

上葉肺線維症の扁平胸郭に関する研究

扁平胸郭は上葉肺線維症における極めて特徴的な身体所見である。上葉肺線維症患者のCT所見を後ろ向きに調査し、扁平胸郭の時間的推移を検討した。その結果、初診時から胸郭が扁平な症例が多いが、線維化の進行とともに、胸郭の前後径と横径の比が有意に小さくなっていくこと、すなわち扁平胸郭が進行することを見いだした。また扁平胸郭は特発性上葉肺線維症で見いだされた所見であるが、今回の調査で二次性上葉肺線維症(肺移植後や放射線照射後など)においても後天的に扁平胸郭が進行することが明らかになった。

方法：我々がこれまで集積してきた病理組織学的にPPFEと診断された17症例の中から、胸部CTを1年以上の間隔で2回以上撮影している症例8例を選んだ。

縦隔条件で第6肋骨～胸椎レベルの水平断で骨性胸郭の最大横径(TDT)と最大前後径(APDT)を求めた。APDT/TDT比を各症例において2回のCT(1.87年～5.27年の間隔でCTが施行されている)で比較した。

結果と考察：8例の第1回めのAPDT/TDTは 0.593 ± 0.081 、第2回めのAPDT/TDTは 0.534 ± 0.053 ($p = 0.003$, paired *t*-test)であり、第2回めのAPDT/TDTが有意に低値であった。すなわち扁平胸郭が進行していた。また同時に測定したFVCもその間に急激に低下していた。

扁平胸郭は網谷が最初に報告して以来、わが国において認識されてきたPPFE/PULFにおける特徴的な身体所見である。従来扁平胸郭は発症以前から存在する先天異常ではないかとする考えがあった。肺気腫におけるビヤ樽胸郭が肺の過膨張にもとづく胸腔内圧の上昇に続発する骨性胸郭の変形であるように、線維化による上肺野の瘢痕収縮は扁平胸郭という骨性胸郭の変形を起こしうることが明らかとなった。

上葉肺線維症の呼吸機能の推移に関する研究

17例の上葉肺線維症(PPFE)における呼吸機能を後ろ向きに調査した。

結果：初診時 予測値に対してFVCが80%未満の症例が11例、TLCが80%以下の症例が14例中8例であった。また予測値に対してDLcoが80%未満の

症例が13例中8例あった。しかし14例中10例の残気率(RV/TLC)が予測値に対して120%を超えていた。

呼吸機能の年次推移 FVCの変動を1年以上観察できた症例が15例あった。FVCの平均年間減少率は-14.5%であった。しかし、2例のFVCの減少曲線は極めて緩徐であり、他の13例の急峻な減少パターンと比較して違いが明らかであった。

考察：2012年Respiratory Investigationに9例の特発性PPFEの呼吸機能の特徴を報告したが、今回は新たに7例を追加し検討した。7例が加わったことにより、FVCの年間減少率が-20.3%から-14.5%とやや緩やかになったが、それでも10%を超える減少率であり、PPFEの進行はIPFとあまり変わらないようにみえる。

しかし、FVCの低下が長期間にわたり極めて緩徐な症例が2例あった。PPFEという稀な肺線維症においてもその臨床経過はheterogeneousであり、今後さらに症例を集積して検討する必要がある。

今回の検討で残気率が大きいことも確認された。上肺野の線維化は同部位の収縮と下葉の代償的過膨張を招来し、残気率の上昇をきたす。下肺野に線維化の主座があるIPFでは残気率はむしろ低下傾向であり、両者に大きな相違がある。線維化病巣の解剖学的占拠部位の相違が残気率の相違に反映した結果となった。

IPFと診断されている症例に上肺野の胸膜に接してPPFE様の病変を観察できることは稀ではない。また上肺野優位の線維症があっても下肺野胸膜下に網状影があることもよく経験することである。PPFEは稀な肺線維症ではないかもしれない。PPFEがIIPsの国際分類に登場したことにより、今後症例報告が増加することが予想される。

気腫合併肺線維症(CPFE)に於ける肺癌の組織型と部位の検討

CPFEは、喫煙者に発症する上肺を気腫化、下肺の肺線維化を特徴とする。この疾患は、肺高血圧と肺癌を高率に合併することでも知られる。CPFEに合併する肺癌は、肺気腫や肺線維症に合併する肺癌よりも予後が悪いことが報告されている。この様な背景を基にCPFEの肺癌について組織型、発症部位について画像と病理組織から詳細な検討を加えた。

対象は、274名の肺癌症例についてCPFEを含む背景呼吸器疾患別に解析したところCPFEは、36名(13%)を占め、肺気腫、間質性肺炎に比較して末梢型扁平上皮癌が多く、気腫化部位或いはその周辺から発生していることが明らかになった。またCPFE自体が扁平上皮癌の独立した危険因子にもなることも明らかになった。

特発性肺線維症患者における血清バイオマーカーの経時的変化の検討

【目的】特発性肺線維症 (IPF) 患者における血清バイオマーカーの経時的変化を解析し、病状評価に関する有用性を検討する。【方法】2004年1月～2013年9月に当院で診断されたIPF 92例を対象として、呼吸機能検査の1年間の低下率がFVC<10% (あるいは<200ml) またはDLco<15%である症例をslowly progressive群 (S群)、4週間以上1年未満の経過で呼吸機能検査の1年間の低下率がFVC≥10% (あるいは≥200ml) またはDLco≥15%である症例をrapidly progressive群 (R群) と定義し、診断時の患者背景、臨床症状、呼吸機能、治療、血清バイオマーカー値の経時的変化、急性増悪の有無、予後を検討した。【結果】S群59例とR群33例の患者背景のうち、初回SP-AはR群で高値だった。観察期間中に急性増悪を生じた症例はS群で13例(22%)であったのに対してR群で16例(48%)と高率だった($p=0.014$)。S群、R群、急性増悪を認めた症例について、1年間のバイオマーカーの推移を検討した結果、S群では年間を通じて変化を認めなかった。一方、R群では、病状の進行を確認した時点(基準日)から遡って6～12カ月前と1～6カ月前の平均値に有意差はなかったが、基準日とその1～6カ月前の平均値との比較ではS群に比して有意に上昇していた(1.15～1.22倍, $p=0.014$)。また、急性増悪を生じた症例では、増悪時に、その1～6カ月前の平均値より有意な上昇(1.22～1.48倍)を認め、その程度はS群と比較して大きかったが($p=0.001$)、R群とは有意差を認めなかった($p=0.63$)。急性増悪時の各バイオマーカーの変化率で判定したROC曲線について、AUCはKL-6が0.73(95%CI: 0.61-0.85)、SP-Dが0.73(95%CI: 0.60-0.86)、SP-Aが0.72(95%CI: 0.59-0.84)であった。観察開始日からの5年生存率は、R群(34.4%)がS群(59.2%)より不良

であった($p=0.039$)。【結語】IPF患者の血清バイオマーカーは、S群とR群で推移が異なり、それぞれの病勢を反映し、R群では病状悪化を確認する1～6カ月前から上昇傾向を示した。また、両群ともに急性増悪時により大きな上昇を認めた。血清バイオマーカーの経時的変化はIPFの病状評価に有用である可能性が示唆された。

特発性肺線維症 (IPF) における肺病変先行型膠原病関連間質性肺炎 (CVD-IP)

間質性肺炎(interstitial pneumonia: IP)は膠原病(collagen vascular disease: CVD)の合併症として良く知られ、CVDの診断に先立ってIPが診断されることも少なくない。このような肺病変先行型の膠原病関連間質性肺炎(interstitial pneumonia associated with collagen vascular disease; CVD-IP)は特発性間質性肺炎(Idiopathic interstitial pneumonias; IIPs)の10-20%に潜在していると報告されており、IP診断時には既存のCVD診断基準を満たしていないために多くはIIPsと診断されている。IIPsにおいて、非特異の間質性肺炎(non-specific interstitial pneumonia; NSIP)は以前より自己免疫性疾患との関連が報告されており、特発性NSIPの診断後にCVDが発症する報告が多い。しかしながら、特発性肺線維症(Idiopathic pulmonary fibrosis; IPF)診断後にCVDが顕在化した報告例は少ない。本研究では、IPF 111例を対象に、IPF診断がCVD発症より6ヶ月以上先立った症例を肺病変先行型CVD-IPと定義し、その頻度や臨床像をレトロスペクティブに検討した。さらに、IPF診断時におけるCVD発症の予測因子についても解析を行った。結果は、肺病変先行例は10例(9%)であり、発症したCVDの内訳は、関節リウマチ(rheumatoid arthritis; RA)4例、顕微鏡的多発血管炎(microscopic polyangiitis; MPA)4例、強皮症(systemic sclerosis; SSs)1例、オーバーラップ(overlap)症候群[SSc/シェーグレン症候群(SjS)] 1例であった。平均先行期間は3.9年であり、累積発症率は1年0.91%、5年9.85%、10年15.5%であった。肺病変先行型CVD-IPはIPFと比較して若年女性が多く、予後良好であった。IPF診断時においてはCVD関連症状・所見や自己抗体陽性率ともに、IPFと肺病変先行型CVD-IPとの間で統計学的な有意差は認められなかった。Cox比例ハザードモデルにより、IPFにおけるCVD発症の

有意な危険因子は、女性(ハザード比3.333, 95%信頼区画0.732-6.441, $P<0.01$), 病理組織所見の胚中心を伴うリンパ濾胞の存在(ハザード比3.367, 95%信頼区画1.503-7.434, $P<0.01$)であることが明らかとなった。IPFの一部には少なからず肺病変先行型CVD-IPが潜在しており、その予後は良好な可能性がある。IPFを診療する際には、特にRA, MPAなどのCVD発症に注意しながら経過観察する必要がある。

間質性肺炎における血清KL-6値の季節変動に関する研究

【背景】 間質性肺炎の血清マーカーであるKL-6値の測定は、間質性肺疾患の存在診断、治療効果判定、および一部は予後判定に有用である。しかしながら、KL-6には各種間質性肺疾患における疾患特異性は乏しく、鑑別診断における有用性は限られる。一方、過敏性肺炎の様に、原因抗原暴露により肺病変が悪化し、血清KL-6値が季節性に変動する疾患も経験されるが、各種間質性肺炎における血清KL-6値の季節性変動に関しては不明である。【目的】 各種間質性肺炎における血清KL-6値の季節性変動の有無を明らかにする。【方法】 2009年4月から2013年11月までに、当院に通院歴又は入院歴のある間質性肺炎(特発性肺線維症(IPF), 非特異性間質性肺炎(NSIP), 膠原病関連間質性肺炎(CVD-IP), 過敏性肺炎(HP), 気腫合併肺線維症(CPFE))患者の中で、血清KL-6値が半年以上の間に4回以上測定され、少なくとも各季節1回以上測定されている患者を対象に、疾患情報、夏季(6月～9月)と冬季(11月～2月)の血清KL-6値を電子カルテより抽出し、血清KL-6値の季節性変動を後ろ向きに検討した。【結果】 血清KL-6値は、IPFよりCVD-IP, CPFEで有意に低かった。全経過中の血清KL-6値の変動は、CVD-IP, CPFEに比較して、NSIP, 住居関連HP, 鳥関連HPで有意に大きかった。住居関連HPと鳥関連HPでは、夏季と冬季の間で血清KL-6値の有意な季節性変動が見られた。他の間質性肺炎と比較して、鳥関連HPでは血清KL-6値が冬季に有意に増加し、住居関連HPでは、血清KL-6値は夏季に有意に増加していた。【結論】 間質性肺炎の治療中もしくは経過観察中に、血清KL-6値の季節性変動が大きい症例では、過敏性肺炎の可能性を考慮する必要がある。

Ⅲ. 基礎的研究

上皮間葉転換(Epithelial Mesenchymal Transition)を標的とした特発性肺線維症治療の試み

特発性肺線維症(IPF)は肺において高度の線維化が進行し、確立した治療法がない難治性疾患である。近年、肺線維化において、上皮間葉転換(Epithelial Mesenchymal Transition; EMT)の重要性が示唆されている。我々は抗アレルギー薬であるTranilastに着目し、EMT阻害及び肺線維化の抑制効果を検討した。マウスへのBleomycin経静脈的投与により肺線維症モデルを作成し、Tranilast経口投与による肺線維化の抑制効果を病理学的に評価、肺含有コラーゲン量を確認したところTranilastは線維化やコラーゲン増加を抑制し、免疫組織染色におけるFibronectinの発現も抑制した。一方、ヒト肺上皮細胞株であるA549をTGF β 2で刺激しEMTを誘導した。更にTranilastを添加、48時間後にmRNA及びタンパクを抽出し、EMT阻害効果を上皮系、間葉系マーカーを用いて検討した。TranilastはA549細胞においてTGF β 2誘導性EMTによる上皮系マーカーであるE-cadherinの発現消失を改善し、間葉系マーカーであるN-cadherinの発現、細胞外マトリックスの産生増加、TGF2誘導性Smad2,3のリン酸化を抑制した。またWound Healing Assayで細胞遊走能の検討を行いTranilastによる抑制を確認した。TranilastはTGF β 2誘導性のEMTに伴う細胞外マトリックス産生を抑制することより、IPF治療に有用である可能性が示唆された。

インパルスオシレーション法(IOS)を用いた特発性肺線維症(IPF)の臨床的評価に関する研究

【目的】 非侵襲的で短時間に行えるImpulse oscillation system(IOS)によって示される特発性肺線維症(IPF)の特徴を明らかにし、IOSがIPFの臨床的評価に応用可能かどうかを検討した。

【方法】 2010年5月から2012年9月までに当科を受診し呼吸機能検査とIOSを実施したIPF患者35例、COPD患者40例、健常者27例を研究対象とした。IOSではレジスタンスとリアクタンスが測定できる。5Hzにおけるレジスタンス(Resistance at 5Hz: R5)は全気道抵抗、20Hzにおけるレジスタンス(Resistance at 20Hz: R20)は中枢気道抵抗を表わすと考えられている。5Hzにおけるリアクタンス

(Reactance at 5Hz: X5)は肺のコンプライアンスの逆数を反映し、通常負の値を示し、その絶対値が大きいかほど弾性が増大していることを示唆する。IOS各指標(R5, R20, X5)について3群間で比較検討した。また、 $\Delta X5$ (呼気時X5と吸気時X5の差)に関して、肺活量(VC)、肺拡散能(DLco)およびComposite physiological index (CPI)との相関解析を行った。さらにVCおよびDLcoの年間変化量とX5の年間変化量の相関解析を行った。

【結果】IPFではR5, R20の増加は認めなかったがX5の低下を認めた。IPFでは吸気時X5<呼気時X5でありCOPDとは対称的な結果であった。 $\Delta X5$ はIPFで有意に高値となっており、VC, DLco, CPIと有意な相関を認めた。X5の年間変化量は、DLcoの年間変化量と有意な相関を認めた。

【結論】X5をIPFの臨床的評価に応用できる可能性が示唆された。

マウスブレオマイシン肺臓炎モデルにおける細気管支上皮細胞の役割に関する研究

【背景】肺線維化の初期事象は肺胞上皮の傷害と考えられており、肺線維症の研究は肺胞上皮細胞に着目したものが主である。以前、我々はマウスブレオマイシン(BLM)肺臓炎モデルにおいて、BLM投与初期には肺胞上皮細胞ではなく細気管支上皮細胞でHMGB1の発現が亢進し、その後、肺胞上皮細胞での発現が亢進してくることを示した。そこで肺線維化における細気管支上皮の役割に注目した。

【目的】マウスBLM肺臓炎モデルにおける細気管支上皮、その主構成細胞であるクララ細胞の果たす役割を明らかにする。

【方法】ナフタレン投与後、2日後のクララ細胞が脱落した状態のマウスに、BLMを気管内投与し、BLM投与14日後のBAL液の解析、組織学的評価を施行した。また、マウス肺より細気管支上皮細胞をレーザーキャプチャーマイクロダイセクション法にて選択的に採取し、マイクロアレイにて網羅的に解析した。

【結果】ナフタレンを前投与しクララ細胞を脱落させた状態にBLMを投与したマウスでは、BLM単独投与群と比較して、HE染色にて肺臓炎の抑制、BALFにて総細胞数、リンパ球数、総蛋白量の有意な減少を認めた。またEVG染色と全肺コラーゲン

量の低下から線維化の有意な抑制を認めた。クララ細胞数と全肺のクララ細胞特異的蛋白量に関してはBLM投与による有意な変化は認められなかった。またマイクロアレイでは、ナフタレン単独投与群とナフタレン+BLM投与群と比較して、5倍以上上昇していたのは11遺伝子、5倍以上低下していたのは14遺伝子であった。

【考察】ナフタレンにてクララ細胞を脱落させた状態のマウスでは、BLM肺臓炎が抑制されることを示した。クララ細胞と肺胞上皮細胞間には何らかのクロストークが存在し、間質性肺炎・肺線維症の病態に関与していると考えられた。以上より、細気管支上皮細胞が肺線維化において重要な役割を担っている可能性が示唆された。

ブレオマイシン誘発肺障害モデルマウスにおけるピルフェニドンの骨髄由来fibrocyte抑制効果に関する検討

背景：特発性肺線維症(idiopathic pulmonary fibrosis: IPF)は細胞外マトリックスの異常沈着を来とし、慢性かつ進行性に高度の線維化を来す予後不良な疾患である。IPFが線維化を来す機序の一つに骨髄由来fibrocyteの関与が指摘されているが、抗線維化薬であるピルフェニドン(PFD)のfibrocyteに対する作用はいまだ不明である。ブレオマイシン(bleomycin: BLM)誘発肺障害モデルマウスにてピルフェニドン(PFD)のfibrocyte抑制効果を検討した。

方法：C57BL/6マウスにBLMを投与し、PFDを14日間経口投与する予防モデルと、BLM投与10日目から21日目までPFDを投与する治療モデルを作成。Fibrocyte (CD45, collagen I陽性細胞と定義)をflow cytometryと免疫蛍光染色で評価し、ELISAでケモカインの濃度を測定し、また免疫蛍光染色を行った。さらにケモカインに対するfibrocyteの遊走能を評価した。

結果：Flow cytometryによる評価で、予防モデル、治療モデルともにfibrocyteがBLM群に比べPFD投与により減少、免疫蛍光染色でもfibrocyteの抑制が確認された(p=0.0097)。ELISAでは、BLMによるCCL2, CCL12上昇がPFD投与にて有意に抑制された(p=0.0003, p<0.0001)。CXCL12はBLMにより上昇し、PFD投与により抑制される傾向にあったが、有意差は認められなかった。BLM群におけるCCL2

の免疫蛍光染色では、II型肺胞上皮細胞、肺胞内マクロファージ、細気管支上皮において陽性所見を認めたが、これらはPFD投与により抑制される傾向にあった。Chemotaxisの検討では、fibrocyteはCCL2により遊走が認められ、PFD投与により有意に抑制された。

結論：PFDはBLM肺障害マウスにおける肺内fibrocyteを抑制し、これにはPFDのCCL2, CCL12抑制作用が関与していると考えられた。

ブレオマイシン肺線維症モデルにおける focal adhesion kinase 阻害薬の抗線維化効果

【背景】Focal adhesion kinase (FAK)は、細胞内シグナル伝達にかかわる125kDaの非レセプター型チロシンキナーゼで、細胞の遊走、増殖、生存に重要な役割を果たしていることが知られている。これまでの報告では、TGF- β による肺線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化にインテグリン-FAK経路が関与しており、特にFAKのY397のリン酸化が重要であることが示されている。そこで今回我々は、臨床開発が進められているFAK阻害薬TAE226を用いて抗線維化効果について検討した。【方法】TAE226はノバルティス社から供与を受けた。肺線維芽細胞株として、C57BL/6マウス肺から樹立した線維芽細胞株を使用した。細胞増殖は³H-チミジン取り込み試験を用いて、細胞分化については α -smooth muscle actinとcollagen I発現についてウェスタンブロット法にて検討した。肺線維症モデルは、C57BL/6マウスに浸透圧ポンプを用いてブレオマイシン(bleomycin: BLM)を持続皮下投与することで作製した。炎症細胞の評価を気管支肺胞洗浄による細胞成分の解析で、肺線維化の評価をヘマトキシリン・エオジン染色による線維化スコア(Ashcroft score)とcollagen含量の定量にて評価した。【結果】TAE226は、肺線維芽細胞の増殖を抑制するとともに、コラーゲン産生および筋線維芽細胞への分化を抑制した。BLM肺線維症モデルにおいて、TAE226は肺間質の増殖細胞数を減少させ、肺線維化を抑制した。【考察】FAKは、肺線維芽細胞の機能制御を介して肺線維化に重要な役割を果たしている可能性が示唆されるとともに、抗線維化療法の有望な分子標的であることが示された。

特発性肺線維症(IPF)におけるオートファジー低下による筋線維芽細胞分化誘導機序の検討

(背景)筋線維芽細胞の集簇からなるfibroblastic foci (FF)の形成は特発性肺線維症(IPF)の病態の本質である。我々は、昨年度、FFにおいてオートファジーが不十分であることが筋線維芽細胞への分化を誘導し、IPFの病態と関連する可能性を報告した。本年度は、オートファジー、特にミトコンドリア特異的オートファジー：マイトファジー低下による傷害ミトコンドリアの蓄積が過剰なReactive Oxygen Species(ROS)産生を誘導し、筋線維芽細胞分化を制御するとの仮説を立て、検証した。(方法)分離培養したヒト肺線維芽細胞を使用した。オートファジーはATG5 ノックダウンで、マイトファジーはParkin及びPINK1のノックダウンで抑制した。筋線維芽細胞分化は α -smooth muscle actin (SMA)の発現にて評価した。ROS産生はMitoSox Red染色とDCFH-DA法で評価した。(結果)オートファジー/マイトファジー抑制はミトコンドリア由来のROS産生を亢進させ、PDGF受容体およびPI3K-Akt経路を活性化し、筋線維芽細胞分化を誘導した。抗酸化剤(NAC, MitoTEMPO)およびPI3K-Akt経路阻害剤(LY294002, Akt1/2キナーゼ阻害剤)、PDGF阻害剤はオートファジー阻害による筋線維芽細胞分化を抑制した。(結論)ミトコンドリア由来のROS産生が亢進し、PI3K-Akt経路を活性化することが、不十分なオートファジー/マイトファジーによる筋線維芽細胞分化誘導の機序と考えられた。

間質性肺炎がもたらす組織微小環境と組織微小環境誘導上皮間葉移行に対するPTENリン酸化部位制御の重要性

間質性肺炎は微小環境として線維化病変形成を直接促進する。PTENは新規にintrinsically disordered protein (IDP)と分類されてそのPTENC末端リン酸化部位がintrinsically disordered region (IDR)と同定された。線維化病変が組織微小環境としてもたらすさまざまな上皮間葉移行(EMT)誘導刺激、特に過剰産生されるTGF β ・遷延化低酸素刺激に曝された肺上皮細胞は、IDRであるPTENC末端リン酸化部位のリン酸化修飾を受けて有意なPTEN発現抑制とPTENC末端リン酸化亢進がもたらされることを明らかにした。この結果、p-PTEN/PTEN ratio亢進が誘導さ

れPTEN活性減弱がおこることを明らかにした。間質性肺炎の肺病変ではTGF β ・低酸素誘導シグナルの活性化亢進がおこっていることが推察される。さらに、TGF β など組織微小環境因子刺激は β -cateninの細胞質内移行を誘導してEMT表現型獲得をもたらす。そうした中、PTENのC末端側リン酸化部位制御(PTEN4A)はTGF β 誘導 β -cateninの細胞質内移行を制御してEMT表現型獲得を抑制することを解明した。このようにIDRであるPTENC末端側リン酸化部位制御による機序を詳細に解析することは、EMTなどの表現型誘導機序を明確にすることにつながると思われる。

これらの知見は間質性肺炎の線維化病変にもたらされている線維化促進機序が関連する疾患遺伝子・蛋白の変異や発現だけで制御されるのではなく、組織微小環境因子によるIDPの発現後修飾によっても制御されることが示唆された。肺線維症における線維芽細胞とPTENを標的にしたこれらの課題は極めて有意義なものである。

特発性肺線維症におけるmidkineの役割

Midkineはヘパリン結合性成長因子であり、中期胚に強く発現し発生期に重要な役割を果たしていることが知られている。また、悪性腫瘍で発現が亢進していることや炎症・修復過程で強く発現することが報告されているが、肺の炎症性疾患におけるmidkineの役割についてはよく知られていない。そこで、特発性肺線維症(IPF)におけるmidkineの役割を検討するために、IPF患者の血清と気管支肺胞洗浄(BAL)液中のmidkine濃度を測定し、種々の臨床パラメーターとの関連を検討した。更に、C57/BL6マウスにbleomycin(BLM)を気管内投与し、肺組織におけるmidkine mRNAの発現を検討した。IPF患者では、健常者と比較して血清midkine濃度が高値であったが、BAL液中では、膠原病に伴う間質性肺炎、サルコイドーシスとは差がみられなかった。IPF患者における血清・BAL液中midkine濃度と臨床パラメーターとの関連性の検討では、血清・BAL液中midkineはBAL液中の炎症細胞分画と正の相関関係がみられた。更に、BLM気管内投与後のマウス肺組織では、投与後早期(day 3)と後期(day 14, 21)でmidkine mRNAの増加が認められた。以上の結果より、IPFにおいて発現が増加している

midkineは肺の炎症反応に関与しており、肺線維化病態への重要性が示唆された。

肺上皮細胞傷害に基づく肺線維症発症メカニズムにおける代償性IL-6シグナルの役割

【目的】前回のびまん性肺疾患に関する調査研究報告において、ブレオマイシン(BLM)誘導性肺線維症マウスモデルの炎症初期に、肺胞II型上皮細胞(AEC II)で産生されたIL-6が、オートクライン/パラクラインに作用して、AEC IIでSTAT3, Aktの活性化を促すことを報告した。今回、BLM-マウスモデルの炎症初期においてAEC IIで産生されるIL-6の病態進展への関与機構を検討した。

【方法】ヒトAEC IIの株化A549細胞をPI3K 阻害剤、抗IL-6中和抗体存在下でBLMにて刺激し、ウェスタンブロット法にて細胞内シグナルとアポトーシスの関係について検討した。さらに10週令マウスに、BLMを経気管的に投与後、抗IL-6中和抗体を経気管的に3日間連続投与した。Day 3にYO-PRO-1 iodideとPropidium iodideを経気管的に注入後、肺を摘出し、蛍光顕微鏡にてAEC IIのアポトーシス、ネクローシスについて解析した。また、day 7に肺を摘出し、炎症及び線維化について解析を行った。

【結果】A549細胞において、BLM刺激により細胞死シグナルであるcaspase 8の活性化が誘導され、抗IL-6中和抗体またはPI3K 阻害剤存在下では、より顕著となった。一方、IL-6の添加は、BLMにより誘導されるcaspase 8の活性化を抑制した。抗IL-6中和抗体の経気管的投与による肺内IL-6機能阻害下では、BLMにより誘導されるAEC IIのアポトーシスと肺組織の炎症に亢進を認めるとともに、線維化進展の亢進が見られた。肺線維症の病態成立の起点となりうるAEC IIの運命を握る重要因子として、IL-6がオートクライン/パラクライン様式で機能する可能性が示唆された。IL-6は、肺線維症の病態進展において重要な役割をはたすと考えられた。

【結論】抗IL-6療法が関節リウマチを代表とする炎症性疾患で行われ注目されているが、少なくとも、肺線維症/間質性肺炎患者もしくは、これを合併症として有する患者への適応は、慎重な検討を要する。

骨形成因子 bone morphogenic proteins (BMPs)の肺線維化に果たす役割

【目的】肺の線維化はさまざまな疾患で発生する炎症の遷延化や高度肺損傷に伴って生じるが、線維化の程度は予後悪化の重要な因子である。線維化においてTGF- β (transforming growth factor- β)は中心的な役割を果たすとされるが、その抑制に関連した治療のみでは適切な治療法に結びついていない。そこで、肺損傷後の組織修復に関連した因子の検討が不可欠と考えられる。組織修復への関連が示唆される因子に骨形成因子 bone morphogenic proteins (BMPs)があり、肺損傷と線維化における肺局所のBMPsの変化と役割をbleomycin(BLM)誘導肺線維化モデルで検討する。

【方法】マウスに対しBLMを経気道的に投与し、肺線維化モデルを作成した。BLM投与後の肺におけるBMPsの変化を測定し、肺線維化への関与が強いと考えられるBMPsを絞る。BLMによる肺線維化が軽減され修復が始まるBLM経気道的投与後21日目に、肺組織修復に重要と考えられるBMPsのsiRNA(small interfering RNA)を経気道的に投与し線維化遷延が生じるか検討する。

【結果】BLM投与後21日目に肺線維化が最も強く発現するが、その時にBMP-4とBMP-6のmRNAとタンパクの発現が低下する。その他のBMPsは有意な変化を示さず、肺におけるBMPsの拮抗因子と考えられているgremlinも有意な変化を認めなかった。BLM経気道的投与後21日目にBMP-4とBMP-6のsiRNAを経気道的投与すると、肺線維化の軽減が消失し線維化が遷延した。ここから、BMP-4とBMP-6は肺線維化の修復因子として関与する可能性が示唆された。

【結論】骨形成因子であるBMP-4とBMP-6は肺の線維化修復に関与し、発現低下は線維化遷延につながる可能性がある。また、これらの因子の発現増強が線維化改善に関与する可能性が示唆される。

B. サルコイドーシス

サルコイドーシス診断基準における特徴的な検査項目の検討

サルコイドーシス診断基準における陽性率が高い検査項目の抽出を目的として、特徴的な検査項目の検討を組織診断群において行うことを目的とした。ま

た、本邦において成人の結核の既感染率が著しく低下している現在において、ツ反の陰性が活動性を反映しているかどうか陰性群と陽性群で検討し、ツ反の意義に関しても再評価するも目的とした。診断時に血清ACE、血清リゾチーム、血清可溶性interleukin-2受容体(sIL-2R)、血清カルシウム、ツベルクリン反応(ツ反)、ガリウムシンチグラフィ、BAL検査をすべて検査しており、組織学的にサルコイドーシスと診断された118例について、病期ごとの陽性率を検討した。ACEは60.2%、リゾチームは39.8%、ACEカリゾチームのどちらでも70.3%、sIL-2Rは82.2%、カルシウムは1.7%で陽性であった。ツ反は65.2%で陰性であり、ガリウムシンチグラフィでは90.7%で縦隔、肺門または肺野に集積を認めた。BAL検査ではリンパ球増多が74.6%、CD4/CD8比上昇は68.6%であり、91.5%でどちらか一方の所見を認めた。ツ反陰性群と陽性群で特徴的な検査結果を比較検討したが、いずれも有意差がなく、ツ反陰性群において活動性が高いという結果は得られなかった。

今回の検討ではそれぞれの陽性率に関してはACEが60.2%、リゾチームが39.8%、ACEカリゾチームのどちらかが70.3%、ツ反が65.2%、sIL-2Rが82.2%、カルシウムが1.7%、ガリウムシンチグラフィが90.7%であった。BAL検査ではリンパ球増多が74.6%、CD4/CD8比上昇は68.6%であり、91.5%でどちらか一方の陽性所見を認めた。ツ反陰性群においてツ反陽性群に比較し活動性が高いという結果は得られなかった。本邦におけるサルコイドーシスの特徴的な検査としてはBHLに加えて、sIL-2R、ACEまたはリゾチーム、ガリウムシンチグラフィ、BAL検査が望ましいと考えられた。

サルコイドーシス患者血漿を用いたWestern blot解析によるアクネ菌感作抗原の同定とその病因的役割

【背景】サルコイドーシス患者及び健常人血漿を用いて、液性免疫の解析からアクネ菌由来の感作抗原およびサルコイドーシスにおける責任抗原の同定を目指している。これまでにwestern blot法により患者・健常人が高頻度に感作しているアクネ菌由来の蛋白の分子量が判明している。本研究ではこれらの蛋白を同定するために質量分析を実施し、さらに同定された蛋白についてリコンビナント蛋白を作製

して実際に免疫反応を検証した。

【方法】質量分析を実施するにあたり、まずアクネ菌の可溶性・不溶性成分に対するwestern blotを行った。可溶性成分中に目的の分子量のバンドが検出された場合には、さらに可溶性成分を陰イオンクロマトグラフィーにて分離した24分画の中からの分画中にバンドが検出されるかを確かめた。目的蛋白が単一バンドとして切り出せたものをTOF-MS解析により同定した。同定されたアクネ菌由来の7種類の蛋白のうち完成した3種類のリコンビナント蛋白に対して、アクネ菌感作マウス血清ならびにサルコイドーシス患者・健常人血漿を用いてELISAによる抗体価測定を行うとともに、アクネ菌感作マウス・サルコイドーシス患者細胞を用いてELISPOT assayによる細胞性免疫反応の検討を行った。

【結果】アクネ菌感作マウスにおいては、Catalase, Ribose phosphate pyrophosphokinase, UDP-N-acetylglucosamine phosphatase, に対して液性免疫・細胞性免疫ともに高い反応を見せた。サルコイドーシス患者においては健常人に対し有意な抗体価上昇は認められず、細胞性免疫では4例中2例でCatalaseに対する反応が確認された。

【考察】質量分析で同定された7種類の蛋白と他菌種の同一蛋白に対する相同性は低く、本菌特異的な蛋白抗原である可能性が高い。今後患者検体を用いた細胞性免疫反応に関する解析を追加検討し、本法の有用性を検証したい。

サルコイドーシス患者における血清カテプシンSの臨床的意義－罹患臓器数やステロイド治療との関連について－

以前我々が見出したサルコイドーシスの新規血清マーカーであるカテプシンS (CTSS)の、詳細な臨床的意義を検討した。対象は34名のサルコイドーシス患者で、経過観察中央値2.7年の間に採取した115試料のCTSSを測定した。その結果、CTSS濃度は罹患臓器数が増えると高くなり、特に罹患臓器数3以上では、2以下に比して有意に高値であった。疾患が緩解に至ると、CTSSは全例低下した。CTSSは血清ACE活性と高度に相関していたが、全身ステロイドが投与されACEが低下した時点でもCTSSが高い場合があり、残存病変量を反映するなど独自の臨床的意義が示唆された。

C. 閉塞性細気管支炎(BO)・びまん性汎細気管支炎(DPB)

びまん性汎細気管支炎・閉塞性細気管支炎部門報告

びまん性汎細気管支炎と閉塞性細気管支炎は、ともに細気管支領域を主病変として呼吸不全をきたす慢性のびまん性肺疾患である。本研究班では、疾患の実態と病態を解明し、治療と予防につながる科学的根拠を探索する事を目的とした。3年間の活動では、初年度に閉塞性細気管支炎の全国調査を実施した。その結果、病理学的に確定診断された症例が93例、臨床診断例384例の報告を得た。その翌年より、全国調査研究に基づき、病理学的に確定診断された症例を中心に個別症例検討会を実施した。個別症例検討会において、診断の困難さ、施設における病態認識の違いが明らかとなった。今後、症例集積による症例解析集の作成と診断の手引きへの展開が必要であると考えられる。

びまん性汎細気管支炎疾患感受性候補領域に存在する新しい肺サーファクタントプロテインsurfactant associated 2 遺伝子SFTA2のヒト気道上皮細胞における発現の検討

びまん性汎細気管支炎(DPB; diffuse panbronchiolitis)は、東アジア系集団にみられるHLA class I関連疾患である。第6番染色体HLA領域、HLA-B遺伝子座とHLA-A遺伝子座の間にあるDPB疾患感受性候補領域の中には、我々がクローニングした2つの新規遺伝子PBMUCL1 (MUC22), PBMUCL2にDPCR1, MUC21を加えた4つのムチン・ムチン様遺伝子が局在し、クラスターを形成している。これらのムチン遺伝子クラスター領域のHLA-A側に、肺組織に特異的なサーファクタント蛋白であるsurfactant associated 2 遺伝子SFTA2が最近新たに見いだされた。初代培養ヒト気道上皮(HBE)細胞でSFTA2遺伝子発現をreal-time RT/PCRで検討したところその遺伝子発現が検出されたが、気相液相培養による再分化状態で発現増加はみられなかった。初代培養HBE細胞に各種炎症刺激を加えたとき、インターフェロン γ 添加で約2倍の発現誘導がみられ、 α デフェンシンとIL-13の添加により発現低下が認められた。SFTA2領域の遺伝的多型とその頻度をDPB患者と日本人健常コントロールで検討したが、DPBと有意に関連する多型はみられなかった。これは、HLA-B*5401を有

するハプロタイプが組み換えにより2つの主要な疾患感受性HLAハプロタイプであるHLA-B*5401-A*1101とHLA-B*5401-A*2402に分かれたという仮説に基づくと、*SFTA2*遺伝子座はその組み替え点よりHLA-A側に位置することから疾患と関連していない点を説明することは可能である。しかし、*SFTA2*の遺伝的多型にはアジア人特異的なものも多くみられ、特にプロモーター領域の600塩基の中には10個の遺伝的多型が集中して存在しており、疾患との関連やその意義については、さらに今後の検討が必要と考えられる。

〈評 価〉

1) 達成度について

ほぼ当初の予定通り、計画は遂行された。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

間質性肺炎に関しては、基礎的研究臨床的研究共に多くの重要な英文誌に成果が発表された。特に、呼吸器外科学会との共同研究による、間質性肺炎合併肺癌の手術リスクに関する論文は注目される。国際的には特に、特発性肺線維症に対する抗線維化薬ピルフェニドンの使用経験について、海外から大きな注目が寄せられている。2008年からの使用経験のヨーロッパ呼吸器学会での発表は、広くピルフェニドンが使用され始めているEU諸国から大きく注目されている。これらのピルフェニドン関連の成果は既に多くが投稿中であり、英文誌に順次掲載される予定で、今後国際的にも価値が認められることになろう。間質性肺炎ではこの3年間に大規模な疫学的研究がさらに進行し、日本でのIPFの疫学的な状況が明らかにされた。このことはきわめて重要であり、これら疫学的データは今後の厚生労働省の行政

面、特に難病対策に大きな貢献があるものと考えられる。さらに、2回にわたる関西、関東での患者勉強会では200～300名の患者、およびその家族が来場され、この難病に対する一般への啓蒙に大きく役立ち、今後の患者会創設へ向けた端緒となることが期待される。

3) 今後の展望について

特発性間質性肺炎、サルコイドーシス共に「疫学」「新しい治療法の検討」「患者・家族のQOL改善」をテーマに3年間、様々な活動を行い、大きな成果をあげることが出来た。「疫学」については、これまでの成果の公表と英文による発表を予定しており、進んでいる。「新しい治療」に関しては、先進的なピルフェニドンの成果を全世界に示していく必要性があり、ピルフェニドンの成功をきっかけに世界的に動き出した様々な新規抗線維化薬をどのように使いこなして、患者を治療していくか、に方向性は定まっている。「QOL改善」に関しては2014年度以降も、勉強会を継続する予定であり、その中から患者会を創設することが現実となるであろう。サルコイドーシスについても、QOL面から2冊の出版物の改訂と市販化を予定しており、これにより患者・家族のQOL改善が進むものと考えられる。

4) 研究内容の効率性について

特発性間質性肺炎に関しては、13の部会を班内に設け、各部会に責任者をおいて全国縦断的な組織を構築し、研究の効率化を行った。これにより、きわめて効率的な費用対効果がえられた。様々な近日的課題について、多くの成果を挙げられたのは、こういった組織態勢によるところが大きかったものと考えられる。

研 究 報 告

A. 特發性間質性肺炎

(1) 疫学的研究

【平成23年度】

ピルフェニドン検証部会—その1(坂東政司)

特発性間質性肺炎患者に関する 前向き疫学調査研究(WEB 登録) —特発性肺線維症に対する治療を中心に—

自治医科大学 呼吸器内科
坂東政司, 杉山幸比古

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7年が経過した。2009年度で新規登録は終了し、現在は登録された436例の追跡調査中である。WEB登録症例の特徴として、1)全国19施設からの登録、2)特発性肺線維症(IPF)が321例(72.8%)を占め、かつ51.0%が重症度I・II度、3)IPFに対するピルフェニドン治療例は52例(ピルフェニドン単独例33例、ピルフェニドンと副腎皮質ステロイド薬の併用例14例、ピルフェニドンとNAC吸入の併用例4例)、などである。

今回は、IPFに対するピルフェニドン治療の現状を中心に報告する。

目 的

特発性肺線維症(idiopathic pulmonary fibrosis; IPF)をはじめとする特発性間質性肺炎(idiopathic interstitial pneumonias; IIPs)患者の診断時からの自然経過や治療介入時期・使用薬剤およびその効果などについての大規模な疫学研究は、わが国ではこれまでになされていない。本研究は、全国の専門医療機関が共同でIIPs患者の自然経過や治療介入に関する臨床情報をWEB登録することによりIIPsの臨床経過を明らかとし、標準的治療法を確立することを目的としている。

これまでの経緯

2003年度から厚生労働省の難治性疾患克服研究事業「IIPsの画期的治療法に関する臨床研究班」(研究代表者 工藤翔二)が本登録システム構築に着手し、その後、2005年度からは当時の「びまん性肺疾患研究調査班(研究代表者 貫和敏博)が中心となり、IIPs患者の全臨床経過をWEB登録する制度を完成させた¹⁾。また、N-アセチルシステイン(NAC)

吸入療法やピルフェニドンなどの新たな治療法が選択可能となったため、2009年3月からはこれらの薬剤についての詳細な入力項目を追加設定した。2010年度の報告書²⁾では、500例を目標に新規登録症例の蓄積に向け、参加施設への登録推進に向けた協力依頼・情報提示および追跡登録症例のさらなる入力の徹底が重要であると報告している。

本年度の進捗状況

1. 参加施設と症例の登録状況

本研究に参加した医療機関とこれまでの登録状況を表1に示す。全国19施設から、436例の新規症例が登録されている(2012年1月14日現在)。初回登録後の追跡登録症例数の推移を表2に示す。1年後の登録は238例であったが、経年的に追跡登録症例は減少し、4年経過後の登録は77例のみであった。

2. 診断名別内訳

新規登録された436例の総合診断別による内訳を表3に示す。IPFが最も多く321例(73.6%)であった。

3. 患者背景

性別、年齢、発症年齢、家族歴、喫煙歴、合併症

表1 施設別登録症例数一覧(2012年1月14日現在)

施設名	年度						総計
	2005	2006	2007	2008	2009	2010	
01 東北大学病院	2	5	32				39
02 公立陶生病院	1	22	45	17	24		109
03 天理よろづ相談所病院		31	25				56
04 京都大学医学部附属病院				4	3		7
07 独立行政法人国立病院機構近畿中央胸部疾患センター	1	3	2		16		22
08 浜松医科大学		7	2	3	3	4	19
09 広島大学大学院医歯薬学総合研究科		4		5			9
10 札幌医科大学医学部		22	6				28
15 東京医科歯科大学		2		4	15		21
16 東京医科大学病院		6	15	4			25
17 獨協医科大学		1			3		4
20 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部			10	5	3		18
22 名古屋大学医学部附属病院		1	6	3		2	12
23 自治医科大学				6	5		11
24 九州大学大学院医学研究院		4			2		6
27 福島県立医科大学			14	6			20
28 日本医科大学付属病院			1				1
29 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科		19	4				23
32 JR東京総合病院					6		6
総計	4	127	162	57	80	6	436

表2 登録後の入力状況(追跡登録)

	登録時	登録後1年目	登録後2年目	登録後3年目	登録後4年目	登録後5年目
例数	436	238	173	110	77	18

表3 疾患別エントリー数

疾患	IPF		NSIP		その他		(未入力)		計	
	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%
エントリー数	321	73.6%	82	18.8%	15	3.4%	18	4.1%	436	100.0%

※その他内訳: COP 10例, AIP 1例, DIP 4例.

および重症度について表4に示す. IPF 321例は, 79.0%が男性で, 年齢は60歳以上が約80%を占めた. IPFの発症年齢が50歳以下であったものが6.0%, 家族歴を有するものが9.0%含まれていた. 重症度は, I度が最も多かったが, IV度も17.0%含まれていた. 一方, NSIP 82例では, 女性, 非喫煙者が過半数を占め, 年齢分布も60歳未満が39.0%を占めた. 重症度はIPFと同様にI度が最も多いものの, IV度も

12.0%含まれていた.

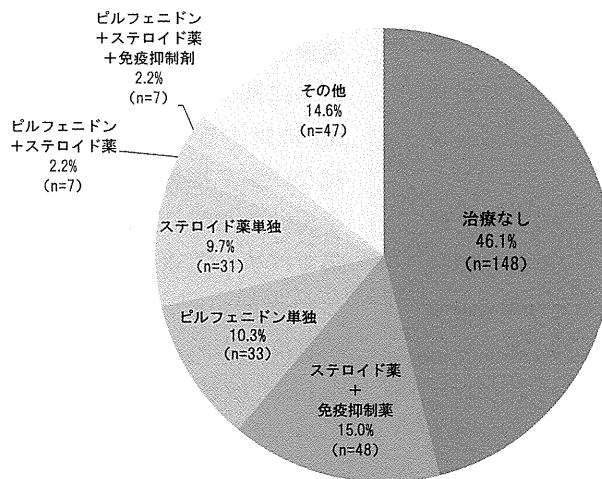
4. IPFに対する治療内容

IPF 321例のWEB登録時の治療内容(ステロイド薬, 免疫抑制薬, NAC吸入, ピルフェニドン, その他)を表5に示す. 46.1%の症例は無治療であり, 最も多い治療内容はステロイド薬と免疫抑制薬との併用療法で15.0%であった. ピルフェニドン療法は52例で, ピルフェニドン単独療法が最も多く33例,

表4 WEB登録症例の患者背景

調査項目	診断名	IPF		NSIP		その他		(未入力)		計
		321例		82例		15例		18例		436例
		例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数
性別	男	253	79.0%	36	44.0%	10	67.0%	14	78.0%	313
	女	68	21.0%	46	56.0%	5	33.0%	4	22.0%	123
年齢	<60	67	21.0%	32	39.0%	7	47.0%	4	22.0%	110
	61 - 65	67	21.0%	20	24.0%	3	20.0%	6	33.0%	96
	66 - 70	68	21.0%	16	20.0%	2	13.0%	2	11.0%	88
	71 - 75	77	24.0%	10	12.0%	1	7.0%	3	17.0%	91
	76 -	41	13.0%	4	5.0%	2	13.0%	2	11.0%	49
	(未入力)	1	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	1	6.0%	2
発症年齢	50歳以上	296	92.0%	66	80.0%	13	87.0%	17	94.0%	392
	50歳以下	20	6.0%	14	17.0%	2	13.0%	1	6.0%	37
	(未入力)	5	2.0%	2	2.0%	0	0.0%	0	0.0%	7
家族歴	あり	28	9.0%	3	4.0%	2	13.0%	3	17.0%	36
	なし	265	83.0%	78	95.0%	13	87.0%	11	61.0%	367
	不明	25	8.0%	1	1.0%	0	0.0%	2	11.0%	28
	(未入力)	3	1.0%	0	0.0%	0	0.0%	2	11.0%	5
喫煙歴	現喫煙者	55	17.0%	7	9.0%	1	7.0%	4	22.0%	67
	非喫煙者	80	25.0%	45	55.0%	6	40.0%	3	17.0%	134
	元喫煙者	178	55.0%	30	37.0%	8	53.0%	4	22.0%	220
	(未入力)	8	2.0%	0	0.0%	0	0.0%	7	39.0%	15
合併症	COPD	13	4.0%	0	0.0%	1	7.0%	0	0.0%	14
	糖尿病	32	10.0%	2	2.0%	2	13.0%	2	11.0%	38
	肺癌	10	3.0%	3	4.0%	0	0.0%	2	11.0%	15
	なし	196	61.0%	65	79.0%	12	80.0%	9	50.0%	282
	その他	51	16.0%	9	11.0%	0	0.0%	2	11.0%	62
	(未入力)	19	6.0%	3	4.0%	0	0.0%	3	17.0%	25
重症度	I度	128	40.0%	31	38.0%	5	33.0%	3	17.0%	167
	II度	35	11.0%	15	18.0%	4	27.0%	3	17.0%	57
	III度	67	21.0%	23	28.0%	3	20.0%	1	6.0%	94
	VI度	56	17.0%	10	12.0%	0	0.0%	0	0.0%	66
	(未入力)	35	11.0%	3	4.0%	3	20.0%	11	61.0%	52

表5 WEB登録におけるIPFに対する治療内容(n=321)



次いでステロイド薬や免疫抑制薬との併用療法が14例であり、NAC吸入療法との併用は4例のみであった。

5. IPFに対するピルフェニドン療法の現状と課題

表6にピルフェニドン療法施行例における治療開始1年後の呼吸能検査値の変化を示す。解析は呼吸機能検査値を入力された症例に限られるため少数例

の結果であるが、ステロイド薬を併用した群の治療開始前の%VCや%DLcoは無治療例やピルフェニドン単独例と比較し低かった。NACとの併用例は4例のみであったが、1年後の%VCは+3.1%であり、無治療例(-4.4%)や単独例(-6.3%)、ステロイド薬との併用例(-8.9%)よりも良好であった。

表6 ピルフェニドン療法施行例の治療開始1年後の呼吸機能変化

評価項目	Pirfenidone	治療内容	例数	開始時点 (mean±sd)	開始1年後時点 (mean±sd)	絶対変化(開始時点- 1年後) (mean±sd)	相対変化 =(開始時点-1年後)/開始時点×100 (mean±sd)
%VC	治療あり	Pirfenidone単独	18	70.7±16.7	67.3±22.2	-3.4±10.1	-6.3±15.3
		+ステロイド	3	55.7±9.1	51.3±13.5	-4.4±5.0	-8.9±9.8
		+NAC	4	78.3±15.5	81.3±20.8	3.0±9.0	3.1±11.1
		+ステロイド+NAC	1	65.8	67.3	1.5	2.3
	無治療	26	76.0±18.6	72.6±22.5	-3.4±15.8	-4.4±20.1	
%DLco	治療あり	Pirfenidone単独	13	45.3±20.5	45.1±15.6	-0.2±15.9	9.3±43.4
		+ステロイド	2	42.0±13.6	31.2±9.6	-10.9±4.0	-25.6±1.3
		+NAC	3	53.6±12.6	51.9±16.6	-1.7±13.7	-2.0±24.9
		+ステロイド+NAC	0	-	-	-	-
	治療なし	18	54.6±18.6	52.2±20.8	-2.5±14.6	-1.0±36.0	
安静時PaO ₂	治療あり	Pirfenidone単独	18	80.1±13.1	71.0±15.0	-9.2±13.8	-11.0±14.9
		+ステロイド	2	68.5±3.8	63.4±18.7	-5.1±14.9	-8.0±22.2
		+NAC	0	-	-	-	-
		+ステロイド+NAC	0	-	-	-	-
	治療なし	24	74.5±12.9	68.5±12.7	-6.0±11.3	-7.1±15.9	
AaDO ₂	治療あり	Pirfenidone単独	17	21.0±12.5	28.0±15.4	7.0±11.9	57.9±108.3
		+ステロイド	2	30.8±7.7	33.8±11.8	3.0±4.1	8.3±11.3
		+NAC	0	-	-	-	-
		+ステロイド+NAC	0	-	-	-	-
	治療なし	21	25.7±14.7	32.4±14.8	6.6±12.8	89.6±250.9	

Pirfenidone非使用症例については、登録時データを開始時点とし登録1年後を開始1年後時点とした

考 察

IIPs 患者に関する前向き疫学調査研究 (WEB 登録) の現状を報告するとともに、IPF に対する治療内容、特にピルフェニドン治療の現状についても報告した。

IPF はわが国の難病対策である難治性疾患克服研究事業における臨床調査研究分野の対象疾患 (130 疾患) の 1 つである特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonias; IIPs) の臨床病理学的疾患単位の 1 つで、最も頻度が高い。IPF の自然経過は個々の症例により様々であるが、一般的には慢性経過で肺の線維化が進行し、不可逆的な蜂巣肺形成をきたす予後不良な疾患である³⁾。現時点において IPF の生存率に対する有効性を証明した薬物療法はなく、2000 年に発表された ATS/ERS の international consensus statement⁴⁾ で暫定的な推奨治療とされた副腎皮質ステロイド薬とシクロホスファミドやアザチオプリンなどの免疫抑制薬との併用療法においても生存期間の改善は困難である⁵⁾。近年行われた大規模臨床試験⁶⁻⁸⁾ の結果から NAC やピルフェニドンが新たな治

療戦略として注目されており、新たな抗線維化薬として BIBF1120 の臨床試験⁹⁾ も進行中である。昨年発表された ATS/ERS/JRS/ALAT の合同によるエビデンスに基づく IPF の診断・管理ガイドライン³⁾ では、IPF に対する薬物療法で推奨できるものは現時点ではないが、推奨しないが推奨しない程度が弱い薬剤を用いた治療の適応について個々の患者と十分に協議すべきと記述され、使用を推奨しないが、推奨しない程度が弱い薬剤の 1 つとして NAC (単独療法、副腎皮質ステロイド薬とアザチオプリンとの併用療法) およびピルフェニドンが記載されている。一方、わが国の『特発性間質性肺炎 診断と治療の手引き』改訂第 2 版¹⁰⁾ では、副腎皮質ステロイド薬と免疫抑制薬との併用療法の有効性を確実に証明した大規模研究はないものの、否定した臨床研究もないため治療オプションの 1 つとして残し、副腎皮質ステロイド薬と免疫抑制薬 (シクロスポリン、シクロホスファミド、アザチオプリン) との併用療法について IPF の治療例として記載している。副腎皮質ステロイド薬とシクロスポリンの併用療法については、副腎皮質ステロイド薬とシクロホスファミドとの前向き多

施設共同治療研究(工藤班)として比較試験¹¹⁾が行われ、両群間で主要評価項目に有意差は認めなかったが、肺活量(VC)の年間減少量が80mlと少なかった。今回のWEB調査結果においても、実地医療におけるIPFの治療法として副腎ステロイド薬と免疫抑制薬の併用療法が多く施設で行われていることから、今後も併用療法の意義についてさらなる検討が必要であると考えられる。

ピルフェニドンは抗線維化薬として位置づけられる薬剤で、その作用機序として、炎症性サイトカインや活性酸素種の抑制とともに、線維化形成にかかわるTGF- β 、b-FGF、PDGFなどの増殖因子の発現抑制やコラーゲン生合成抑制、線維芽細胞の増殖抑制、IFN- γ の低下抑制を介したTh1/Th2バランスの維持など多岐にわたっており、複合的な作用機序を有する。IPFに対する臨床的有用性は、わが国における第III相臨床試験⁷⁾(対象：安静時SpO₂と労作時SpO₂最低値の差 \geq 5%かつ労作時SpO₂最低値 \geq 85%)において、主要評価項目であるVCの変化量において投与開始から52週時点(および最終観察)までの変化量でピルフェニドン投与群がプラセボ群に比べ有意な低下の抑制を認め、重点副次評価項目である無増悪生存期間においても、プラセボ群と比べ累積での無増悪率が有意に高く、増悪率の低下抑制を認めた。以上の結果は、軽症から中等症のIPF患者に対するピルフェニドン治療が治癒・改善にいたらないまでも悪化を阻止するという重要な臨床的有用性を証明したもので、世界に先駆け2008年10月に承認、12月に発売された。現在ピルフェニドンは実地医療で広く使用可能であるが、今後どのようなIPF患者に、どのようなタイミングで投与を行うことが最も効果的であるかを明らかとすることが最重要課題である。2010年に本調査研究調査研究班ではIPFに対しピルフェニドン療法を行い、研究分担者・協力者が有効と判断した10症例の臨床的検討を行った¹²⁾。この10例は治療開始前の平均%FVCは70%以上で、6分間歩行試験でのSpO₂は1例を除き全例90%以下に低下した患者群であり、Azumaらの報告¹³⁾を支持する結果であった。さらに%FVCや%DLcoが治療開始前よりも改善する症例やIPF重症度がIV度であっても有効性を認めた症例も認めたことから、ピルフェニドンが著効するIPFのサブグループが存在する可能性も示唆され、今後

のさらなる症例集積が重要であるものと考えられる。また今回のWEB登録症例の検討では、少数例ではあるが副腎ステロイド薬またはNACとピルフェニドンとの併用療法例の登録もみられ、現時点ではその臨床的意義は不明であるが、今後は多施設共同で症例を集積することが重要であるものと思われた。

<文献>

- 1) 海老名雅仁, 田口善夫, 菅守隆, 井上義一, 貫和敏博. 特発性間質性肺炎患者の臨床情報のWEB登録. 厚生労働科学研究費補助金 びまん性肺疾患調査研究 平成16年度研究報告書. 41-48, 2005.
- 2) 坂東政司, 杉山幸比古: 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. 厚生労働科学研究費補助金 びまん性肺疾患に関する調査研究班 平成21年度研究報告書. 69-73, 2010.
- 3) An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: Idiopathic pulmonary fibrosis: Evidence-based guidelines for diagnosis and management. Am J Respir Crit Care Med 183 :788-824, 2011.
- 4) Idiopathic pulmonary fibrosis: Diagnosis and treatment. International consensus statement. Am J Respir Crit Care Med 161 : 646-664, 2000.
- 5) Collard HR, Ryu JH, Douglas WW, et al: Combined corticosteroid and cyclophosphamide therapy does not alter survival in idiopathic pulmonary fibrosis. Chest 125 : 2169-2174, 2004
- 6) Demedts M, Behr J, Buhl R, et al: High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. N Engl J Med 353 : 2229-2242, 2005
- 7) Taniguchi H, Ebina M, Kondoh Y, et al: Pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis. Eur Respir J 35: 821-829, 2010
- 8) Noble PW, Albera C, Bradford WZ, et al: Pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (CAPACITY): two randomized trials. Lancet 377: 1760-1769, 2011
- 9) Richeldi L, Costabel U, Selman M, et al: Efficacy of a tyrosine kinase inhibitor in idiopathic pulmonary

fibrosis. N Engl J Med 365: 1079-1087, 2011

10) 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編:特発性間質性肺炎診断・治療の手引き改訂第2版, p41. 南江堂, 東京, 2011.

11) Miyazaki A, Azuma N, Inase T, et al: A randomized, double-blind, multi-centered controlled trial of cyclosporine A vs. cyclophosphamide with corticosteroid in patients with idiopathic pulmonary fibrosis in Japan. Am Thoracic Society International

Conference of 2011. In Denver, USA, 2011

12) 坂東政司, 杉山幸比古, 西岡安彦, 他:ピルフェニドン有効症例検討会のまとめ. 厚生労働科学研究費補助金 びまん性肺疾患に関する調査研究班 平成22年度研究報告書. 83-85, 2011.

13) Azuma A, Taguchi Y, Ogura T, et al : Exploratory analysis of a phase III trial of pirfenidone identifies a subpopulation of patients with idiopathic pulmonary fibrosis as benefiting from treatment. Respir Res 12 : 143-153, 2011

【平成23年度】

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)

千葉 弘文 夏井坂元基 白鳥 正典 高橋 弘毅*

【背景】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調査個人票を用いて疫学調査を行った。特発性間質性肺炎(IIPs)の過去の疫学調査は、抽出集団の診断制度が不十分であったこと、および抽出集団に軽症例を含めない制度上の制約があるために、正確な統計学的実態把握が難しかった。北海道は他の都府県と異なり、特定疾患医療受給の認定に際して、軽症例を含めた全例からの申請を受理し、厚生労働省の示す診断基準に基づいた厳正な審査を施行している。また、北海道在住者は日本の各地からの移住者またはその子孫が殆どであり、日本人の平均的抽出集団として妥当性が高いと考えられる。【目的】IIPs患者の疫学調査を実施し、その実態を把握する。【方法】2003年から2007年に特定疾患新規受給者として登録された594例の患者データを元に有病率、発生率を検討した。さらに申請元の各施設に予後調査票を郵送し、予後因子、死亡原因について検討した。【結果】有病率は10万人対11.8人であり、同時期の全国調査の約3倍に当たる高い値であった。予後規定因子の検討では、単変量解析で年齢の高い群、ばち状指のある群、重症度の高い群、安静時PaO₂の低い群、%肺活量の低い群、%DLcoの低い群、血清SP-A、SP-DおよびKL-6が高い群、BAL中好中球比の高い群において有意差を認めた。多変量解析では、%肺活量、重症度で有意差を認め、%肺活量が最も強く予後に関与していた。さらに多変量解析の結果、急性増悪死に関与する因子として%VC、抗核抗体で有意差を認めた。

Epidemiological survey of patients with idiopathic interstitial pneumonias using clinical personal records in Hokkaido

Hirofumi Chiba, Motoki Natsuzaka, Masanori Shiratori and Hiroki Takahashi

Third Department of Internal Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine

【Background】Epidemiological study was conducted by using the clinical survey of individuals on idiopathic interstitial pneumonia newly received in Hokkaido during five years from 2003 to 2007. It was difficult to accurately understand the statistical facts from previous epidemiological studies on idiopathic interstitial pneumonia (IIP) due to insufficient systems for diagnosis of extracted populations as well as to institutional limitations that mild cases were not included in extracted populations. Unlike other prefectures, all applications including mild cases are accepted upon approval of benefits to receive medical care for specified diseases in Hokkaido, and strict judgment is conducted based on the diagnostic criteria stipulated by the Ministry of Health, Labor and Welfare. In addition, most residents in Hokkaido are settlers from various places in Japan and their descendent, which is considered as highly appropriate as the average extracted population of Japanese people. 【Purpose】An epidemiological study on IIP patients was conducted to understand their reality. 【Method】The prevalence rate and cause of death were reviewed based on the data on 594 patients newly registered as beneficiaries of benefits for specified diseases from 2003 to 2007. Furthermore, the survey on prognosis was mailed to each facility applied for the benefits, to review prognostic factors and cause of death. 【Results】The prevalence rate was 11.8 out of 100,000 people, equivalent to approximately three times the national survey for the same period. In the univariate analysis on prognostic factors with the Kaplan Meier method, a significant difference was recognized in age, presence of finger clubbing, severity, %VC, PaO₂ at rest, %Dlco SP-D, KL-6 and neutrophils in BAL. A significant difference was also recognized in %VC and severity in the case of multivariate analysis with the Cox hazard model. Furthermore, as a result of multivariate analysis on acute exacerbation, a significant difference was recognized in %VC and Antinuclear antibody.

はじめに

IIPsの疫学的検討は、患者の実態を把握する上で重要である。しかし、過去の疫学調査は、抽出集団の診断制度が不十分であったこと、および抽出集団に軽症例を含めない制度上の制約があるために、正確な統計学的実態把握が難しかった。北海道はI度II度軽症患者も医療需給対象者としており、審査においても厚生労働省の示す診断基準に基づき厳正に施行されている。よって、その臨床調査個人票から真の実態把握が可能である。今回、我々は2003年から2007年に特定疾患新規受給者として登録された594例の患者データを元に有病率、発生率を検討した。さらに申請元の各施設に予後調査票を郵送し、予後規定因子、死亡原因について、さらに急性増悪死に関連する因子についても検討した。

対象と方法

対象は、北海道において2003年から2007年に新規受理されたIIPs特定疾患医療受給者594名とした。2009年9月と2010年の9月の2回、各医療機関に各症例に対して予後調査票を北海道保健福祉部より郵送し、その回答と新規登録時の臨床調査個人票の記載事項を照合し解析した。個人情報の取り扱いについては、解析者は匿名化された情報のみを用いることとし、研究計画については札幌医科大学倫理委員会での承認を得ている。

解析内容

1. 有病率、発症率

有病率は、2008年8月の特定疾患医療受給継続患者数より算出した。発症率は各年度の北海道の人口と新規登録者数に基づき算出した。

2. 生存割合、死亡原因

予後調査票の結果から初診時からと申請時(診断時)からの生存割合を解析した。さらに、死亡者については死亡原因についても解析した。

3. 予後規定因子

性差、年齢差、喫煙歴、ばち状指、重症度、安静時PaO₂、%肺活量、%DLco、抗核抗体、SP-A、SP-D、KL-6、BAL中リンパ球比、BAL中好中球比の項目において、 Kaplan-Meier生存曲線とLog Rank検定を用いてそれぞれ予後への関与を検討した。さらに、コックスハザードモデルによる多変量解析を行い予後への関与を検討した。

4. 急性増悪死に関連する因子

予後規定因子であげた項目について、急性増悪による死亡とその他の原因による死亡の2群間比較とコックスハザードモデルを用いた多変量解析を行った。

結 果

2008年8月時点の道内特定疾患医療受給申請継続者数(有病者数)は、2008年8月1日時点の国基準(重症度III度IV度)に基づく申請継続者数220人であり、国基準に加えて特例として認定された重症度I度II度の申請継続者数439人であった。I度II度の軽症者は、III度IV度の重症者の約2倍存在していた。I度からIV度までの合計有病者数は659人であり、2008年の北海道の人口5,569,252人から算出される北海道におけるIIPsの有病率は10万人対11.8人であった。全国調査¹⁾における有病率10万人対3.26人に比較して3.6倍という高い値であった。IIPsの発症率は、各年度の北海道の人口と新規登録者数に基づき算出した。1997年から2007年の11年間の平均は10万人対2.39人であった。

新規例の病型内訳は、全国と同様IPF 93.1%、NSIP5.1%とこの2病型で大半を占め、特にIPFの割合が高かった。NSIPの割合5.1%は、全国の9.8%と比較して低い値であった(表1)。

予後調査は、対象者594名全てに対し、申請元の97医療機関に予後調査票を郵送し、患者数の大多数を占めるIPFについて解析を行った。

IPFの生存曲線から示される生存中央値は初診時、申請時を起点にするとそれぞれ約56ヶ月、45ヶ月であった(図1)。2009年9月の時点でIPF患者の死亡数は全IPF患者553例中328例であり、その死亡原因は急性増悪が最も多く41%を占めた。合併した肺癌による死亡も11%存在した(図2)

予後規定因子の検討では、単変量解析において、

札幌医科大学第三内科

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究分担者

表1. 新規登録例の病型内訳

総合臨床診断	全国	北海道
IPF	641 (83.2%)	553 (93.1%)
NSIP	76 (9.8%)	30 (5.1%)
COP	10 (1.3%)	6 (1.0%)
AIP	23 (3.0%)	0 (0%)
DIP	1 (0.1%)	3 (0.5%)
RB-ILD	2 (0.1%)	0 (0%)
LIP	2 (0.2%)	1 (0.2%)
Others	10 (1.3%)	1 (0.1%)
Unknown	6 (0.6%)	0 (0%)
Total	771 (100%)	594 (100%)

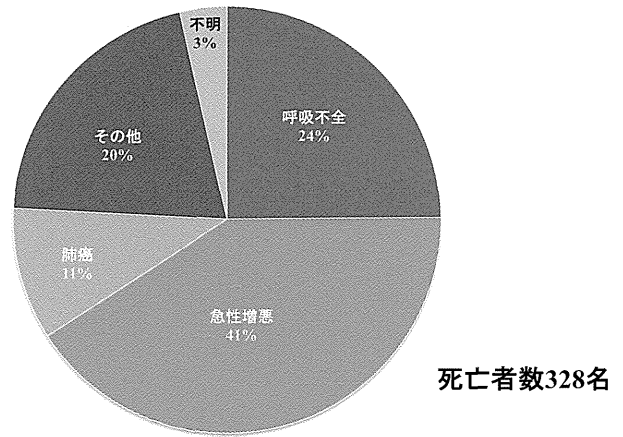


図2. IPFの死亡原因

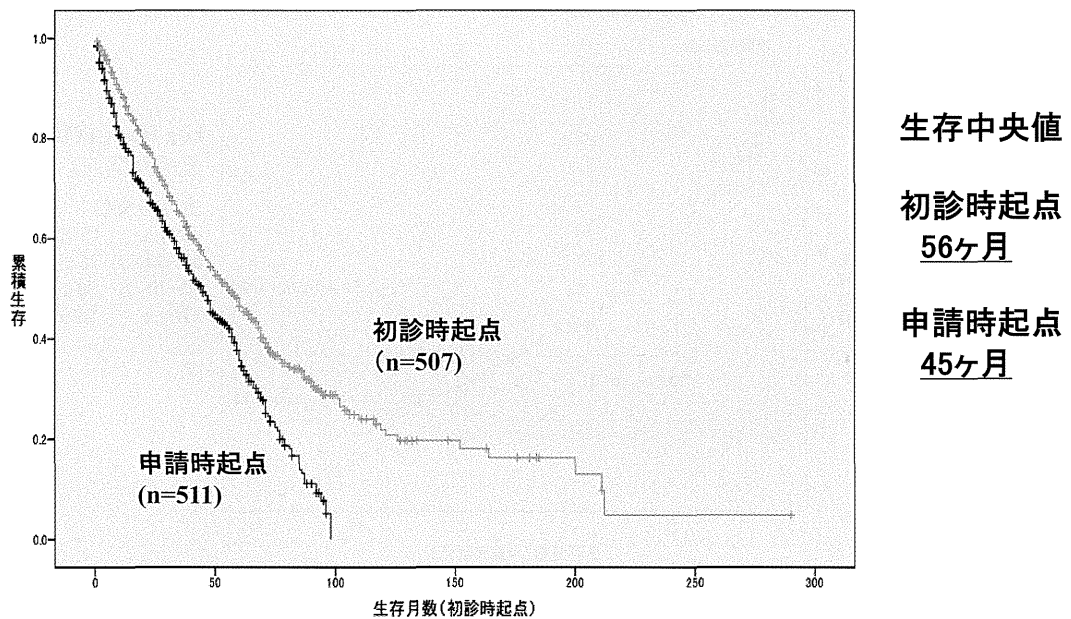


図1. IPF患者の生存曲線

年齢の高い群, ばち状指のある群, 重症度の高い群, 安静時PaO₂の低い群, %肺活量の低い群, %DLcoの低い群, SP-DおよびKL-6が高い群, BAL中好中球比の高い群においてLog Rank検定による有意差を認め, 血清SP-AはLog Rank検定による有意差は認めないものの, 発症早期の検出に優れるWilcoxon検定で有意差を認めた. (図4,6,7,8,9,10,13,14,15,17). 性差, 喫煙歴, 抗核抗体, リウマチ因子, BAL中リンパ球比については有意差を認めなかった(図3,5,11,12,16). 次に多変量解析を行い, 独立変数として, 性別, ばち指, 年齢, 喫煙(BI), 重症度, 肺活量, SP-D, KL-6の8項目を検討した. 血清SP-A,

%DLco等, 個人票に記載もれが多く, 標本数の少ない項目は除外した. また, 安静時PaO₂と重症度は相関が非常に強いため, 重症度のみを解析に加えた. 解析の結果, %VC, 重症度で有意な予後への関与が認められた(表2). さらに死因別に急性増悪死亡群とその他の原因での死亡群の2群に分け, 2群間比較を行った. 結果, 抗核抗体で有意差を認め, 抗核抗体陽性者は急性増悪以外の死因で死亡することが多かった(表3). また多変量解析では, 抗核抗体の他に%VCでも急性増悪死との関連が認められた(表4).