A/G vs G/G	213.973	81.802	0.009
With or without ILDs, HS vs ILDs	1533.652	159.022	<0.001

Non, non-smoker; Ex, ex-smoker; Cu, current smoker; HS, Healthy subjects; ILDs, interstitial lung diseases; VC, vital capacity; DL_{CO}, diffusing capacity of the lung for carbon monoxide

104.439, $P < 0.001$) が血清KL-6値と有意な相関を認めた (Table 3)。多変量解析では、rs4072037 G/G genotype ($B = 213.973$, $SE = 81.802$, $P = 0.009$) と間質性肺炎の存在 ($B = 1533.652$, $SE = 159.022$, $P < 0.001$) のみが独立した血清KL-6高値に影響を及ぼす因子であることが明らかになった。単変量解析では、年齢 (regression coefficient (B) = 35.413, standard error (SE) = 4.090, $P < 0.001$)、ドイツ人であること ($B = 730.926$, $SE = 125.844$, $P < 0.001$)、rs4072037 G/G genotype ($B = 333.670$, $SE = 93.596$, $P < 0.001$)、間質性肺炎の存在 ($B = 1489.534$, $SE = 104.439$, $P < 0.001$) が血清KL-6値と有意な相関を認めた (Table 3)。多変量解析では、rs4072037 G/G genotype ($B = 213.973$, $SE = 81.802$, $P = 0.009$) と間質性肺炎の存在 ($B = 1533.652$, $SE = 159.022$, $P < 0.001$) のみが独立した血清KL-6高値に影響を及ぼす因子であることが明らかになった。

D. 考察

本研究では、血清KL-6値が、日本人と同様にドイツ人においても間質性肺炎の診断に有用であることを明らかにした。間質性肺炎症例を健

常人と鑑別するのに感度・特異度が最も良いKL-6のカットオフ値は日本人と比較してドイツ人では高く設定する必要があることが示唆された。さらに、MUC1 rs4072037 genotypeの分布が日本人とドイツ人で大きく異なった。線形回帰による多変量解析では、rs4072037 genotypeと間質性肺炎の存在が独立した血清KL-6高値に影響を及ぼす因子であることが明らかになった。

本研究では、rs4072037 genotypeと血清KL-6値の関係について検討を行ったが、今までの報告と同様に血清KL-6値はGG genotypeで最も高値、AA genotypeで最も低値を認め、AG genotypeでその中間であった。また、G/G genotypeはドイツ人で多く、A/A genotypeは日本人で多かったが、rs4072037 genotypeの分布はHapMap dataの分布とほぼ同じであった。また、rs4072037 genotypeと間質性肺炎の疾患感受性の間には相関は認めなかった。

人種ごとに描いたROC曲線のAUC値はrs4072037 genotypeごとのAUC値はよりも高値であった。また、多変量解析の結果ではrs4072037 G/G genotypeと間質性肺炎の存在が独立して血清KL-6値に影響を与えていることが示された。以上より、遺伝子型ごとに分けることで血清KL-6の間

質性肺炎の診断能がより高まる可能性が示唆された。しかし、日常診療の場では、rs4072037 genotypeを評価することは時間、労力、コストなどより考えて現実的ではない。現実的には、欧米人では日本人と異なるカットオフ値の設定を行う必要があると思われる。

E. 結論

血清KL-6値はドイツ人においても日本人と同様に、間質性肺炎の診断に有用であることを明らかにした。ドイツ人と日本人におけるrs4072037 genotypeの分布の違いにより、血清KL-6値は日本人とドイツ人で異なるカットオフ値を設定する必要がある可能性が示唆された。欧米人における血清KL-6値を設定するためには、さらに多数症例での前向きな共同研究を行う必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Horimasu Y, Hattori N, Ishikawa N, Kawase S, Tanaka S, Yoshioka K, Yokoyama A, Kohno N, Bonella F, Guzman J, Ohshimo S, Costabel U. Different MUC1 gene polymorphisms in German and Japanese ethnicities affect serum KL-6 levels. *Respir Med* 2012; 106: 1756-64.
- 2) Ishikawa N, Hattori N, Yokoyama A, Kohno N. Utility of KL-6/MUC1 in the clinical management of interstitial lung diseases. *Respir Investig* 2012; 50: 3-13.
- 3) Osterholzer JJ, Christensen PJ, Lama V, Horowitz JC, Hattori N, Subbotina N,

Cunningham A, Lin Y, Murdock BJ, Morey RE, Olszewski MA, Lawrence DA, Simon RH, Sisson TH. PAI-1 promotes the accumulation of exudate macrophages and worsens pulmonary fibrosis following type II alveolar epithelial cell injury. *J Pathol* 2012; 228: 170-80.

- 4) Tanaka S, Hattori N, Ishikawa N, Horimasu Y, Deguchi N, Takano A, Tomoda Y, Yoshioka K, Fujitaka K, Arihiro K, Okada M, Yokoyama A, Kohno N. Interferon (alpha, beta and omega) receptor 2 is a prognostic biomarker for lung cancer. *Pathobiology* 2012; 79: 24-33.
- 5) Tanaka S, Hattori N, Ishikawa N, Shoda H, Takano A, Nishino R, Okada M, Arihiro K, Inai K, Hamada H, Yokoyama A, Kohno N. Krebs von den Lungen-6 (KL-6) is a prognostic biomarker in patients with surgically resected nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2012; 130: 377-87.

2. 学会発表

- 1) Ohshimo S, Horimasu Y, Bonella F, Ishikawa N, Hattori N, Tanigawa K, Kohno N, Guzman J, Costabel U. KL-6 and CCL18 as predictors for acute exacerbation in idiopathic pulmonary fibrosis. American Thoracic Society International Conference (2012.5. 18-23, San Francisco).
- 2) Horimasu Y, Hattori N, Ishikawa N, Tanaka S, Yoshioka K, Bonella F, Ohshimo S, Guzman J, Kohno N, Costabel U. Different serum cut-off values of KL-6 for German and Japanese to diagnose idiopathic interstitial pneumonias are related to different

Mucin-1 gene polymorphisms. American Thoracic Society International Conference (2012.5.18-23, San Francisco).

- 3) Horimasu Y, Hattori N, Ishikawa N, Tanaka S, Yoshioka K, Bonella F, Ohshimo S, Guzman J, Costabel U, Kohno N. Different cutoff values of serum SP-D for German and Japanese to diagnose idiopathic interstitial pneumonias are related to different SFTPD gene polymorphisms. European Respiratory Society Annual Congress (2012.9.1-5, Vienna).
- 4) Kohno N, Ishikawa N, Deguchi N, Iwamoto H, Ohshimo S, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Hattori N. KL-6 is a useful serum biomarker for early detection of interstitial lung disease. European Respiratory Society Annual Congress (2012.9.1-5, Vienna).
- 5) Ishikawa N, Hattori N, Taniwaki M, Horimasu Y, Matsuda T, Kohno N. Gene expression profiles of idiopathic interstitial pneumonias: Identification of disease-specific diagnostic markers and molecular therapeutic targets. European Respiratory Society Annual Congress (2012.9.1-5, Vienna).
- 6) Ihara D, Hattori N, Okamoto H, Kohno N. Intratracheal administration of dry powdered low-molecular-weight chitosan/siRNA complexes suppressed gene expression in the airway and metastatic tumors in murine lung. European Respiratory Society Annual Congress (2012.9.1-5, Vienna).
- 7) Iwamoto H, Hattori N, Haruta Y, Sugiyama A, Nakamura I, Nakagawa M, Miyamoto S, Onari Y, Ishikawa N, Fujitaka K, Murai

H, Kohno N. Characteristics of inspiratory and expiratory reactance in interstitial lung disease. European Respiratory Society Annual Congress (2012.9.1-5, Vienna).

- 8) Ohshimo S, Bonella F, Horimasu Y, Ishikawa N, Hattori N, Hirohashi N, Tanigawa K, Kohno N, Guzman J, Costabel U. KL-6 compared to LDH as a prognostic factor in Caucasian patients with idiopathic pulmonary fibrosis. European Respiratory Society Annual Congress (2012.9.1-5, Vienna).

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療器械レギュラトリーサイエンス総合研究事業

薬剤性肺障害に関する包括的研究
分担研究報告
薬剤性肺障害の発症に関与する
遺伝子学的検討に関わる研究

研究分担者 太田 正穂
信州大学医学部法医学教室 准教授

研究要旨

難治疾患・癌疾患治療に次々と新規の薬剤が導入され、その効果が期待されてきた。これらの薬剤は分子標的薬として、作用点が明確なうえに薬剤効果も優れている一方、薬剤による薬剤性肺障害の報告が年々増加している。薬剤服用により、喘息、間質性肺炎、好酸球性肺炎、肺水腫、胸膜炎など多様な肺病変を示す薬剤性肺障害は、使用する薬剤により人種間で障害度に差異が指摘され、また同一民族間においても薬剤感受性・抵抗性が認められている。これらの事実は、薬剤性肺障害発症に遺伝的素因が関わっていることが示唆される。

近年、薬剤副作用（ADRs: adverse drug reactions）発現とHLA(Human Leukocyte Antigen)との相関について多数の報告が見られる。特にHLA-B*15:02保有者は、抗てんかん薬カルバマゼピンにより、Stevens-Johnson症候群(SJS)発症が非保有者に対して800倍以上見られたと漢人で報告されている。数多くの報告から、HLAは特定の薬剤副作用発現の個人差に影響していると考えられる。薬剤性肺障害とHLAとの相関については、前年度まで検体数が少ないため、統計学的な検出力に確証が得られなかった。本年度は、肺障害を発症した新たな検体13例を加え、総数55例と、発症しなかった35症例で相関解析を行った。また、健常人との相関解析も行った。

本解析では、障害発症患者55例と非発症者35例についてA, B, C, DRB1, DQB1のアリルタイピングを行ったが、両群に $p < 0.05$ で有意差を示すアリルは検出されなかった。しかし、健常人との比較では、DRB1*04:05, DQB1*04:01アリル頻度が、肺障害発症患者群で有意に上昇していた(DRB1*04:05; $p = 0.022$ OR=2.10, DQB1*04:01; $p = 0.018$ OR=2.17)。以上、疾患群における薬剤肺障害発症に影響する顕著なHLAアリルは認められなかったが、ADRにはクラスII遺伝子(DRB1*04:05, DQB1*04:01)が疾患感受性を示した。今後更に検出力をあげるために、更なる検体数の検査が必要である。

A. 研究目的

本研究は日本人における薬剤性肺障害に遺伝学的要因が影響しているかについて検討した。分子標的薬ゲフィチニブ、新規抗リウマチ薬レフルノミド、抗がん薬ブレオマイシン、ボルテゾミブ等の薬剤により肺障害を発症した発症群55人と無症状の非発症群35人から得たDNAを用いてHLA遺伝子型を調べ、両群における相関解析を行った。

B. 研究方法

① 解析サンプル

解析に使用した症例は、薬剤による肺障害を発症した発症群55人と無症状の非発症群35人の血液を用いた。これらのサンプル血液から自動DNA抽出器 (Quick Gene, FUJIFILM Co.) を用いてDNAを得た。

② HLA-DNAタイピング

HLA-DNAタイピングは、LABType SSO試薬(One Lambda Inc.)にて、HLA-A*, -B*, -C* -DRB1*, -DQB1* をLuminex法で検査した。

統計解析は、 χ^2 test, Fisher's exact test, を行った。

(倫理面への配慮)

全ての血液提供者に対して研究の目的、研究の期間と方法等、研究に関わる事項を十分説明して、インフォームドコンセントを得た上で参加して頂いた。得られた個人情報は連結匿名化の上、本研究に関わらない個人情報は管理者により厳重に管理されている。また、研究にあたっては、信州大学の倫理委員会で承認を受けている。

C. D. 研究結果と考察

① 発症群と非発症群との比較

薬剤性肺障害発症群と非発症群におけるHLAアリル頻度および両群における χ^2 testによる相関解析結果を表1に示した。薬剤障害発症群と非発症群において、アリル数が5以上で遺伝子頻度が2倍以上の相違を示したのは、HLA-B*54:01(発症群:6.36%, 非発症群:12.86%)とHLA-DRB1*08:03(発症群:6.36%, 非発症群:15.71%)であった。また、アリル陽性者頻度で比較するとDRB1*08:03(発症群:12.7%, 非発症群:28.6%)のみに相違が見られた。しかし、アリル頻度、アリル陽性者頻度について、両群間では統計学的有意差($p < 0.05$)を示すアリルは存在しなかった。

② 健常人との比較

健常人201人(文献1)と、発症群および非発症群間におけるアリル陽性者頻度について比べ、 χ^2 testによる相関解析を行った。健常者と比較し、アリル陽性率で統計学的有意差($p < 0.05$)を示したのは、発症群においてHLA-DRB1*04:05(OR:2.10, $p=0.022$), -DQB1*04:01(OR:2.17, $p=0.018$), -C*01:02(OR:1.86, $p=0.049$)であった(表2)。また、非発症群においてはHLA-A*24:02(OR:2.51, $p=0.012$), -C*01:02(OR:2.10, $p=0.047$), -C*12:02(OR:2.59, $p=0.039$), -DRB1*15:02(OR:0.31, $p=0.029$), -DQB1*06:01(OR:2.10, $p=0.047$), -DQB1*06:02(OR:0.22, $p=0.012$)であった(表2)。

抗てんかん薬カルバマゼピン、高尿酸血症治療薬アロプリノール、AIDS治療薬アバカビルなど特定の薬剤で誘導される薬剤副作用(ADRs: adverse drug reactions)が特定の疾患において、HLAが相関すると報告されている(表3)。

表1 薬剤性肺障害発症群と非発症群間におけるHLAアレル頻度とアレル保有率

HLA-locus	alleles	Allele Frequency		Allele Positivity		HLA-locus	alleles	Allele Frequency		Allele Positivity	
		DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)	DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)			DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)		
A*	01:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)	B*	07:02	6(5.45)	2(2.86)	6(10.91)	2(5.71)
	02:01	14(12.73)	8(11.43)	14(25.45)	8(22.86)		13:01	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)
	02:06	15(13.64)	9(12.86)	15(27.27)	9(25.71)		15:01	10(9.09)	5(7.14)	10(18.18)	5(14.29)
	02:07	2(1.82)	1(1.43)	2(3.64)	1(2.86)		15:07	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)
	03:01	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)		15:11	2(1.82)	1(1.43)	2(3.64)	1(2.86)
	11:01	8(7.27)	6(8.57)	8(14.55)	6(17.14)		15:18	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)
	24:02	36(32.73)	28(40.00)	30(54.55)	23(65.71)		35:01	4(3.64)	5(7.14)	4(7.27)	5(14.29)
	24:20	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)		37:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)
	26:01	4(3.64)	1(1.43)	4(7.27)	1(2.86)		39:01	5(4.55)	5(7.14)	5(9.09)	5(14.29)
	26:02	2(1.82)	2(2.86)	2(3.64)	2(5.71)		39:02	3(2.73)	0(0.00)	3(5.45)	0(0.00)
	26:03	1(0.91)	4(5.71)	1(1.82)	4(11.43)		40:01	6(5.45)	2(2.86)	6(10.91)	2(5.71)
	31:01	13(11.82)	4(5.71)	9(16.36)	4(11.43)		40:02	7(6.36)	5(7.14)	7(12.73)	5(14.29)
	33:03	13(11.82)	5(7.14)	13(23.64)	5(14.29)		40:03	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)
							40:06	6(5.45)	3(4.29)	6(10.91)	3(8.57)
	01:02	25(22.73)	17(24.29)	22(73.33)	15(42.86)		44:02	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)
03:02	1(0.91)	0(0.00)	1(3.33)	0(0.00)	44:03	9(8.18)	6(8.57)	9(16.36)	6(17.14)		
03:03	12(10.91)	10(14.29)	11(36.6)	8(22.86)	46:01	3(2.73)	4(5.71)	3(5.45)	4(11.43)		
03:04	12(10.91)	6(8.57)	11(36.6)	6(17.14)	48:01	2(1.82)	2(2.86)	2(3.64)	2(5.71)		
04:01	3(2.73)	1(1.43)	3(10.00)	1(2.86)	48:04	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)		
05:01	1(0.91)	1(1.43)	1(3.33)	1(2.86)	51:01	10(9.09)	2(2.86)	10(18.18)	1(2.86)		
06:02	1(0.91)	1(1.43)	1(3.33)	1(2.86)	51:02	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)		
07:02	18(16.36)	10(14.29)	18(60.00)	10(28.57)	52:01	10(9.09)	8(11.43)	10(18.18)	8(22.86)		
07:04	1(0.91)	0(0.00)	1(3.33)	0(0.00)	54:01	7(6.36)	9(12.86)	7(12.73)	9(25.71)		
08:01	8(7.27)	7(10.00)	8(26.67)	7(20.00)	55:02	2(3.64)	2(2.86)	3(5.45)	2(5.71)		
12:02	9(8.18)	8(11.43)	9(30.00)	8(22.86)	56:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)		
14:02	7(6.36)	1(1.43)	7(23.33)	1(2.86)	58:01	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)		
14:03	9(8.18)	6(8.57)	9(30.00)	6(17.14)	59:01	5(4.55)	3(4.29)	5(9.09)	3(8.57)		
15:02	3(2.73)	2(2.86)	3(10.00)	2(5.71)	67:01	2(1.82)	1(1.43)	2(3.64)	1(2.86)		

DILD: drug induced lung disease, DILD(+)=110, DILD(-)=70

HLA-locus	alleles	Allele Frequency		Allele Positivity		HLA-locus	alleles	Allele Frequency		Allele Positivity	
		DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)	DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)			DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)		
DRB1*	01:01	7(6.36)	4(5.71)	7(12.73)	4(11.43)	DQB1*	03:01	15(13.64)	7(10.00)	14(25.45)	6(17.14)
	04:01	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)		03:02	7(6.36)	5(7.14)	7(12.73)	5(14.29)
	04:03	0(0.00)	2(2.86)	0(0.00)	2(5.71)		03:03	10(9.09)	10(14.29)	10(18.18)	10(28.57)
	04:05	22(20.00)	11(15.71)	20(36.36)	9(25.71)		03:10	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)
	04:06	6(5.45)	1(1.43)	6(10.91)	1(2.86)		04:01	22(20.00)	10(14.29)	20(36.36)	8(22.86)
	04:10	5(4.55)	0(0.00)	5(9.09)	0(0.00)		04:02	6(5.45)	0(0.00)	6(10.91)	0(0.00)
	08:02	2(1.82)	1(1.43)	2(3.64)	1(2.86)		05:01	7(6.36)	5(7.14)	7(12.73)	5(14.29)
	08:03	7(6.36)	11(15.71)	7(12.73)	10(28.57)		05:02	3(2.73)	5(7.14)	3(5.45)	5(14.29)
	08:04	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)		05:03	3(2.73)	1(1.43)	3(5.45)	1(2.86)
	09:01	8(7.27)	7(10.00)	8(14.55)	7(20.00)		06:01	17(15.45)	18(25.71)	17(30.91)	15(42.86)
	09:02	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)		06:02	10(9.09)	3(4.29)	10(18.18)	2(5.71)
	10:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)		06:03	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)
	11:01	2(1.82)	3(4.29)	2(3.64)	3(8.57)		06:04	8(7.27)	4(5.71)	8(14.55)	4(11.43)
	12:01	5(4.55)	3(4.29)	5(9.09)	3(8.57)		06:09	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)
	12:02	2(1.82)	2(2.86)	2(3.64)	2(5.71)						
13:01	1(0.91)	1(1.43)	1(1.82)	1(2.86)							
13:02	9(8.18)	5(7.14)	9(16.36)	5(14.29)							
14:03	1(0.91)	0(0.00)	1(1.82)	0(0.00)							
14:05	0(0.00)	1(1.43)	0(0.00)	1(2.86)							
14:06	5(4.55)	1(1.43)	5(9.09)	1(2.86)							
14:54	5(4.55)	5(7.14)	5(9.09)	5(14.29)							
15:01	10(9.09)	4(5.71)	10(18.18)	3(8.57)							
15:02	10(9.09)	5(7.14)	10(18.18)	5(14.29)							

表2 肺障害発症群・非発症群と健常者群とのHLAアレル保有率の相関関係

HLA-locus	alleles	Allele Positivity			DILD(+) vs Control		DILD(-) vs Control	
		DILD(+), n (%)	DILD(-) n (%)	Control, n (%)	OR	P	OR	P
A*	24:02	30(54.55)	23(65.71)	86(42.79)	1.86	0.049	2.51	0.012
C*	01:02	22(73.33)	15(42.86)	53(26.37)			2.10	0.047
	12:02	9(30.00)	8(22.86)	21(10.45)			2.59	0.039
DRB1*	04:05	20(36.36)	9(25.71)	43(21.39)	2.10	0.022	0.31	0.029
	15:01	10(18.18)	3(8.57)	51(25.37)				
DQB1*	04:01	20(36.36)	8(22.86)	42(20.90)	2.17	0.018	0.22	0.012
	06:02	10(18.18)	2(5.71)	50(24.88)				

DILD: drug induced lung disease, DILD(+)=110, DILD(-)=70, Control =201

表3 各種薬剤による副作用と相関するHLA

薬剤	対象疾患	副作用	相関するHLA	オッズ比	患者での割合	民族
Amlinopenicillin	肺炎	薬剤性過敏症	DRB1*01	9.3	83%	欧米人
Amlinocillin-Clavulanate	肺炎	肝障害	DRB1*15:01	35.6	57%	欧米人
Tiopronin	肝障害、皮膚炎	胆汁障害	A*33:03	41.5	93%	日本人
Abacavir	AID	胃腸障害、発疹	B*57:01	117.5	78%	欧米人
Carbamazepin	てんかん	SJS	B*15:02	895.5	100%	漢人
			A*31:01	10.8	61%	日本人
Allopurinol	痛風	SJS	B*58:01	393.5	100%	漢人
	高尿酸血症		B*58:01	40.8	20%	日本人
Ticlopidine	アテローム血栓症	肝障害	A*33:03	36.5	86%	日本人
Sulfamethoxazole	肺炎	SJS	B*38:02	76.1	76%	欧米人
Oxycarm	発疹	SJS	B*73:01	152.3	10%	欧米人
Phenytoin	てんかん	SJS	B*15:02	18.5	100%	タイ人
Ximelagatran	血栓症	肝障害	DRB1*07:01	4.4	47%	欧米人
Flucoxacillin	肺炎	肝障害	B*57:01	80.6	74%	欧米人

今回の解析結果では、薬剤性肺障害発症患者群ではHLAクラスII遺伝子であるHLA-*DRB1*04:05*とHLA-*DQB1*04:01*が健常者に比較して、統計学的有意に増加していたことより、この遺伝子が肺障害発症に関して機能的な役割をしていることが示唆された。更に、分子標的薬ゲフィチニブ、新規抗リウマチ薬レフルノミド、抗がん薬ブレオマイシン、ボルテゾミブ等の薬剤投与をしても疾患発症を示さなかった患者群では、HLA-*DRB1*15:01*とHLA-*DQB1*06:02*のアリル保有率が有意に減少していた。しかし、肺障害発症群と非発症群間においては、HLAのアリル頻度、アリル保有率に有意な相違は無かった。

今後これらのHLA遺伝子が疾患発症、非発症に機能的に関与しているか、更に検体数を増やした解析が必要である。

文 献

1. Saito S, Ota S, Yamada E, Inoko H, Ota M. Allele frequencies and haplotypic associations defined by allelic DNA typing at HLA class I and class II loci in the Japanese population. *Tissue Antigens* 56:522-529, 2000.

E. 健康危険情報

特記事項なし

F. 論文発表

1. Hanaoka M, Droma Y, Basnyat B, Ito M, Kobayashi N, Katsuyama Y, Kubo K, Ota M. Genetic variants in EPAS1 contribute to adaptation to high-altitude hypoxia in Sherpas. *PLoS One* 2012; 7(12) e40566.

G. 知的財産権の出願・特許状況

なし

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療器械レギュラトリーサイエンス総合研究事業

分担研究報告
薬剤性肺障害に関する包括的研究

分担研究者 花岡 正幸
信州大学医学部内科学第一講座 准教授

研究要旨

今年度新たに追加され、遺伝子解析を実施した薬剤性肺障害9例の臨床的特徴をまとめた。臨床症状は、発熱あるいは咳嗽で、薬剤はエベロリムスが4例、柴胡加竜骨牡蛎湯、ドセタキセル、プレオマイシン、エトドラクのジェネリック（オスペイン®）、アムルピシンがそれぞれ1例であった。薬剤の投与期間は3週間から4ヶ月、平均54.0日であり、血中KL-6の平均は399.2 U/mLと正常範囲のものが多かった。胸部高分解能CTでは全例に両肺野のすりガラス陰影や網状影を認めた。9例中5例に気管支肺胞洗浄（BAL）検査が施行されたが、細胞分画はばらつきがあった。薬剤リンパ球刺激試験（DLST）の陽性例は1例で、他の8例は他疾患を除外することにより臨床的に診断された。4例がパルス療法を含む副腎皮質ステロイド薬にて治療されたが、5例は被疑薬の中止のみで肺障害の改善が得られた。以上から、薬剤性肺障害は多様性に富む疾患であり、確定診断には他疾患の鑑別が非常に重要と考えられた。さらに、遺伝子情報など薬剤性肺障害における体質的素因が明らかとなれば、診断の有力な根拠になる可能性があると思われた。

A. 研究目的

近年、薬剤による肺障害の報告が増加しているが、診断は必ずしも容易ではない。薬剤性肺障害の診断は、すべての薬剤に肺障害を起こす可能性があることを認識し、疑うことから始まる。薬剤性肺障害の診断として、次のような基準が提唱されている。

- ① 原因となる薬剤の摂取歴がある。
- ② 薬剤に起因する臨床病型の報告がある。
- ③ 他の原因疾患が否定される。
- ④ 薬剤の中止により病態が改善する。

- ⑤ 再投与により増悪する。

すなわち、薬剤性肺障害は除外診断であり、病歴、自覚症状、血液検査、画像所見および気管支肺胞洗浄所見などを総合した臨床診断に頼らざるを得ない。そこで、今年度新たに遺伝子解析を行った薬剤性肺障害9例の臨床像をまとめ、その特徴を分析した。

B. 研究方法

2012年1月から2012年12月までの間に信州大学医学部附属病院へ入院し、薬剤性肺障害と診

断された9例を対象とした。男性7例、女性2例で、平均年齢は65.8歳であった。基礎疾患は、腎細胞癌が3例、精巣腫瘍、血管肉腫、脾腫瘍、関節リウマチ、小細胞肺癌がそれぞれ1例で、残りの1例は精力増強目的で漢方薬が処方されていた。

(倫理面への配慮)

本研究は信州大学医学部倫理委員会より実施を承認されており(課題名;薬剤性肺障害における遺伝子学的検討。承認日時および番号;2008年4月8日、No.243。)、今回の検討では全症例から、文書による同意を得ている。

C. 研究結果

自覚症状は、発熱あるいは咳嗽で、2例は無症状で発見された。原因薬剤はエベロリムスが4例、柴胡加竜骨牡蛎湯、ドセタキセル、プレオマイシン、エトドラクのジェネリック(オスペイン®)、アムルピシンがそれぞれ1例であった。薬剤の平均投与期間は54.0日で、範囲は21日から120日であり、用量依存性は認めなかった。4例で血液中のKL-6が基準値を超えたが、平均は399.2 U/mLと正常範囲であった。高分解能CTによる画像検査では、いずれも両肺野のすりガラス陰影や網状影を認めた。5例に気管支肺胞洗浄(BAL)検査が施行されたが、細胞分画はリンパ球増多、好酸球増多など多彩であった。薬剤リンパ球刺激試験(DLST)は、施行した4例中1例のみ陽性であった。DLST陰性や未実施の残り8例は、他疾患を除外することにより臨床的に診断された。治療として4例に副腎皮質ステロイド薬が使用され、5例は被疑薬の中止のみであった。人工呼吸管理を要した症例はなかった。すべての症例において臨床的改善を認め、肺障害は軽快した。

D. 考察

今回の検討から得られた薬剤性肺障害の臨床像を以下に列挙する。

- 1) 原因となる薬剤の投与中に、発熱あるいは咳嗽で発症した。
- 2) 薬剤の投与期間や用量には依存しなかった。
- 3) 血液中のKL-6は半数以上で正常範囲であった。
- 4) 高分解能CTで両肺にすりガラス陰影を認めた。
- 5) BALの細胞分画に一定の傾向はなかった。
- 6) DLSTは4例中1例に陽性であった(陽性率25%)。
- 7) 被疑薬の中止や副腎皮質ステロイド薬の投与により改善を認めた。

8) エベロリムスによる肺障害が増加した。すなわち、薬剤性肺障害の確定診断は必ずしも容易ではなく、基礎疾患の肺病変の悪化や感染症などと十分に鑑別することが必要である。

過敏性反応による薬剤性肺障害の診断として、

- ①薬物開始後(1~6週)に肺障害を認める。
- ②初発症状として発熱、咳嗽、呼吸困難、発疹を認める(2項目以上を陽性とする)。
- ③末梢血液像に好酸球増多または白血球増多を認める。
- ④薬剤感受性テスト(リンパ球刺激テスト、パッチテスト)が陽性である。
- ⑤偶然の再投与により肺障害が再現する。

の5項目のうち、確定診断には①、④または①、⑤を満たすことが必要で、疑い例は①、②または①、③を満たすこととされている。これらの中で、客観的な診断項目は末梢血の好酸球増多と薬剤リンパ球刺激試験(DLST)である。特にDLSTは、定量化により陽性基準が設定されており、一部では信頼性の高い検査として汎用

されている。しかし、偽陰性率が高いことは良く知られており、この偽陰性・偽陽性の問題、検査に使用する薬剤の濃度基準の問題、不溶性薬剤の問題など幾つかの問題点が指摘されている。今回DLSTを施行した4例のうち陽性は1例のみであり、陽性率は低かった。現状では薬剤性肺障害を客観的に確定できる検査は存在せず、本症の診断をより困難にしている。

平成23年度厚生労働科学研究費補助金、医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「薬剤性肺障害における遺伝子マーカーに関する遺伝子学的検討等に係る研究」において、信州大学の太田正穂らは全ゲノム網羅的な相関解析の結果、薬剤性肺障害発症に有意差 ($p < 0.0001$) を示した遺伝子を幾つか見出している (HIVEP3 1p34.2、NME 1q24.2、IL17RD 3p14.3、ATP11B 3q26.33、SCRC3 10q25.1、PAAF1 11q 13.4、CAND1 12q14.3、COL4A2 13q3.4、SLC39A11 17q25.1、CABLES1 18q11.2)。特に、1番染色体上に存在するHIVEP3とNME7遺伝子領域の複数の単塩基多型において、強い相関が得られた ($p < 0.0001$)。薬剤性肺障害において、このような遺伝子解析が進めば、発症予備軍のスクリーニングに大きな威力を発揮する。さらに、発症機序を踏まえた遺伝子解析の成果は、本症の診断に極めて有用と思われる。DLSTに代わる診断ツールの構築に向け、症例の蓄積と遺伝子解析の継続が重要と考える。

E. 結 論

薬剤性肺障害の臨床像は多様性に富んでいる。明確な診断基準はなく、現状では除外診断に頼らざるを得ない。本症の遺伝子解析が進めば、遺伝情報に基づいた診断方法と治療戦略の構築が期待される。さらに症例数を増やし、臨床データの分析と疾患感受性遺伝子の解析を行

う必要がある。また、今回エベロリムスによる肺障害が増加しており、同薬により薬剤性肺障害が高頻度に発症する事実を裏付ける格好となった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Lee JH, Hanaoka M, Kitaguchi Y, Kraskauskas D, Shapiro L, Voelkel NF, Taraseviciene-Stewart L. Imbalance of apoptosis and cell proliferation contributes to the development and persistence of emphysema. *Lung* 2012; 190: 69-82.
- 2) Ushiki A, Koizumi T, Yamamoto H, Hanaoka M, Kubo K, Matsushita M. Superior mesenteric artery syndrome following initiation of cisplatin-containing chemotherapy: a case report. *Journal of Medical Case Reports* 2012; 6: 14.
- 3) Ito M, Hanaoka M, Droma Y, Kobayashi N, Yasuo M, Kitaguchi Y, Horiuchi T, Ikegawa K, Katsuyama Y, Kubo K, Ota M. The association of Toll-like receptor 4 gene polymorphisms with the development of emphysema in Japanese subjects: a case control study. *BMC Res Notes* 2012; 5: 36.
- 4) Kitaguchi Y, Komatsu Y, Fujimoto K, Hanaoka M, Kubo K. Sputum eosinophilia can predict responsiveness to inhaled corticosteroid treatment in patients with overlap syndrome of COPD and asthma. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2012; 7: 283-9.
- 5) Wada Y, Koizumi T, Yokoyama T, Urushi-

- hata K, Yamamoto H, Hanaoka M, Kubo K. Synchronous gastrointestinal stromal tumor and primary lung adenocarcinoma. Intern Med 2012; 51: 2407-10.
- 6) Kitaguchi Y, Taraseviciene-Stewart L, Hanaoka M, Natarajan R, Kraskauskas D, Voelkel NF. Acrolein induces endoplasmic reticulum stress and causes airspace enlargement. PLoS One 2012; 7: e38038.
- 7) Hanaoka M, Ito M, Droma Y, Ushiki A, Kitaguchi Y, Yasuo M, Kubo K. Comparison of gene expression profiling between lung fibrotic and emphysematous tissues sampled from patients with combined pulmonary fibrosis and emphysema. Fibrogenesis Tissue Repair 2012; 5: 17.
- 8) Hanaoka M, Droma Y, Basnyat B, Ito M, Kobayashi N, Katsuyama Y, Kubo K, Ota M. Genetic variants in EPAS1 contribute to adaptation to high-altitude hypoxia in Sherpas. PLoS One 2012; 7: e50566.
- 9) 花岡正幸. COPDに合併する肺高血圧症とは. medicina 第49巻第3号 第430頁～第432頁 2012年.
- 10) 花岡正幸. 肺高血圧症の分類と診断. 呼吸器内科 第21巻第2号 第108頁～第112頁 2012年.
- 11) 花岡正幸. 肺高血圧症診断と治療の進歩. 呼吸 第31巻第6号 第525頁～第531頁 2012年.
- 12) 立石一成、小泉知展、漆畑一寿、山本 洋、花岡正幸、久保恵嗣. 診断および治療経過を観察できた肺腺癌小腸転移の1例. 肺癌 第52巻第3号 第310頁～第314頁 2012年.
- 13) 花岡正幸. 呼吸器内科：EVIDENCE UPDATE 肺高血圧症. 呼吸器内科 第22巻第4号

第313頁～第319頁 2012年.

2. 学会発表

- 1) 伊東理子, 花岡正幸, 太田正穂, 小林信光, 徳田均, 平井一也, 巽浩一郎, 河野修興, 久保恵嗣. 薬剤性肺障害における分子遺伝学的検討. 第109回日本内科学会総会・講演会 2012年4月 京都市.
- 2) 小林信光, 花岡正幸, 太田正穂, 牛木淳人, 伊東理子, 平井一也, 徳田均, 巽浩一郎, 河野修興, 久保恵嗣. 薬剤性肺障害における分子遺伝学的検討. 第52回日本呼吸器学会学術講演会 2012年4月 神戸市.
- 3) 小林信光, 花岡正幸, 太田正穂, 雲登卓瑪, 伊東理子, 勝山喜彦, 小林俊夫, 久保恵嗣. 高地肺水腫の分子遺伝学的検討. 第32回日本登山医学会学術集会 2012年6月 福岡市.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし