

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
薬剤性肺障害に関する包括的研究
総合分担研究報告

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

堀益 靖 広島大学病院呼吸器内科 医科診療医

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】上皮成長因子受容体阻害剤 (Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitor: EGFR-KTI) による薬剤性肺傷害が欧米人に比べ日本人で高頻度に認められるなど、間質性肺疾患の病態には人種差が存在することが知られている。一方でKrebs von den Lungen-6 (KL-6)、Surfactant protein (SP)-A、SP-Dは本邦で開発され間質性肺疾患の血清バイオマーカーとして臨床応用されているが、欧米での利用は研究目的に限られており、欧米人におけるこれらのバイオマーカーの有用性に関する検討は限られている。また、血清KL-6値がMUC1遺伝子の単塩基多型 (single-nucleotide polymorphisms: SNP) と関連するとの報告があり、遺伝学的背景の異なる人種間ではこれら血清バイオマーカーの値が異なる可能性が示唆されている。

【目的】本研究の目的は、KL-6、SP-A、SP-Dが欧米人においても間質性肺炎の診断に有用であるかを検討し、日本人と欧米人とでこれら血清マーカーの値に違いがあるか否か、さらに両人種間の遺伝学的な違いと血清マーカー値との関連について明らかにすることである。

【方法】広島大学病院およびドイツRuhrländklinik, University Hospital Essenの国際共同研究において、ATS/ERSのガイドラインに従って特発性間質性肺炎 (Idiopathic interstitial pneumonias: IIPs) と診断された249症例、薬剤性肺炎と診断された20例、ならびに健常対象者440例を対象とした。なお、白人もしくは日本人のみを対象とし、それ以外の人種のもの除外した。血清KL-6はelectrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) 法、血清SP-AおよびSP-Dはenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法により測定し、末梢血から抽出したゲノムDNAを用いてMUC1およびSFTPD遺伝子中のSNPのタイピングを行った。

【結果】ドイツ人、日本人ともにIIPs患者の血清KL-6、SP-A、SP-D値は健常者に比べ有意に高値であった。血清KL-6値はドイツ人健常者において有意に日本人より高値 ($p < 0.001$) であり、血清SP-D値

はドイツ人IIPs患者 ($p = 0.005$) および健常者 ($p < 0.001$) のいずれも日本人に比して有意に高値であった。一方で血清SP-A値には人種間での違いは認めなかった。多変量解析の結果、血清KL-6値はMUC1遺伝子多型rs4072037と有意に相関し、血清SP-D値はSFTPD遺伝子多型rs721917、rs1998374およびrs2243639と有意な相関を認めた。いずれの多変量解析においても、人種の違いと血清KL-6またはSP-D値との関連は有意ではなく、人種間でのこれらのバイオマーカーの値の違いは遺伝子多型頻度の違いに起因するものである可能性が示された。

【結論】ドイツ人と日本人の間で血清KL-6およびSP-D値に人種差を認め、その違いはMUC1およびSFTPD遺伝子多型の頻度の違いによるものである可能性が示唆された。

A. 研究目的

間質性肺炎は肺泡領域における間質の炎症を首座とする200種類以上の疾患の総称である。間質性肺炎の原因としては、薬剤やサプリメントなどの健康食品、粉じんの吸入、膠原病やサルコイドーシスなどの全身性疾患に付随して発症するものなど多数あることが知られているが、原因が特定できないものは特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonias : IIPs) と呼ばれている。間質性肺炎、特にIIPs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、早期の診断と適切な治療介入が重要である。現時点ではIIPsの診断は理学所見、胸部X線検査および呼吸機能検査などを基に進めていくこととされているが、より早期の診断が可能で低侵襲かつ低コストな診断ツールとしての血清バイオマーカーの応用は、臨床きわめて有用と考えられる。

間質性肺炎の血清バイオマーカーであるKrebs von den Lungen-6 (KL-6)、Surfactant protein (SP)-A、SP-Dは、わが国において開発された臨床検査である。1999年より世界に先駆けてわが国ではこれらのバイオマーカーを日常診療において使用することが可能になり、現在年間約200万検体以上の測定が行われている。しかしながら、欧米ではこれらの血清バイオマーカー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値がMUC1遺伝子の単塩基多型 (single nucleotide polymorphisms: SNP) と

関連するとの報告があり、遺伝学的背景の異なる人種間ではこれら血清バイオマーカーの値が異なる可能性が示唆されている。

以上の背景より本研究ではKL-6、SP-A、SP-Dが欧米人においても間質性肺炎の診断に有用であるか否かを検討し、日本人と欧米人とでこれら血清マーカーの値に違いがあるか否かを明らかにしたい。さらに、SNP解析を通じて両人種間の遺伝学的な違いと血清マーカー値との関連についても検討したい。

B. 研究方法

2007年 2月から2011年 12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IIPsと診断された249症例 (ドイツ人144例、日本人105例)、薬剤性肺炎と診断された20例 (ドイツ人10例、日本人10例、) を対象とした。同時に健常人 (healthy subject; HS) 440症例 (ドイツ人165例、日本人275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をelectrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) 法により、血清SP-A、SP-Dをsandwich-type enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法によりそれぞれ測定した。DNAの抽出は -80°C で凍結保存した全血を用い、フェノール・クロロホルム抽出、エタノール沈降法によって行った。血清KL-6値とSP-D値において日本人と

ドイツ人の間に人種差を認めたことから、これらに影響を与えると思われるSNPを以下のごとく解析対象とし、Fast Real-Time PCR法によりタイピングを行った。

1) 血清KL-6に影響を与えるSNPについては、過去に文献的報告があり市販のタイピングアッセイが入手可能な *MUC1* 遺伝子上の SNP (rs4072037) を解析対象とした。

2) 血清SP-Dに影響を与えるSNPについては、HapMapプロジェクトデータベースを用いてCEU (Utah residents with ancestry from northern and western Europe) コホートとJPT (Japanese in Tokyo, Japan) コホート間でカイ2乗検定を行い、遺伝子型頻度に差を認めた *SFTPD* 遺伝子上の18 SNPsを同定した。これらのうち、過去に文献的報告があり市販のタイピングアッセイが入手可能なrs721917、rs1998374、rs2243639、rs3088308の4 SNPを解析対象とした。

(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日文科省・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) 血清KL-6の人種差と *MUC1* 遺伝子多型との関連

研究対象者のうち、血清KL-6の測定が可能であったIIPs患者267人（ドイツ人：142例、日本人：105例）、薬剤性肺炎患者20例（日本人10例、ドイツ人10例）、ならびに健常者186人（ドイツ人：76例、日本人110例）の患者背景をTable 1に示す。

まずドイツ人における血清KL-6の間質性肺炎診断マーカーとしての有用性を検討した。Figure 1Aに示すように、ドイツ人においても日本人と同様、間質性肺炎症例の血清KL-6値は健常者と比べて有意に高値であった ($p < 0.001$)。また、人種間でのKL-6値の比較を行った結果、健常者においてはドイツ人の血清KL-6値は日本人より有意に高値を示したが ($p < 0.001$)、間質性肺炎患者ではその差は統計学的に有意ではな

Table 1 - The clinical characteristics of study subjects for KL-6 analysis

Patients with ILDs	German	Japanese	p value
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	German	Japanese	p value
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, 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; DL_{CO}, diffusing capacity of the lung for carbon monoxide; IPF, idiopathic pulmonary fibrosis; NSIP, nonspecific interstitial pneumonia; COP, cryptogenic organizing pneumonia.

かった。

次に間質性肺炎患者と健常者とでROC解析を行ったところ、曲線下面積 (area under the curve; AUC) はドイツ人で0.967 ($p < 0.001$, Figure 1B)、日本人で0.987 ($p < 0.001$, Figure 1C)とともに有意であり、血清KL-6がドイツ人においても間質性肺炎の診断マーカーとして有用であることが示された。また、Table 2に示すように、最良の感度・特異度を示す血清KL-6の診断的カットオフ値は、ドイツ人で659 U/ml、日本人で461 U/mlであった。

*MUC1*遺伝子多型rs4072037の遺伝子型ごとに血清KL-6値を比較したところ、Figure 2Aに示すようにいずれの遺伝子型においても間質性肺炎患者のKL-6値は有意に健常者より高値であり、Figure 2B-Dに示すように間質性肺炎患者と健常者を鑑別する血清KL-6のAUCはA/A : 0.991 ($p < 0.001$)、A/G : 0.990 ($p < 0.001$)、G/G : 1.000 ($p < 0.001$)といずれも人種別ROC曲線のAUCより大きく、診断的カットオフ値はA/A : 397 U/ml、A/G : 461 U/ml、G/G : 503 U/mlであった (Table 2)。

血清KL-6値に与えるrs4072037遺伝子型の影響を線形回帰による多変量解析で検討した結果、Table 3に示すようにrs4072037遺伝子型は、年齢、人種、間質性肺炎の有無といった他因子とは独立して有意に血清KL-6値と相関することが示されたが ($p = 0.009$)、人種の違いと血清KL-6値との相関は有意ではなかった ($p = 0.328$)。

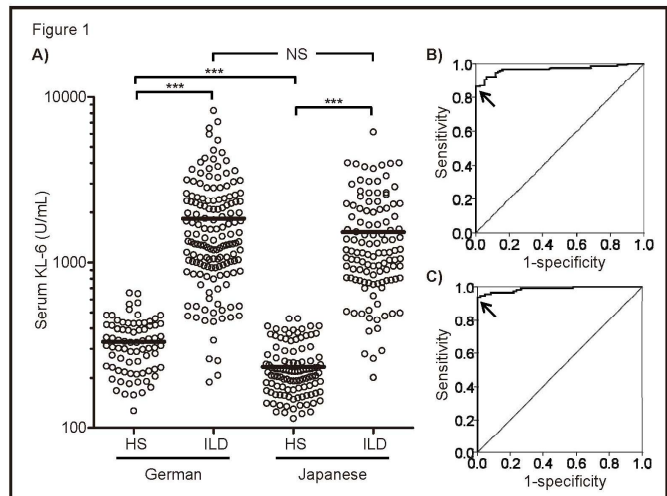


Figure 1 (A) Serum levels of KL-6 according to ethnicity, compared between healthy subjects and patients with interstitial lung diseases (ILDs). Each point represents the serum KL-6 level in the studied subjects (HS, healthy subjects; ILDs, patients with interstitial lung diseases; NS, not significant). The horizontal bars represent the mean values. The significance level was set at $\alpha = 0.0125$ (4 comparisons in 4 groups). *** $p < 0.001$ (Mann-Whitney *U* test). Receiver operating characteristic (ROC) analyses were performed for patients with ILDs and healthy subjects in (B) German and (C) Japanese cohorts. Arrows at the top left corner show the points with best sensitivities and specificities.

2) 血清SP-Dの人種差と*SFTPD*遺伝子多型との関連

研究対象者のうち、血清SP-AならびにSP-Dの測定が可能であったのは、Table 4に示す通りIIPs患者232人 (ドイツ人138例、日本人94例) および健常者440人 (ドイツ人165例、日本人275例) であった。

まずドイツ人における血清SP-AおよびSP-Dの間質性肺炎診断マーカーとしての有用性を検討した。Figure 3Aおよび3Bに示すように、ドイツ人においても日本人と同様、SP-A、SP-Dのいずれも健常者と比較してIIPs患者において有意に高値であった。また、Figure 3Cおよび

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
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.

Accuracy = (true positives + true negatives) / total subjects

3Bに示すように、ドイツ人においても日本人と同様、SP-A、SP-Dのいずれも健常者と比較してIIPs患者において有意に高値であった。また、Figure 3Cおよび3Dに示すように、IIPs患者と健常者とのROC解析では、ドイツ人（SP-A: AUC = 0.940、SP-D: AUC = 0.977）においても、日本人（SP-A: AUC = 0.902、SP-D: AUC = 0.973）と同様にこれらの血清マーカーがIIPsの診断に有用であることが示された。また、ドイツ人の血清SP-D値はIIPs患者 ($p=0.005$) においても健常人 ($p<0.001$) においても日本人より有意に高値であった (Figure 3B) 一方で、血清SP-A値には人種間の差を認めなかった (Figure 3A)。

SFTPD 遺伝子多型 rs721917、rs1998374、rs2243639、rs3088308 の遺伝子型ごとに血清 SP-D 値を比較したところ、Figure 4 に示すように、4 つの SNP のすべての遺伝子型において、IIPs 患者の血清 SP-D 値は健常者よりも有意に高値だった。一方で、Figure 4A に示すように、IIPs 患者、健常者のいずれにおいても、rs721917 の遺伝子型ごとに血清 SP-D 値が異なる傾向を認め、C/C 群で SP-D 値が最も低く、T/T 群で高い傾向を認めた。同様に rs1998374 と rs2243639 についても遺伝子型ごとに SP-D 値が異なる傾向を認めたが、rs3088308 については遺伝子型と SP-D 値の関係は認めなかった。

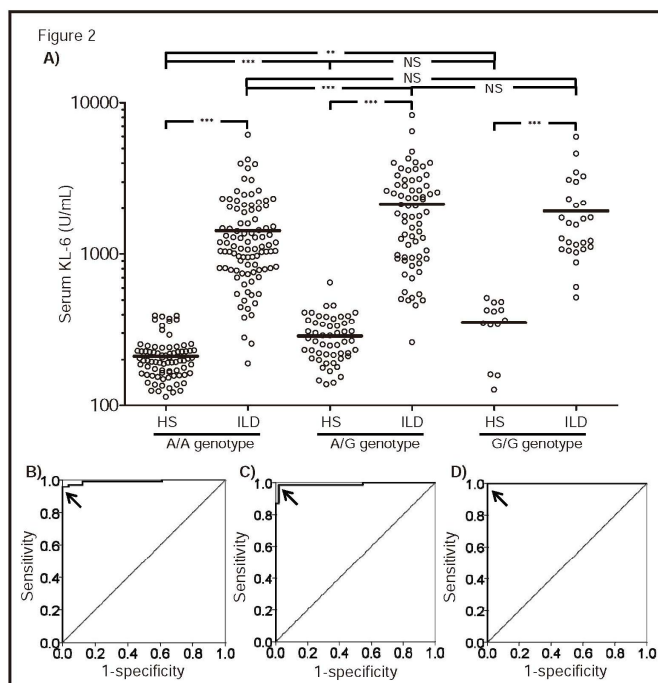


Figure 2 (A) Serum levels of KL-6 according to rs4072037 genotype, compared between healthy subjects and patients with interstitial lung diseases. Each point represents the serum KL-6 level in the studied subjects (HS, healthy subjects; ILDs, patients with interstitial lung diseases; NS, not significant). The horizontal bars represent the mean values. The significance level was set at $\alpha = 0.0056$ (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 show the points with best sensitivities and specificities.

血清 SP-D 値に与える *SFTPD* 遺伝子多型の影響を線形回帰分析で検討した結果、Table 5 に示す通り、rs721917、rs1998374、rs2243639 については単変量解析で有意に血清 SP-D 値との相関を認めたが、rs3088308 については有意な相関は見ら

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.

Table 4 - Characteristics of study subjects for KL-6 analysis

	German	Japanese	<i>p</i> value
Patients with IIPs			
Number of the subjects	138	94	
Age (years)	67.4 ± 0.8	68.0 ± 1.0	0.982
Gender (male / female)	88 (63.8%) / 50 (36.2%)	64 (68.1%) / 30 (31.9%)	0.497
Smoking (Cu / Ex / Non / ND)	14 (10.1%) / 54 (39.1%) / 64 (46.4%) / 6 (4.4%)	11 (11.7%) / 46 (49.0%) / 35 (37.2%) / 2 (2.1%)	0.297
VC (percent predicted)	66.1 ± 1.6	70.3 ± 2.2	0.163
DL _{CO} (percent predicted)	47.7 ± 1.6	44.8 ± 1.8	0.255
Diagnostic category (IPF / NSIP)	94 (68.1%) / 44 (31.9%)	61 (64.9%) / 33 (35.1%)	0.609
Healthy subjects			
Number of the subjects	165	275	
Age (years)	36.5 ± 0.9	49.8 ± 0.4	< 0.001
Gender (male / female)	60 (36.4%) / 105 (63.6%)	227 (82.5%) / 48 (17.5%)	< 0.001
Smoking (Cu / Ex / Non / ND)	41 (24.8%) / 20 (12.1%) / 90 (54.6%) / 14 (8.5%)	82 (29.8%) / 62 (22.6%) / 131 (47.6%) / 0 (0.0%)	0.026

Data are shown as mean ± SEM.

Statistical significance was tested by Mann-Whitney *U*-test or Chi-square test.

Cu, current smoker; Ex, ex-smoker; Non, non-smoker; ND, no data; IIPs, idiopathic interstitial pneumonias; VC, vital capacity; DL_{CO}, diffusing capacity of the lung for carbon monoxide; IPF, idiopathic pulmonary fibrosis; NSIP, nonspecific interstitial pneumonia.

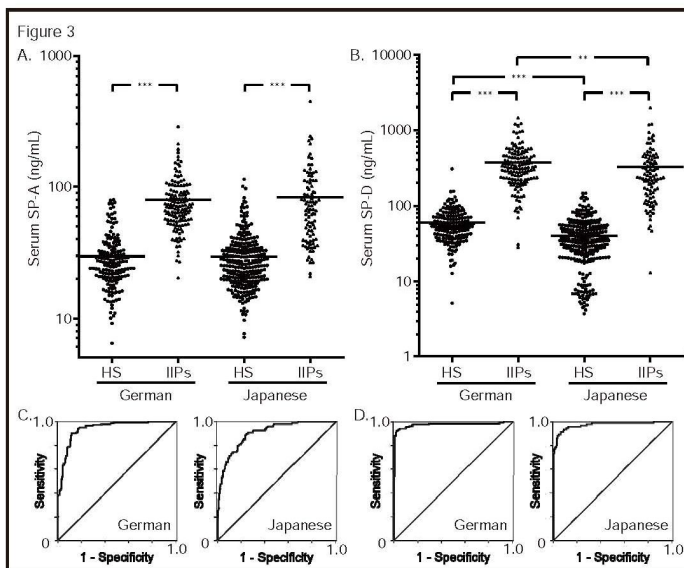


Figure 3
 (A) Serum SP-A and (B) SP-D levels in German and Japanese cohorts. Receiver operating characteristic (ROC) curves of (C) serum SP-A and (D) SP-D in German (left panel) and Japanese (right panel) cohorts. The horizontal bars represent the mean values. The significance level was defined $\alpha = 0.013$ (four comparisons in four groups). *** $p < 0.001$, ** $p < 0.013$ (Mann-Whitney *U*-test).

れなかった。有意な相関を認めた3つのSNPについて、年齢、人種、IIPsの有無を含めた多変量解析を行った結果、いずれのSNPも人種の違いやIIPsの有無とは独立して血清SP-D値と相関することが示された (rs721917; $p < 0.001$, rs1998374; $p = 0.001$, rs2243639; $p = 0.038$)。

一方で、人種の違いと血清SP-D値との相関は有意ではなかった。

D. 考察

本研究により、KL-6、SP-DおよびSP-Aが日本人と同様ドイツ人でも間質性肺炎の診断に有用な血清マーカーであることが明らかとなった。同時に、健常者の血清KL-6値が日本人に比べドイツ人で有意に高値であり、ROC解析から求めた血清KL-6のカットオフ値がドイツ人と日本人とで異なることが示された。さらに、*MUC1*遺伝子多型 rs4072037の遺伝子型が他の因子とは独立して血清KL-6値に影響を及ぼすことが明らかになった。また、血清SP-A値には人種間で差がないが、血清SP-D値はIIPs患者においても健常者においても、日本人よりドイツ人で有意に高値であることが示された。多変量解析によって*SFTPD*遺伝子上の3つのSNP (rs721917, rs1998374, rs2243639) が人種の違いやIIPsの有無とは独立して血清SP-D値に影響していることが明らかになった。

本研究の重要な点は、血清KL-6ならびに

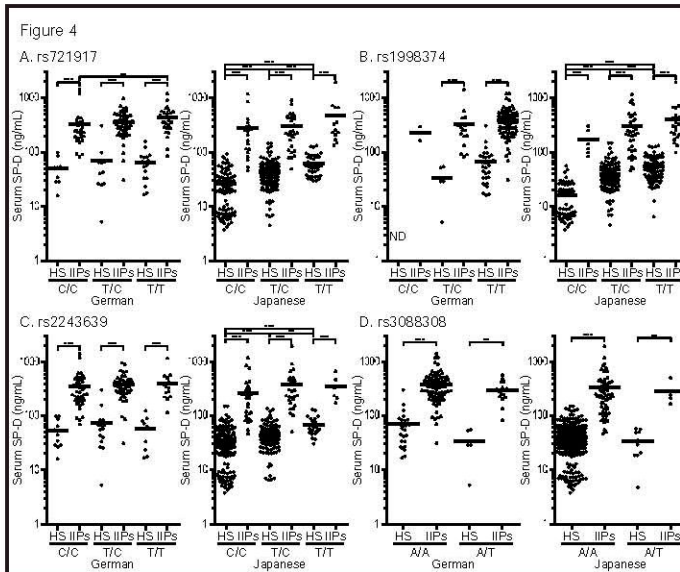


Figure 4
Serum SP-D levels were compared between each genotype: (A) rs721917, (B) rs1998374, (C) rs2243639, and (D) rs3088308. For each genotype, data of the German cohort are shown in the left and those of the Japanese cohort are shown in the right. The horizontal bars represent the mean values. (A), (B), (C) The significance level was defined as $\alpha = 0.006$ (nine comparisons in six groups). *** $p < 0.001$, ** $p < 0.006$ (Mann-Whitney *U*-test). (D) The significance level was defined as $\alpha = 0.0125$ (four comparisons in four groups). *** $p < 0.001$, ** $p < 0.013$ (Mann-Whitney *U*-test).

SP-Dの値が*MUC1*、*SFTPD*の各遺伝子上のSNPによって異なることを2つの人種コホートを用いて明らかにした点である。rs4072037は*MUC1*遺伝子のtandem repeat (TR) 数と連鎖不平衡にあることが知られており、TR数はrs4072037のAアレルで小さく、Gアレルで大きいとされる。TR領域にはKL-6抗体の抗原とされるシアル化糖側鎖が多く存在することから、TR数の大きいMUC1分子は多くのKL-6抗原を有し、血清KL-6値も高値となることが推測される。一方でSP-D分子はN-terminal domain (NTD) 領域のジスルフィド結合によって多量体を形成することが知られており、その度合いによって血清SP-D値が異なる可能性が示唆されている。NTD領域に位置するrs721917の遺伝子型とSP-D分子の重合の程度が関連していることは過去に報告されているが、本研究結果により、collagen domainに位置

Table 5 - Correlations between serum SP-D levels and *SFTPD* gene polymorphisms

	variable	Regression coefficient (95% CI.)	<i>p</i> value	VIF
rs721917	Univariate model			
	C/C vs T/C vs T/T	55.276 (28.473 - 82.079)	< 0.001	
	Multivariate model			
	C/C vs T/C vs T/T	35.149 (15.341 - 54.957)	< 0.001	1.031
	age	-0.444 (-2.009 - 1.121)	0.578	1.978
	Japanese vs German	24.061 (-13.125 - 61.246)	0.204	1.437
	HS vs patients with IIPs	307.740 (260.743 - 354.736)	< 0.001	2.515
rs1998374	Univariate model			
	C/C vs T/C vs T/T	86.550 (59.832 - 113.269)	< 0.001	
	Multivariate model			
	C/C vs T/C vs T/T	36.172 (14.289 - 58.056)	0.001	1.203
	age	-0.353 (-1.918 - 1.213)	0.658	1.972
	Japanese vs German	11.114 (-28.165 - 50.393)	0.578	1.598
	HS vs patients with IIPs	304.645 (257.602 - 351.689)	< 0.001	2.511
rs2243639	Univariate model			
	C/C vs T/C vs T/T	38.179 (8.965 - 67.393)	0.011	
	Multivariate model			
	C/C vs T/C vs T/T	22.707 (1.310 - 44.104)	0.038	1.017
	age	-0.360 (-0.449 - 0.654)	0.654	1.976
	Japanese vs German	29.314 (-8.000 - 66.627)	0.123	1.423
	HS vs patients with IIPs	306.421 (259.045 - 353.798)	< 0.001	2.514
rs3088308	Univariate model			
	A/A vs A/T	37.750 (-37.732 - 113.231)	0.326	

The genotypes of each single nucleotide polymorphism are arranged in the order of lowest to highest serum SP-D levels. CI, confidence interval; HS, healthy subjects; IIPs, idiopathic interstitial pneumonias; VIF, Variance inflation factor.

するrs1998374およびrs2243639と血清SP-D値の関連も明らかになったことから、この領域もSP-D分子の重合に関与することで血清SP-D値に影響を及ぼす可能性が示唆された。

興味深いことに、多変量解析の結果、血清KL-6、SP-Dのいずれについても、各遺伝子上のSNPと血清マーカーの値が統計学的に独立して関連していることが明らかとなった。一方で人種の違いと血清KL-6、SP-D値との間には独立した関連は見られず、ドイツ人と日本人のこれら血清マーカー値の違いは、MUC1およびSFTPD遺伝子の多型に起因するものである可能性が示された。

以上の結果から、血清KL-6、SP-DおよびSP-Aの間質性肺炎診断マーカーとしての有用性が欧米人においても示されたが、KL-6とSP-Dについては日本人と欧米人とで値が異なることから、間質性肺炎の診断のためのカットオフ値も欧米人では日本人と異なる値を設定する必要があると考える。本研究は対象者数に限りがあることから、今後欧米人における血清KL-6およびSP-Dの適切な診断カットオフ値設定のために、より大規模な前向き多施設共同研究の実施が望まれる。

E. 結論

血清KL-6、SP-DおよびSP-Aは日本人と同様ドイツ人でも間質性肺炎の診断に有用な血清マーカーであることが明らかとなった。ドイツ人と日本人の間で血清SP-A値には人種差を認めなかったが、血清KL-6およびSP-D値には人種差を認め、その違いはMUC1およびSFTPD遺伝子上のSNPに起因するものである可能性が示唆された。欧米人におけるこれらの血清バイオマーカーの有用性の検証と適切なカットオフ値の設定のためには、さらに多数症例での前向きな国際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* 106:1756-64, 2012
- 2) Ishikawa N, Hattori N, Yokoyama A, Kohno N. Utility of KL-6/MUC1 in the clinical management of interstitial lung diseases. *Respir Investig* 50:3-13, 2012
- 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* 228:170-80, 2012
- 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* 79:24-33, 2012
- 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* 130:377-87, 2012

- 6) Kubo K, Azuma A, Kanazawa M, Kameda H, Kusumoto M, Genma A, Saijo Y, Sakai F, Sugiyama Y, Tatsumi K, Dohi M, Tokuda H, Hashimoto S, Hattori N, Hanaoka M, Fukuda Y; Japanese Respiratory Society Committee for formulation of Consensus statement for the diagnosis and treatment of drug-induced lung injuries. Consensus statement for the diagnosis and treatment of drug-induced lung injuries. *Respir Investig* 51:260-77, 2013
- 7) Sugiyama A, Hattori N, Haruta Y, Nakamura I, Nakagawa M, Miyamoto S, Onari Y, Iwamoto H, Ishikawa N, Fujitaka K, Murai H, Kohno N. Characteristics of inspiratory and expiratory reactance in interstitial lung disease. *Respir Med* 107:875-82, 2013
- 8) Masuda T, Hattori N, Senoo T, Akita S, Ishikawa N, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Kohno N. SK-216, an inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1, limits tumor progression and angiogenesis. *Mol Cancer Ther* 12:2378-88, 2013
- 9) Hattori N, Horimasu Y. Reply to letter to the Editor: rs4072037 Polymorphisms and their role in gastrointestinal carcinogenesis. *Respir Med* 107:159, 2013
- 10) Horimasu Y, Hattori N, Ishikawa N, Tanaka S, Bonella F, Ohshimo S, Guzman J, Costabel U, Kohno N. Differences in serum SP-D levels between German and Japanese subjects are associated with SFTPD gene polymorphisms. *BMC Med Genet*. in press
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) 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)
- 4) 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)
- 5) 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)
- 6) Ohshimo S, Bonella F, Horimasu Y, Ishikawa N, Hattori N, Hirohashi N, Tanigawa K, Kohno N, Guzman J, Costabel U. KL-6 as a prognostic factor in Caucasian patients with idiopathic pulmonary fibrosis. European Respiratory Society Annual Congress

- (2012.9.1-5, Vienna)
- 7) 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)
 - 8) 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)
 - 9) 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)
 - 10) Ishikawa N, Horimasu Y, Iwamoto H, Ohshimo S, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Hattori N, Kohno N. Gene expression profiles of chronic hypersensitivity pneumonitis: identification of disease specific and diagnostic markers and molecular targets. American Thoracic Society International Conference (2013.5.17-22, Philadelphia)
 - 11) 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 (2013.5.17-22, Philadelphia)
 - 12) Horimasu Y, Hattori N, Ishikawa N, Tanaka S, Bonella F, Ohshimo S, Guzman J, Costabel U, Kohno N. Difference of serum SP-D levels between German and Japanese are associated with `SFTPD gene polymorphisms. American Thoracic Society International Conference (2013.5.17-22, Philadelphia)
 - 13) Ishikawa N, Yoshioka K, Horimasu Y, Iwamoto H, Ohshimo S, Hattori N, Kohno N. KL-6, SP-D and MMP-7 as serum biomarkers for early detection of interstitial lung diseases. European Respiratory Society Annual Congress (2013. 9. 7-11, Barcelona)
 - 14) Horimasu Y, Hattori N, Ishikawa N, Tanaka S, Bonella F, Ohshimo S, Guzman J, Costabel U, Kohno N. MUC5B promoter polymorphism is significantly associated with idiopathic interstitial pneumonia in German but not in Japanese patients. European Respiratory Society Annual Congress (2013.9.7-11, Barcelona)
 - 15) Ohshimo S, Ishikawa N, Horimasu Y, Hattori N, Kohno N, Bonella F, Guzman J, Costabel U. Ethnic Difference And Serum KL-6 As Predictors For Acute Exacerbation Of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. 18th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology (2013.11.11-14, Yokohama)
 - 16) Ishikawa N, Matsuda T, Nakashima T, Iwamoto H, Ohshimo S, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Hattori N, Kohno N. Comparison Of KL-6, Sp-A, Sp-D, 8-Isoprostane, Mmp-9, And Timp-1 As Serum Biomarkers For Patients With Combined Pulmonary Fibrosis And Emphysema 18th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology (2013.11.11-14, Yokohama)
 - 17) Hamai K, Ishikawa N, Nakashima T, Iwamoto H, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Hattori N, Kohno N. Increase Of Receptor Type Tyrosine Kinase Ros1 In Interstitial Lung Disease. 18th Congress of the Asian

Pacific Society of Respiriology (2013.11.11-14, Yokohama)

- 18) Horimasu Y, Ishikawa N, Nakashima T, Iwamoto H, Seno T, Ohshimo S, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Hattori N, Kohno N. Bronchoalveolar Lavage Cellular Pattern Can Predict The Prognosis Of Patients With Chronic Hypersensitivity Pneumonitis. 18th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology (2013.11.11-14, Yokohama)

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。

