

## 肺癌試料と臨床情報の収集、臨床試験の施行

担当責任者 清水英治 鳥取大学医学部統合内科医学講座分子制御内科学分野 教授

研究協力者 木下直樹 鳥取大学医学部統合内科医学講座分子制御内科学分野 助教

研究協力者 唐下泰一 鳥取大学医学部統合内科医学講座分子制御内科学分野 助教

**研究要旨** 肺癌は悪性腫瘍死亡数の第一位である。鋭敏かつ非侵襲的な早期診断マーカーがないことが、根治可能な肺癌の発見を遅らせている大きな要因である。本研究開発では、新規尿中マーカーの肺腺癌早期診断における有効性を前向きかつ多面的に検証し、肺腺癌早期診断の技術開発を推進することを目的とする。本研究は宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野を研究代表者とした多施設共同研究であり、全ての研究計画について本学の倫理審査の承認を得て、平成 27 年 1 月 16 日より患者登録を開始した。本院では 29 名の臨床情報と血清と尿検体収集を、2 名の I 期肺腺癌症例の肺癌組織試料収集と臨床情報と血清と尿検体収集を終了した。

### A. 研究目的

肺癌は悪性腫瘍死亡数の第一位である。鋭敏かつ非侵襲的な早期診断マーカーがないことが、根治可能な肺癌の発見を遅らせている大きな要因である。本研究開発では、新規尿中マーカーの肺腺癌早期診断における有効性を前向きかつ多面的に検証し、肺腺癌早期診断の技術開発を推進することを目的とする。研究開発分担者(清水)は、肺腺癌例、非悪性呼吸器疾患例、他癌腫、重喫煙者の試料収集と臨床情報収集を行った。

### B. 研究方法

本研究は宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野を研究代表者とした多施設共同研究である。

研究計画(1) 新規尿中マーカーの肺腺癌における診断精度の検証 (平成 26-28 年度)

肺腺癌 200 例、非悪性呼吸器疾患 150 例、他癌腫 100 例、重喫煙者 30 例、健常人 100 例の尿検体を収集する。肺腺癌症例と各群間での新規尿中マーカー値と血清腫瘍マーカー値を測定する。2 種の尿中マーカーの ROC 曲線を作成し ROC-AUC を算出する。先行研究で得られたカットオフ値を基に感度、特異度、陽性・陰性尤度比を検証する。

研究計画(2) 肺腺癌罹患ハイリスク群を対象とした新規尿中マーカーの早期診断ツールとしての有効性に関する縦断研究 (平成 26-28 年度)

①50 歳以上の重喫煙者、②特発性肺線維症症例を対象として、各々参加時と 4ヶ月毎に採尿、血清採取を行い、12ヶ月毎に胸部CTを施行する。肺腺癌診断前および診断時での尿中マーカーと血清腫瘍マーカーの陽性率を比較する。目標症例数は各群50例、観察期間は2年とする。

研究計画(3) 小型スリガラス病変に対するサロゲートマーカーとしての新規尿中バイオマーカーの有効性に関する縦断研究 (平成 26-28 年度) 胸部画像上の 20 mm 以下のスリガラス病変症例を対象として、参加時と 3ヶ月毎に採尿、血清採取を、参加時と 3、6、12、24ヶ月後に胸部 CT を施行する。肺腺癌診断前および診断時での尿中マーカーと血清腫瘍マーカーの陽性率を比較する。目標症例数は50 例、観察期間は 2 年とする。

研究計画(4) 患者予後とバイオマーカーとしての有効性の検証 (平成 26-28 年度) 肺腺癌 80 例を対象として診断時に新規尿中マーカーを測定する。観察期間を 2 年とし予後調査を行う。中央値を基準に尿中マーカー高値群と低値群に群別化し、生存曲線と 2 年生存率を比較す

る。肺腺癌手術対象 50 例の新規尿中マーカーを測定し、術後再発率との相関を検証する。研究計画(5) 予後・治療効果予測マーカーの発現との連関の検証 (平成 26-28 年度) 肺腺癌手術対象 50 例の術前術後の新規尿中マーカーを測定する。手術検体を用い、既知の予後予測マーカー (TTF-1 発現, p16/CDH13 プロモーター領域メチル化) と治療効果予測マーカー (EGFR と EML4-ALK の遺伝子変異) との関連を検討する。

#### (倫理面への配慮)

本研究は臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 4 1 5 号) を遵守して実施する。研究開始前に、本学の倫理委員会の審査と承認を得て実施した。

平成 27 年 1 月 5 日研究計画(1), (4) IRB 承認 (受付番号 2622)、平成 27 年 1 月 14 日 研究計画(2) IRB 承認 (受付番号 2623)、平成 27 年 1 月 7 日 研究計画(3) IRB 承認 (受付番号 2625)、平成 27 年 1 月 14 日 研究計画(5) IRB 承認 (受付番号 2624)。

#### C. 研究結果、および D. 考察

本学では倫理委員会の承認を受け、平成 27 年 1 月 16 日より患者登録を開始した。平成 27 年 3 月 10 日現在、29 名の文書で同意を得た研究対象者に本研究を実施した。29 名の臨床情報と血清と尿検体収集を、2 名の I 期肺腺癌症例の肺癌組織試料収集と臨床情報と血清と尿検体収集を終了した。内訳は、研究計画(1) (肺腺癌例 8 例、非悪性呼吸器疾患例 9 例、他癌腫 5 例、重喫煙者 5 例)、研究計画(2) (重喫煙者 6 例、特発性肺線維症症例 3 例)、研究計画(3) (小型スリガラス病変症例 2 例)、研究計画(4) (肺腺癌例 8 例、I 期肺腺癌 2 例)、研究計画(5) (肺腺癌例 2 例) であった(※症例数は当該年度に鳥取大学で収集を終了した症例数。重喫煙者で研究計画(1), (2)に同時参加、肺腺癌症例で研究計画(1), (4), (5)に同時参加あり)。有害事象はなく、安全に臨床試験を実施することができた。

#### E. 結論

新規尿中マーカーの肺腺癌早期診断における有効性を前向きかつ多面的に検証し、肺腺癌早期診断の技術開発を推進するために、臨床研究を計画立案し、倫理委員会の承認のもと実施した。合計で 29 名の研究対象者の協力を得て、尿検体と血清と臨床情報の収集を行った。臨床試験は安全に遂行することができた。

#### F. 健康危険情報

委託業務成果報告 (総括) にまとめて記入。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kurai J, Watanabe M, Tomita K, Yamasaki HS, Shimizu E: Influence of Asian dust particles on immune adjuvant effects and airway inflammation in asthma model mice. PLoS One, 9: e111831 (2014)
2. Sakamoto T, Kodani M, Takata M, Chikumi H, Nakamoto M, Nishii-Ito S, Ueda Y, Izumi H, Makino H, Touge H, Takeda K, Yamasaki A, Yanai M, Tanaka N, Igishi T, Shimizu E: A novel point-of-care system for high-speed real-time polymerase chain reaction testing for epidermal growth factor receptor mutations in bronchial lavage fluids after transbronchial biopsy in patients with non-small cell lung cancer. Int J Oncol, 46: 1473-1480 (2015)
3. Takata M, Chikumi H, Matsunami K, Kodani M, Sakamoto T, Hashimoto K, Nakamoto M, Okada K, Kitaura T, Matsumoto S, Kurai J, Yamasaki A, Igishi T, Burioka N, Shimizu E: A new rapid method for detecting epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer. Oncol Rep, 33: 1040-1048 (2015)
4. Izumi H, Touge H, Igishi T, Makino H, Nishii-Ito S, Takata M, Nakazaki H, Ueda Y, Matsumoto S, Kodani M, Kurai J, Takeda K, Sakamoto T, Yanai M, Tanaka N, Nirodi C, Shimizu E: Favorable effect of the

combination of vinorelbine and dihydropyrimidine dehydrogenase-inhibitory fluoropyrimidine in EGFR-mutated lung adenocarcinoma: retrospective and in vitro studies.

Int J Oncol, 46: 989-998 (2015)

5. Watanabe M, Kurai J, Shimizu E: Definition of Asian dust particles.

Environ Res, 134: 188-189 (2014)

2. 学会発表

1. 清水英治.: 合併症を有する肺癌治療. 第55回日本肺癌学会. 京都. 2014.11.14

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 肺癌試料と臨床情報の収集、臨床試験の施行

担当責任者 西岡安彦 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部呼吸器・膠原病内科学分野教授  
研究協力者 後東久嗣 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部呼吸器・膠原病内科学分野講師

**研究要旨** 原発性肺癌の予後はきわめて不良である。鋭敏な早期肺癌診断マーカーがないことが、根治可能な肺癌の発見を遅らせ、延いては肺癌の治療成績に大きく影響している。本研究の目的は、従来の肺腺癌マーカーである血清 CEA と比較して高精度である 2 種類の新規尿中マーカーの肺腺癌診断における精度を検証し、肺腺癌早期診断の技術開発を推進することである。本年度は班会議において研究プロトコルの確定を行い、全ての研究計画について本学の倫理審査の承認を得て、平成 27 年 1 月 16 日より患者登録を開始した。本学では 12 名の臨床情報と血清と尿検体収集を終了した。

### A. 研究目的

肺癌は悪性腫瘍死の第一位にあり、2013 年にはわが国で年間約 7,2000 人が肺癌で死亡している。原発性肺癌の予後はきわめて不良であり、非手術例 (III 期、IV 期症例) の生存中央値はいまなお 8-16 ヶ月程度である。肺癌、特に末梢に発生し最も患者数が多い組織型である肺腺癌は、初期症状に乏しく、転移巣や癌性胸膜炎による症状を契機に発見されることが少なくない。鋭敏な早期肺癌診断マーカーがないことが、根治可能な肺癌の発見を遅らせ、延いては肺癌の治療成績に大きく影響している。研究代表者 (中里) は研究分担者 (高尾) とともに肺腺癌で特異的に検出される 2 種類の新規尿中マーカーを発見した。これらのマーカーは感度 89%、特異度 93%と感度 86%、特異度 88%であり、従来の肺腺癌マーカーの血清 CEA (感度 47%、特異度 89%) と比較し、高精度であった。本研究の目的は、従来の肺腺癌マーカーである血清 CEA と比較して高精度である 2 種類の新規尿中マーカーの肺腺癌診断における精度を検証し、肺腺癌早期診断の技術開発を推進することである。

### B. 研究方法

本研究は宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野を代表 (研究代表者中里) と

する多施設共同研究である。

研究計画(1) 新規尿中マーカーの肺腺癌における診断精度の検証 (平成 26-28 年度)

肺腺癌 200 例、非悪性呼吸器疾患 150 例、他癌腫 100 例、重喫煙者 30 例、健常人 100 例の尿検体を収集する。肺腺癌症例と各群間での新規尿中マーカー値と血清腫瘍マーカー値を測定する。2 種の尿中マーカーの ROC 曲線を作成し ROC-AUC を算出する。先行研究で得られたカットオフ値を基に感度、特異度、陽性・陰性尤度比を検証する。

研究計画(4) 患者予後とバイオマーカーとしての有効性の検証 (平成 26-28 年度) 肺腺癌 80 例を対象として診断時に新規尿中マーカーを測定する。観察期間を 2 年とし予後調査を行う。中央値を基準に尿中マーカー高値群と低値群に群別化し、生存曲線と 2 年生存率を比較する。肺腺癌手術対象 50 例の新規尿中マーカーを測定し、術後再発率との相関を検証する。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 4 1 5 号) を遵守して実施する。研究開始前に、本学の倫理委員会の審査と承認を得て実施した。

平成 26 年 10 月 27 日研究計画(1), (4) IRB 承認 (受付番号 2109)。

### C. 研究結果、およびD. 考察

本院では倫理委員会の承認を受け、平成 27 年 1 月 16 日より患者登録を開始した。平成 27 年 3 月 10 日現在、12 名の文書で同意を得た研究対象者に本研究を実施、臨床情報と血清と尿検体を収集した。内訳は、研究計画(1) (肺腺癌例 4 例、非悪性呼吸器疾患例 5 例、他癌腫 3 例)、研究計画(4) (肺腺癌例 4 例) であった(※症例数は当該年度に徳島大学で収集を終了した症例数。肺腺癌症例で研究計画(1), (4)に同時参加あり)。有害事象はなく、安全に臨床試験を実施することができた。

### E. 結論

肺腺癌の新規尿中マーカーの診断精度を検証するため、研究計画を立案し、倫理委員会の承認のもと実施した。本院では 12 名の尿検体と血清と臨床情報の収集を行った。臨床試験は安全に遂行できた。

### F. 健康危険情報

委託業務成果報告 (総括) にまとめて記入。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Hanibuchi M, Kim SJ, Fidler IJ, Nishioka Y.: The molecular biology of lung cancer brain metastasis: an overview of current comprehensions and future perspectives. *J Med Invest*, 61: 241-253 (2014)
2. Nishioka Y.: Physician scientists in respiratory medicine. *Respir Investig*, 52: 279 (2014)
3. Tanaka M, Koike R, Sakai R, Saito K, Hirata S, Nagasawa H, Kameda H, Hara M, Kawaguchi Y, Tohma S, Takasaki Y, Dohi M, Nishioka Y., Yasuda S, Miyazaki Y, Kaneko Y, Nanki T, Watanabe K, Yamazaki H, Miyasaka N, Harigai M.: Pulmonary infections following immunosuppressive treatments during hospitalization worsen the short-term vital prognosis for patients with

connective tissue disease-associated interstitial pneumonia.

*Mod Rheumatol*, Dec 15: 1-6 (2014) [Epub ahead of print]

4. Matsuo T, Dat LT, Komatsu M, Yoshimaru T, Daizumoto K, Sone S, Nishioka Y., Katagiri T.: Early Growth Response 4 Is Involved in Cell Proliferation of Small Cell Lung Cancer through Transcriptional Activation of Its Downstream Genes. *PLoS ONE*, 9: e113606 (2014)
5. Ogawa H, Ledford JG, Mukherjee S, Aono Y, Nishioka Y., Lee JJ, Izumi K, Hollingsworth JW.: Surfactant Protein D Attenuates sub-epithelial fibrosis in allergic airways disease through TGF- beta. *Respir Res*, 15: 143 (2014)
6. Sato S, Hanibuchi M, Fukuya A, Yabuki Y, Bando H, Yoshijima T, Goto H, Ogawa H, Nishioka Y.: Idiopathic Pleuroparenchymal Fibroelastosis is Characterized by an Elevated Serum Level of Surfactant Protein-D, but Not Krebs Von Den Lungen-6. *Lung*, 192: 711-717 (2014)
7. Aono Y, Kishi M, Yokota Y, Azuma M, Kinoshita K, Takezaki A, Sato S, Kawano H, Kishi J, Goto H, Uehara H, Izumi K, Nishioka Y.: Role of PDGF/PDGFR axis in the trafficking of circulating fibrocytes in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 51: 793-801 (2014)
8. 西岡安彦.: 抗酸菌症肺炎. 今日の治療指針 330 (2015)
9. 岸潤、河野弘、西岡安彦.: 強皮症. 最新医学・別冊 新しい診断と治療の ABC, 85: 34-41 (2014)
10. 西岡安彦.: COPD 診療の現状と徳島県での取り組み. 阿南医報 175: 20-21 (2014)
11. 西岡安彦.: 肺線維症と増殖因子シグナル. 呼吸と循環 62:873-878 (2014)
12. 西岡安彦.: 新薬治療薬の開発状況と将来

展望.

日本医師会雑誌 143:1011 (2014)

## 2. 学会発表

1. Yasuhiko Nishioka, Shuichi Abe, Seidai Sato, Yoshinori Aono, Hisatsugu Goto, Masami Kishi, Terumi Yoshijima, Hiroyasu Okazaki, Masaki Hanibuchi.: Role of human fibrocytes in regulating pulmonary fibrosis: comprehensive analysis of their gene expression profile and growth factor production.

The 18th International Colloquium on Lung and Airway Fibrosis (ICLAF). Mont-Tremblant, Quebec Canada. 2014.9.23

2. 西岡安彦.: がん免疫療法の過去と未来: エビデンスが示した新たな可能性. 第 62 回日本口腔学会 中国・四国地方部会 (特別講演). 徳島. 2014.10.25
3. Hiroshi Kawano, Junko Morimoto, Yasuhiro Mouri, Hitoshi Nishijima, Yasuhiko Nishioka, Mitsuru Matsumoto.: Unexpected disturbance of the development of medullary thymic epithelial cells at immature stages by the long-term ablation of mature Aire-expressing cells. 第 43 回日本免疫学会学術集会. 京都. 2014.12.10
4. 柿内聡司、大塚憲司、佐藤正大、西條敦郎、坂口暁、後東久嗣、埴淵昌毅、西岡安彦.: 当院における間質性肺炎合併肺癌の治療の現状. 第 55 回日本肺癌学会学術集会. 京都. 2014.11.16
5. 櫻田功、柿内聡司、田島壮一郎、寺岡和彦、中村敏己、川添和義、西岡安彦、楊河宏章、水口和夫.: 肺癌薬物療法における薬剤性間質性肺炎の発症とそのリスク因子の解析. 第 55 回日本肺癌学会学術集会. 京都. 2014.11.15
6. 加藤幸成、金子美華、小笠原諭、西岡安彦.: がん特異的抗ポドプラニン抗体の樹立. 第 73 回日本癌学会学術総会. 横浜. 2014.9.27
7. 後東久嗣、三橋惇志、西條敦郎、柿内聡司、

埴淵昌毅、上原久典、矢野聖二、西岡安彦.: ベバシズマブに対する獲得耐性メカニズムとしての線維細胞 (fibrocytes) の役割. 第 73 回日本癌学会学術総会. 横浜. 2014.9.27

8. 坂口暁、後東久嗣、大串文隆、葉久貴司、兼松貴則、浦田知之、柿内聡司、埴淵昌毅、曾根三郎、西岡安彦.: 高齢者進行 NSCLC 患者を対象として PRO 評価を取り入れた TS-1 療法の臨床第 II 相試験. 第 52 回日本癌治療学会学術集会. 横浜. 2014.8.28
9. 大塚憲司、後東久嗣、葉久貴司、兼松貴則、浦田知之、柿内聡司、埴淵昌毅、大串文隆、曾根三郎、西岡安彦.: 高齢者進行非小細胞肺癌患者を対象として PRO 評価を取り入れた TS-1 療法の臨床第 II 相試験. 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会. 福岡. 2017.7.18

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 肺癌試料と臨床情報の収集、臨床試験の施行

担当責任者 青景 圭樹 国立がん研究センター東病院 呼吸器外科 医員

**研究要旨** 肺癌の早期発見技術の構築は、新規治療法の開発とともに喫緊の医療課題である。本研究は、本研究チームが発見した2つの新規尿中マーカーについて、肺腺癌早期診断における有効性を前向きに検証し、肺癌早期診断法の開発を推進することを目的とする。研究は多施設共同研究である。本院では倫理委員会の承認を受け、平成27年2月27日より患者登録を開始した。6名の臨床情報と血清と尿検体収集を終了した。臨床試験は安全に遂行することができた。

### A. 研究目的

海外、国内ともに肺癌はがん死の中で最多である。日本で肺がんは全がん死の19.7%を占め、男女ともに全がん死の中で最も多い死因である。肺癌の早期発見技術の構築は、新規治療法の開発とともに喫緊の医療課題である。本研究は、本研究チームが発見した2つの新規尿中マーカーについて、肺腺癌早期診断における有効性を前向きに検証し、肺癌早期診断法の開発を推進することを目的とする。

### B. 研究方法

本研究は宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野を研究代表者とした多施設共同研究である。

研究計画(1) 新規尿中マーカーの肺腺癌における診断精度の検証（平成26-28年度）  
肺腺癌200例、非悪性呼吸器疾患150例、他癌腫100例、重喫煙者30例、健常人100例の尿検体を収集する。肺腺癌症例と各群間での新規尿中マーカー値と血清腫瘍マーカー値を測定する。2種の尿中マーカーのROC曲線を作成しROC-AUCを算出する。先行研究で得られたカットオフ値を基に感度、特異度、陽性・陰性尤度比を検証する。

研究計画(3) 小型スリガラス病変に対するサロゲートマーカーとしての新規尿中バイオマーカーの有効性に関する縦断研究（平成26-28年度）胸部画像上の20mm以下のスリガラス病

変症例を対象として、参加時と3ヶ月毎に採尿、血清採取を、参加時と3、6、12、24ヶ月後に胸部CTを施行する。肺腺癌診断前および診断時での尿中マーカーと血清腫瘍マーカーの陽性率を比較する。目標症例数は50例、観察期間は2年とする。

研究計画(4) 患者予後とバイオマーカーとしての有効性の検証（平成26-28年度）肺腺癌80例を対象として診断時に新規尿中マーカーを測定する。観察期間を2年とし予後調査を行う。中央値を基準に尿中マーカー高値群と低値群に群別化し、生存曲線と2年生存率を比較する。肺腺癌手術対象50例の新規尿中マーカーを測定し、術後再発率との相関を検証する。

研究計画(5) 予後・治療効果予測マーカーの発現との関連の検証（平成26-28年度）  
肺腺癌手術対象50例の術前術後の新規尿中マーカーを測定する。手術検体を用い、既知の予後予測マーカー（TTF-1発現、p16/CDH13プロモーター領域メチル化）と治療効果予測マーカー（EGFRとEML4-ALKの遺伝子変異）との関連を検討する。

（倫理面への配慮）

本研究は臨床研究に関する倫理指針（平成20年厚生労働省告示第415号）を遵守して実施する。研究開始前に、当院の倫理委員会の審査と承認を得て実施した。

平成27年1月30日研究計画(1)、(4) IRB承認

(受付番号 2014-227)。研究計画(3)および研究計画(5)は IRB 申請中である。

### C. 研究結果、およびD. 考察

本院では倫理委員会の承認を受け、平成 27 年 2 月 27 日より患者登録を開始した。平成 27 年 3 月 10 日現在、合計で 6 名の文書で同意を得た研究対象者に本研究を実施し、臨床情報と血清と尿検体収集を終了した。内訳は、研究計画(1)(肺腺癌例 3 例、他癌腫 3 例)、研究計画(4)(肺腺癌例 3 例、I 期肺腺癌 1 例)であった(※症例数は当該年度に国立がん研究センター東病院で収集を終了した症例数。肺腺癌症例で研究計画(1),(4)に同時参加あり)。全ての臨床研究において有害事象は 1 例もなかった。

### E. 結論

新規尿中マーカーの肺腺癌における診断精度と患者予後バイオマーカーとしての有効性の検証するために、研究計画を立案し、倫理委員会の承認のもと実施した。当院では合計 6 名の研究対象者の協力を得て、尿検体と血清と臨床情報の収集を行った。臨床試験は安全に遂行することができた。

### F. 健康危険情報

委託業務成果報告 (総括) にまとめて記入。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Yamada E, Ishii G, Aramaki N, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Kojima M, Nagai K, Ochiai A.: Tumor-size-based morphological features of metastatic lymph node tumors from primary lung adenocarcinoma. *Pathology International*, 64: 591-600 (2014)
2. Suzuki S, Ishii G, Matsuwaki R, Neri S, Hishimoto H, Yamauchi G, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Kohno M, Nagai K, Ochiai A.: Ezrin-expressing lung adenocarcinoma cells and podoplanin positive fibroblasts from a malignant microenvironment.

*J Cancer Res Clin Oncol*, 141: 475-484 (2014)

3. Hattori A, Suzuki K, Aokage K, Mimae T, Nagai K, Tsuboi M, Ochiai A.: Prognosis of lung cancer patients with a past history of colorectal cancer. *Jpn J Clin Oncol*, 44 : 1088-1095 (2014)
  4. Tsubokawa N, Mimae T, Aokage K, Hattori A, Suzuki K, Nagai K, Tsuboi M, Okada M, Surgical outcome of non-small cell lung carcinoma in patients previously treated for gastric cancer. *Eur J Cardiothorac Surg*, 30: 1-5 (2014)
  5. Matsuwaki R, Ishii G, Zenke Y, Neri S, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Fujii S, Kondo H, Goya T, Nagai K, Ochiai A.: Immunophenotypic features of metastatic lymph node tumors to predict recurrence in N2 lung squamous cell carcinoma. *Cancer Science*, 105: 905-911 (2014)
  6. Neri S, Yoshida J, Ishii G, Matsumura Y, Aokage K, Hishida T, Nagai K.: Prognostic impact of microscopic vessel invasion and pleural invasion in non-small cell lung cancer. *Ann Surg*, 260: 383-388 (2014)
- #### 2. 学会発表
1. Hishida T, Yoshida J, Aokage K, Nagai K.: Post-operative origo-recurrence of non-small cell lung cancer: clinical features and survival. 2014 Jun 15-18. 22nd European Conference on General Thoracic Surgery. Copenhagen-Denmark
  2. Aokage K, Okada N, Suzuki K, Suzuki S, Tsubokawa N, Mimae T, Hattori A, Hishida T, Yoshida J, Tsuboi M.: Influence of gastrointestinal tract cancer History on the outcomes of lung cancer surgery: extended inclusion criteria for clinical trials. 2014 Sep 26-30. European society for medical oncology 2014. Madrid, Spain
  3. 青景圭樹.: 高齢者肺癌の外科治療についての問題点と展望. 第 55 回日本臨床外科



学会総会. 2014.11.20-21

4. 青景圭樹、岡田守人、鈴木健司、野村尚吾、鈴木繁紀、坪川典史、見前隆洋、服部有俊、永井完治、菱田智之、吉田純司、坪井正博.: 胃腸管癌の既往を有する肺癌手術例の予後-肺癌外科臨床試験における適応拡大にむけて-. 第55回日本肺癌学会学術集会. 2014.11.14-16.
5. 後藤真輝、菱田智之、内藤雅仁、荒牧直、青景圭樹、吉田純司、石井源一郎、坪井正博.: 食道癌治療後の肺結節に対する外科的切除の意義. 第55回日本肺癌学会学術集会. 2014.11.14-16.
6. 秦一倫、青景圭樹、大松広伸、山本修司、石井源一郎、永井完治、菱田智之、吉田純司、坪井正博.: 胸部薄切りCTにおける肺結節の新たな三次元定量解析法. 第55回日本肺癌学会学術集会. 2014.11.14-16.
7. 三好智裕、吉田純司、荒牧直、松村勇輝、青景圭樹、菱田智之、坪井正博、小林剛、蝶良伸一、勝原慎介、笠井聡、笹野泰彦、永井完治.: 胸部X線画像における新しい骨抑制画像技術の肺結節影検出に対する有用性. 第55回日本肺癌学会学術集会. 2014.11.14-16.
8. 関原圭吾、青景圭樹、清水恵、荒牧直、内藤雅仁、永井完治、菱田智之、吉田純司、坪井正博.: 高齢者肺癌に対する縮小手術

の適応拡大の可能性. 第55回日本肺癌学会学術集会. 2014.11.14-16.

9. 清水恵、吉田純司、石井源一郎、三好智裕、山田英司、内藤雅仁、荒牧直、永井完治、青景圭樹、菱田智之、坪井正博.: 右上葉原発性肺癌に対する気管分岐下リンパ節郭清. 第55回日本肺癌学会学術集会. 2014.11.14-16.
  10. 荒牧直、坪井正博、石井源一郎、山田英司、清水恵、三好智裕、内藤雅仁、青景圭樹、菱田智之、吉田純司、永井完治.: 性別による病理病気I期肺扁平上皮癌の予後の検討. 第55回日本肺癌学会学術集会. 2014.11.14-16.
  11. 内藤雅仁、吉田純司、荒牧直、清水恵、青景圭樹、菱田智之、坪井正博.: 完全切除を施行した非小細胞における肺全摘と気管支形術の比較. 日本肺癌学会学術集会. 2014.11.14-16.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

## 肺癌試料と臨床情報の収集、臨床試験の施行

担当責任者 柳 重久 国立病院機構宮崎東病院 呼吸器内科医師

**研究要旨** 肺癌はわが国の癌死亡の第一位であり、年間7万人を越える肺癌死亡数がある。本研究の目的は、2つの新規尿中マーカーについて、肺腺癌の早期診断における有効性を前向きかつ多面的に検証することで、肺腺癌早期診断の技術開発を進捗させることである。研究は多施設共同研究であり、本年度は縦断研究を含む5つの研究計画をデザインし、全ての研究計画について本院の倫理審査の承認を得て、平成26年12月17日より患者登録を開始した。本院では44名の臨床情報と血清と尿検体収集を、4名のI期肺腺癌症例の肺癌組織試料と臨床情報と血清と尿検体収集を終了した。

### A. 研究目的

わが国では年間7万人を越える肺癌死亡数がある。鋭敏かつ非侵襲的な早期肺癌診断マーカーがないことが、根治可能な肺癌の発見を遅らせている。研究代表者（中里）は研究分担者（高尾）とともに肺腺癌と健常者検体を比較し、肺腺癌で特異的に検出される2種類の新規尿中マーカーを発見した。これらのマーカーは感度89%、特異度93%と感度86%、特異度88%であり、従来の肺腺癌マーカーの血清CEA（感度47%、特異度89%）と比較し、高精度であった。本研究の目的は、2つの新規尿中マーカーについて、肺腺癌の早期診断における有効性を前向きかつ多面的に検証することで、肺腺癌早期診断の技術開発を進捗させることである。

### B. 研究方法

本研究は宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野を研究代表者とした多施設共同研究である。

研究計画(1) 新規尿中マーカーの肺腺癌における診断精度の検証（平成26-28年度）

肺腺癌200例、非悪性呼吸器疾患150例、他癌腫100例、重喫煙者30例、健常人100例の尿検体を収集する。肺腺癌症例と各群間での新規尿中マーカー値と血清腫瘍マーカー値を測定する。2種の尿中マーカーのROC曲線を作成しROC-AUCを算出する。先行研究で得られたカ

ットオフ値を基に感度、特異度、陽性・陰性尤度比を検証する。

研究計画(2) 肺腺癌罹患ハイリスク群を対象とした新規尿中マーカーの早期診断ツールとしての有効性に関する縦断研究（平成26-28年度）

①50歳以上の重喫煙者、②特発性肺線維症症例を対象として、各々参加時と4ヶ月毎に採尿、血清採取を行い、12ヶ月毎に胸部CTを施行する。肺腺癌診断前および診断時での尿中マーカーと血清腫瘍マーカーの陽性率を比較する。目標症例数は各群50例、観察期間は2年とする。

研究計画(3) 小型スリガラス病変に対するサロゲートマーカーとしての新規尿中バイオマーカーの有効性に関する縦断研究（平成26-28年度）胸部画像上の20mm以下のスリガラス病変症例を対象として、参加時と3ヶ月毎に採尿、血清採取を、参加時と3、6、12、24ヶ月後に胸部CTを施行する。肺腺癌診断前および診断時での尿中マーカーと血清腫瘍マーカーの陽性率を比較する。目標症例数は50例、観察期間は2年とする。

研究計画(4) 患者予後とバイオマーカーとしての有効性の検証（平成26-28年度）肺腺癌80例を対象として診断時に新規尿中マーカーを測定する。観察期間を2年とし予後調査を行う。中央値を基準に尿中マーカー高値群と低値群に群別化し、生存曲線と2年生存率を比較する。肺腺癌手術対象50例の新規尿中マーカー

を測定し、術後再発率との相関を検証する。  
研究計画(5) 予後・治療効果予測マーカーの発現との連関の検証 (平成 26-28 年度)  
肺腺癌手術対象 50 例の術前術後の新規尿中マーカーを測定する。手術検体を用い、既知の予後予測マーカー (TTF-1 発現, p16/CDH13 プロモーター領域メチル化) と治療効果予測マーカー (EGFR と EML4-ALK の遺伝子変異) との関連を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 4 1 5 号) を遵守して実施する。研究開始前に、当院の倫理委員会の審査と承認を得て実施した。

平成 26 年 11 月 12 日研究計画(1), (4) IRB 承認 (受付番号 26-14)、平成 27 年 1 月 6 日 研究計画(2) IRB 承認 (受付番号 26-15)、平成 27 年 1 月 6 日 研究計画(3) IRB 承認 (受付番号 26-17)、平成 27 年 1 月 6 日 研究計画(5) IRB 承認 (受付番号 26-16)。

#### C. 研究結果、および D. 考察

本院では倫理委員会の承認を受け、平成 26 年 12 月 17 日より患者登録を開始した。平成 27 年 3 月 10 日現在、合計で 44 名の文書で同意を得た研究対象者に本研究を実施した。44 名の臨床情報と血清と尿検体収集を、4 名の I 期肺腺癌症例の肺癌組織試料収集と臨床情報と血清と尿検体収集を終了した。内訳は、研究計画(1) (肺腺癌例 6 例、非悪性呼吸器疾患例 20 例、他癌腫 3 例、重喫煙者 3 例、健常者 5 例)、研究計画(2) (重喫煙者 2 例、特発性肺線維症症例 4 例)、研究計画(3) (小型スリガラス病変症例 3 例)、研究計画(4) (肺腺癌例 6 例、I 期肺腺癌 4 例)、研究計画(5) (肺腺癌例 4 例) であった (※症例数は当該年度に国立病院機構宮崎東病院で収集を終了した症例数。重喫煙者で研究計画(1), (2)に同時参加、肺腺癌症例で研究計画(1), (4), (5)に同時参加あり)。5 つの全ての臨床研究において有害事象は 1 例も認めておらず、安全に臨床試験を実施することができた。

#### E. 結論

新規尿中マーカーの肺腺癌における診断精度を検証するために、縦断研究を含めた 5 つの研究計画を立案し、倫理委員会の承認のもと実施した。本院では合計 44 名の研究対象者の協力を得て、尿検体と血清と臨床情報の収集を行った。臨床試験は安全に遂行することができた。

#### F. 健康危険情報

委託業務成果報告 (総括) にまとめて記入。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Tsubouchi H, Yanagi S, Miura A, Matsumoto N, Kangawa K, Nakazato M.: Ghrelin relieves cancer cachexia associated with the development of lung adenocarcinoma in mice. *Eur J Pharmacol*, 743: 1-10 (2014)
2. Tsubouchi H, Yanagi S, Miura A, Mogami S, Yamada C, Iizuka S, Hattori T, Nakazato M.: Rikkunshito ameliorates cachexia associated with bleomycin- induced lung fibrosis in mice by stimulating ghrelin secretion. *Nutr Res*, 34: 876-85 (2014)
3. Matsumoto N, Miki K, Tsubouchi H, Sakamoto A, Arimura Y, Yanagi S, Iiboshi H, Yoshida M, Souma R, Ishimoto H, Yamamoto Y, Yatera K, Yoshikawa M, Sagara H, Iwanaga T, Mukae H, Maekura R, Kimura H, Nakazato M, Kangawa K.: Ghrelin Administration for Chronic Respiratory Failure: A Randomized Dose- Comparison Trial. *Lung*, in press (2015)
4. 柳 重久, 坪内拓伸, 中里雅光: 呼吸器疾患における PTEN の役割. *Annual Review 呼吸器* 2015, 107-118 (2015)

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

学会等発表実績（様式第19）

様式第19

学会等発表実績

委託業務題目「がん細胞が生成する尿中蛋白質断片の検出を応用した  
肺腺癌早期診断システム樹立に関する研究」

機関名 国立大学法人 宮崎大学

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
プレオマイシン誘発肺線維症モデルにおけるグレリンを介した六君子湯の摂食調節作用（口頭）	飯塚正一、柳 重久、坪内拙伸、十枝内厚次、最上祥子、山田ちひろ、服部智久、中里雅光	第35回日本肥満学会	2014年10月	国内
合併症を有する肺癌治療（口頭）	清水英治	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
肺腺癌に対する後期化学療法に関する検討（口頭）	上田康仁、泉大樹、阪本智宏、西井静香、唐下泰一、矢内正晶、牧野晴彦、小谷昌広、井岸正、清水英治	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
EGFR-TKIと cytotoxic drug の投与順と治療効果に関する検討（ポスター）	阪本智宏、泉大樹、西井静香、上田康仁、倉井淳、牧野晴彦、唐下泰一、小谷昌広、井岸正、清水英治	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
肺癌の肺門・縦隔リンパ節診断におけるEBUS-TBNAの有有用性PET/CTとの比較検証～（ポスター）	牧野晴彦、阪本智宏、泉大樹、伊藤静香、上田康仁、倉井淳、唐下泰一、小谷昌広、中本成紀、井岸正、清水英治	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
高齢者EGFR遺伝子変異陽性患者に一次治療に殺細胞性抗癌剤を選択した予後の検討（ポスター）	唐下泰一、井岸正、泉大樹、阪本智宏、伊藤静香、上田康仁、武田賢一、倉井淳、牧野晴彦、森田正人、小谷昌広、中本成紀、松本慎吾、山崎章、千酌浩樹、清水英治	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
進行非小細胞肺癌患者でのゾレドロン酸投与による $\gamma\delta$ T細胞の検討（ポスター）	泉大樹、武田賢一、阪本智宏、西井静香、上田康仁、唐下泰一、小谷昌広、井岸正、清水英治	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
高齢者進行非小細胞肺癌患者を対象としてPRO評価を取り入れたTS-1療法の臨床第II相試験（ポスター）	大塚憲司、後東久嗣、葉久貴司、兼松貴則、浦田知之、柿内聡司、埴淵昌毅、大串文隆、曾根三郎、西岡安彦	第12回日本臨床腫瘍学会学術集会	2014年7月	国内
高齢者進行NSCLC患者を対象としてPRO評価を取り入れたTS-1療法の臨床第II相試験（ポスター）	坂口暁、後東久嗣、大串文隆、葉久貴司、兼松貴則、浦田知之、柿内聡司、埴淵昌毅、曾根三郎、西岡安彦	第52回日本癌治療学会学術集会	2014年8月	国内
Role of human fibrocytes in regulating pulmonary fibrosis: comprehensive analysis of their gene expression profile and growth factor production.（口頭）	Yasuhiko Nishioka, Shuichi Abe, Seidai Sato, Yoshinori Aono, Hisatsugu Goto, Masami Kishi, Terumi Yoshijima, Hiroyasu Okazaki, Masaki Hanibuchi	The 18th International Colloquium on Lung and Airway Fibrosis (ICLAF), Mont-Tremblant, Quebec Canada	2014年9月	国外
がん特異的抗ポドプラニン抗体の樹立（ポスター）	加藤幸成、金子美華、小笠原諭、西岡安彦	第73回日本癌学会学術総会	2014年9月	国内
ペパシズマブに対する獲得耐性メカニズムとしての線維細胞（fibrocytes）の役割（口頭）	後東久嗣、三橋惇志、西條敦郎、柿内聡司、埴淵昌毅、上原久典、矢野聖二、西岡安彦	第73回日本癌学会学術総会	2014年9月	国内

がん免疫療法の過去と未来：エビデンスが示した新たな可能性（口頭）	西岡安彦	第62回日本口腔学会 中国・四国地方部会 (特別講演)	2014年10月	国内
当院における間質性肺炎合併肺癌の治療の現状（ポスター）	柿内聡司、大塚憲司、佐藤正大、西條敦郎、坂口暁、後東久嗣、埴淵昌毅、西岡安彦	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
肺癌薬物療法における薬剤性間質性肺炎の発症とそのリスク因子の解析（ポスター）	櫻田功、柿内聡司、田島壮一郎、寺岡和彦、中村敏己、川添和義、西岡安彦、楊河宏章、水口和夫	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
Unexpected disturbance of the development of medullary thymic epithelial cells at immature stages by the long-term ablation of mature Aire-expressing cells.（口頭・ポスター）	Kawano Hiroshi, Morimoto Junko, Mouri Yasuhiro, Nishijima Hitoshi, Nishioka Yasuhiko, Matsumoto Mitsuru	第43回日本免疫学会学術集会	2014年12月	国内
胃腸管癌の既往を有する肺癌手術例の予後-肺癌外科臨床試験における適応拡大にむけて-(口演)	青景圭樹、岡田守人、鈴木健司、野村尚吾、鈴木繁紀、坪川典史、見前隆洋、服部有俊、永井完治、菱田智之、吉田純司、坪井正博	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
食道癌治療後の肺結節に対する外科的切除の意義(口演)	後藤真輝、菱田智之、内藤雅仁、荒牧直、青景圭樹、吉田純司、石井源一郎、坪井正博	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
胸部薄切りCTにおける肺結節の新たな三次元定量解析法（口演）	秦一倫、青景圭樹、大松広伸、山本修司、石井源一郎、永井完治、菱田智之、吉田純司、坪井正博	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
胸部X線画像における新しい骨抑制画像技術の肺結節影検出に対する有用性（口演）	三好智裕、吉田純司、荒牧直、松村勇輝、青景圭樹、菱田智之、坪井正博、小林剛、蝶良伸一、勝原慎介、笠井聡、笹野泰彦、永井完治	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
右上葉原発性肺癌に対する気管分岐下リンパ節郭清（口演）	清水 恵、吉田純司、石井源一郎、三好智裕、山田英司、内藤雅仁、荒牧直、永井完治、青景圭樹、菱田智之、坪井正博	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
性別による病理病気I期肺扁平上皮癌の予後の検討（口演）	荒牧直、坪井正博、石井源一郎、山田英司、清水 恵、三好智裕、内藤雅仁、青景圭樹、菱田智之、吉田純司、永井完治	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
完全切除を施行した非小細胞における肺全摘と気管支形術の比較（口演）	内藤雅仁、吉田純司、荒牧直、清水 恵、青景圭樹、菱田智之、坪井正博	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
高齢者肺癌に対する縮小手術の適応拡大の可能性（口演）	関原圭吾、青景圭樹、清水 恵、荒牧直、内藤雅仁、永井完治、菱田智之、吉田純司、坪井正博	第55回日本肺癌学会学術集会	2014年11月	国内
高齢者肺癌の外科治療についての問題点と展望（口演）	青景圭樹	第55回日本臨床外科学会総会	2014年11月	国内
Post-operative origo-recurrence of non-small cell lung cancer:clinical features and survival. (oral)	Hishida T, Yoshida J, Aokage K, Nagai K	22nd European Conference on General Thoracic Surgery.	2014年7月	国外
Influence of gastrointestinal tract cancer History on the outcomes of lung cancer surgery:extended inclusion criteria for clinical trials (poster)	Aokage K, Okada N, Suzuki K, Suzuki S, Tsubokawa N, Mimae T, Hattori A, Hishida T, Yoshida J, Tsuboi M	European society for medical oncology 2014	2014年9月	国外

## 2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所 （学会誌・雑誌等名）	発表した 時期	国内・ 外の別
Autopsy analyses in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis.	Oda K, Ishimoto H, Yamada S, Kushima H, Ishii H, Imanaga T, Harada T, Ishimatsu Y, Matsumoto N, Naito K, Yatera K, Nakazato M, Kadota JI, Watanabe K, Kohno S, Mukae H.	Respir Res, 15: 109	2014年9月	国外
Rikkunshito ameliorates cachexia associated with bleomycin-induced lung fibrosis in mice by stimulating ghrelin secretion.	Tsubouchi H, Yanagi S, Miura A, Mogami S, Yamada C, Iizuka S, Hattori T, Nakazato M.	Nutr Res, 34: 876-885	2014年10月	国外
Ghrelin relieves cancer cachexia associated with the development of lung adenocarcinoma in mice.	Tsubouchi H, Yanagi S, Miura A, Matsumoto N, Kangawa K, Nakazato M.	Eur J Pharmacol, 743: 1-10	2014年11月	国外
Ghrelin administration for chronic respiratory failure: a randomized dose comparison trial.	Matsumoto N, Miki K, Tsubouchi H, Sakamoto A, Arimura Y, Yanagi S, Iiboshi H, Yoshida M, Souma R, Ishimoto H, Yamamoto Y, Yatera K, Yoshikawa M, Sagara H, Iwanaga T, Mukae H, Maekura R, Kimura H, Nakazato M, Kangawa K.	Lung	2015年1月 [Epub ahead of print]	国外
呼吸器疾患におけるPTENの役割.	柳 重久、坪内拡張、中里雅光	中外医学社	2015年1月	国内
Basolateral secretion of Wnt5a in polarized epithelial cells is required for apical lumen formation.	Yamamoto H, Awada C, Matsumoto S, Kaneiwa T, Sugimoto T, Takao T, Kikuchi A.	J Cell Sci, 128: 1051-1063	2015年3月	国外
A novel point-of-care system for high-speed real-time polymerase chain reaction testing for epidermal growth factor receptor mutations in bronchial lavage fluids after transbronchial biopsy in patients with non-small cell lung cancer.	Sakamoto T, Kodani M, Takata M, Chikumi H, Nakamoto M, Nishii-Itō S, Ueda Y, Izumi H, Makino H, Touge H, Takeda K, Yamasaki A, Yanai M, Tanaka N, Igishi T, Shimizu E.	Int J Oncol, 46: 1473-1480	2015年4月	国外
A new rapid method for detecting epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer.	Takata M, Chikumi H, Matsunami K, Kodani M, Sakamoto T, Hashimoto K, Nakamoto M, Okada K, Kitaura T, Matsumoto S, Kurai J, Yamasaki A, Igishi T, Burioka N, Shimizu E.	Oncol Rep, 33: 1040-1048.	2015年3月	国外
Favorable effect of the combination of vinorelbine and dihydropyrimidine dehydrogenase inhibitory fluoropyrimidine in EGFR mutated lung adenocarcinoma: Retrospective and in vitro studies.	Izumi H, Touge H, Igishi T, Makino H, Nishii-Itō S, Takata M, Nakazaki H, Ueda Y, Matsumoto S, Kodani M, Kurai J, Takeda K, Sakamoto T, Yanai M, Tanaka N, Nirodi CS, Shimizu E.	Int J Oncol, 46: 989-998.	2015年3月	国外
Influence of Asian dust particles on immune adjuvant effects and airway inflammation in asthma model mice.	Kurai J, Watanabe M, Tomita K, Yamasaki HS, Shimizu E.	PLoS One, 9: e111831.	2014年11月	国外
Definition of Asian dust particles.	Watanabe M, Kurai J, Shimizu E.	Environ Res, 134: 188-189.	2014年10月	国外
The molecular biology of lung cancer brain metastasis: an overview of current comprehensions and future perspectives.	Hanibuchi M, Kim SJ, Fidler IJ, Nishioka Y.	J Med Invest, 61: 241-253	2014年9月	国外
Physician scientists in respiratory medicine.	Nishioka Y.	Respir Investig, 52: 279	2014年9月	国外
Pulmonary infections following immunosuppressive treatments during hospitalization worsen the short-term vital prognosis for patients with connective tissue disease-associated interstitial pneumonia.	Tanaka M, Koike R, Sakai R, Saito K, Hirata S, Nagasawa H, Kameda H, Hara M, Kawaguchi Y, Tohma S, Takasaki Y, Dohi M, Nishioka Y, Yasuda S, Miyazaki Y, Kaneko Y, Nanki T, Watanabe K, Yamazaki H, Miyasaka N, Harigai M.	Mod Rheumatol, Dec 15:1-6	2014年11月 [Epub ahead of print]	国外



Early Growth Response 4 Is Involved in Cell Proliferation of Small Cell Lung Cancer through Transcriptional Activation of Its Downstream Genes.	Matsuo T, Dat LT, Komatsu M, Yoshimaru T, Daizumoto K, Sone S, <u>Nishioka Y</u> , Katagiri T.	PLoS ONE, 9: e113606	2014年11月	国外
Surfactant Protein D Attenuates sub-epithelial fibrosis in allergic airways disease through TGF-beta.	Ogawa H, Ledford JG, Mukherjee S, Aono Y, <u>Nishioka Y</u> , Lee JJ, Izumi K, Hollingsworth JW.	Respir Res, 15: 143	2014年11月	国外
Idiopathic Pleuroparenchymal Fibroelastosis is Characterized by an Elevated Serum Level of Surfactant Protein-D, but Not Krebs Von Den Lungen-6.	Sato S, Hanibuchi M, Fukuya A, Yabuki Y, Bando H, Yoshijima T, Goto H, Ogawa H, <u>Nishioka Y</u> .	Lung, 192: 711-717	2014年10月	国外
Role of PDGF/PDGFR axis in the trafficking of circulating fibrocytes in pulmonary fibrosis.	Aono Y, Kishi M, Yokota Y, Azuma M, Kinoshita K, Takezaki A, Sato S, Kawano H, Kishi J, Goto H, Uehara H, Izumi K, <u>Nishioka Y</u> .	Am J Respir Cell Mol Biol, 51: 793-801	2014年12月	国外
抗酸菌症肺炎.	西岡安彦	今日の治療指針, 330	2014年1月	国内
強皮症.	岸 潤、河野弘、西岡安彦	最新医学・別冊 新しい診断と治療のABC 85, pp34-41	2014年9月	国内
COPD診療の現状と徳島県での取り組み.	西岡安彦	阿南医報, 175: 20-21	2014年	国内
肺線維症と増殖因子シグナル.	西岡安彦	呼吸と循環, 62: 873-878	2014年9月	国内
新薬治療薬の開発状況と将来展望.	西岡安彦	日本医師会雑誌, 143: 1011	2014年8月	国内
Tumor-size-based morphological features of metastatic lymph node tumors from primary lung adenocarcinoma	Yamada E, Ishii G, Aramaki N, <u>Aokage K</u> , Hishida T, Yoshida J, Kojima M, Nagai K, Ochiai A.	Pathology International, 64: 591-600.	2014年11月	国外
Ezrin-expressing lung adenocarcinoma cells and podoplanin positive fibroblasts from a malignant microenvironment.	Suzuki S, Ishii G, Matsuwaki R, Neri S, Hishimoto H, Yamauchi G, <u>Aokage K</u> , Hishida T, Yoshida J, Kohno M, Nagai K, Ochiai A.	J Cancer Res Clin Oncol, 141: 475-484	2015年3月	国外
Prognosis of lung cancer patients with a past history of colorectal cancer.	Hattori A, Suzuki K, <u>Aokage K</u> , Mimae T, Nagai K, Tsuboi M, Ochiai A.	Jpn J Clin Oncol, 44: 1088-1095	2014年11月	国外
Surgical outcome of non-small cell lung carcinoma in patients previously treated for gastric cancer.	Tubokawa N, Mimae T, <u>Aokage K</u> , Hattori A, Suzuki K, Nagai K, Tsuboi M, Okada M.	Eur J Card-Thorac Surg, Jun; 30: 1-5	2015年4月	国外
Immunophenotypic features of metastatic lymph node tumors to predict recurrence in N2 lung squamous cell carcinoma.	Matsuwaki R, Ishii G, Zenke Y, Neri S, <u>Aokage K</u> , Hishida T, Yoshida J, Fujii S, Kondo H, Goya T, Nagai K, Ochiai A.	Cancer Science, 105: 905-911	2014年7月	国外
Prognostic impact of microscopic vessel invasion and pleural invasion in non-small cell lung cancer.	Neri S, Yoshida J, Ishii G, Matsumura Y, <u>Aokage K</u> , Hishida T, Nagai K.	Ann Surg, 260: 383-388	2014年8月	国外

研究成果の刊行物・別刷

RESEARCH

Open Access

# Autopsy analyses in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis

Keishi Oda<sup>1</sup>, Hiroshi Ishimoto<sup>1</sup>, Sohsuke Yamada<sup>2</sup>, Hisako Kushima<sup>3</sup>, Hiroshi Ishii<sup>4</sup>, Tomotoshi Imanaga<sup>5</sup>, Tatsuhiko Harada<sup>6</sup>, Yuji Ishimatsu<sup>6</sup>, Nobuhiro Matsumoto<sup>7</sup>, Keisuke Naito<sup>1</sup>, Kazuhiro Yatera<sup>1</sup>, Masamitsu Nakazato<sup>7</sup>, Jun-ichi Kadota<sup>3</sup>, Kentaro Watanabe<sup>4</sup>, Shigeru Kohno<sup>6</sup> and Hiroshi Mukae<sup>1\*</sup>

## Abstract

**Background:** Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis (AE-IPF) is associated with high mortality. However, few studies have so far reviewed analyses of autopsy findings in patients with AE-IPF.

**Methods:** We retrospectively reviewed 52 consecutive patients with AE-IPF who underwent autopsies at five university hospitals and one municipal hospital between 1999 and 2013. The following variables were abstracted from the medical records: demographic and clinical data, autopsy findings and complications during the clinical course until death.

**Results:** The median age at autopsy was 71 years (range 47–86 years), and the subjects included 38 (73.1%) males. High-dose corticosteroid therapy was initiated in 45 (86.5%) patients after AE-IPF. The underlying fibrotic lesion was classified as having the usual interstitial pneumonia (UIP) pattern in all cases. Furthermore, 41 (78.8%) patients had diffuse alveolar damage (DAD), 15 (28.8%) exhibited pulmonary hemorrhage, nine (17.3%) developed pulmonary thromboembolism and six (11.5%) were diagnosed with lung carcinoma. In addition, six (11.5%) patients developed pneumothorax prior to death and 26 (53.1%) developed diabetes that required insulin treatment after the administration of high-dose corticosteroid therapy. In addition, 15 (28.8%) patients presented with bronchopneumonia during their clinical course and/or until death, including fungal (seven, 13.5%), cytomegalovirus (six, 11.5%) and bacterial (five, 9.6%) infections.

**Conclusions:** The pathological findings in patients with AE-IPF represent not only DAD, but also a variety of pathological conditions. Therefore, making a diagnosis of AE-IPF is often difficult, and the use of cautious diagnostic approaches is required for appropriate treatment.

**Keywords:** Acute exacerbation, Idiopathic pulmonary fibrosis, Autopsy, Diffuse alveolar damage

## Introduction

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a chronic, progressive, fibrosing form of interstitial pneumonia with a median survival after diagnosis of three to five years [1-4]. Acute exacerbation of IPF (AE-IPF) has an extremely poor prognosis and is believed to occur in 5-10% of patients with IPF annually [5,6]. In 1993, AE-IPF was first described in a case report by Kondoh et al. as acute clinical deterioration in three IPF patients in the absence of

an identified infection [7]. The American Thoracic Society and European Respiratory Society subsequently introduced the notion of AE-IPF in 2002 [8], and Collard and colleagues focused on establishing a worldwide consensus for AE-IPF in 2007 [9]. This consensus statement is currently the most widely used definition of AE-IPF, having been used in several clinical studies and being referred to in the 2011 IPF guidelines [10].

Lung tissue derived from patients with IPF shows a characteristic histopathological pattern known as usual interstitial pneumonia (UIP), which includes the presence of fibroblastic foci. The pathological findings of AE-IPF comprise diffuse alveolar damage (DAD) superimposed on underlying UIP; this is the most commonly

\* Correspondence: hmukae@med.uoeh-u.ac.jp

<sup>1</sup>Department of Respiratory Medicine, University of Occupational and Environmental Health, 1-1, Iseigaoka, Yahatanishiku, Kitakyushu City, Fukuoka 807-8555, Japan

Full list of author information is available at the end of the article

described finding on surgical lung biopsies [9,11,12]. On the other hand, several studies have reported the detection of organizing pneumonia (OP) without evidence of organizing DAD or extensive fibroblastic foci [13,14]. In addition, although previous reports have focused on the postmortem pathological findings of patients with IPF [15,16], no studies have focused on the characteristics of "acute exacerbation", and the pathological findings and clinical manifestations of AE-IPF remain only partially understood.

The current study is a retrospective review of an autopsy series designed to describe and evaluate the pathological findings, including concomitant and infectious diseases, observed during the clinical course until death in patients with AE-IPF.

## Methods

### Patients

A total of 52 patients with AE-IPF who underwent autopsies at five university hospitals and one municipal hospital between January 1, 1999 and December 31, 2013 were identified based on medical records. The Ethics Committee of University of Occupational and Environmental Health in Kitakyushu, Japan approved this study (approval number H26-12, April 3, 2014), with a waiver for informed consent due to the retrospective study design. AE-IPF was defined according to a previous report [9] and included the following items: [1] a previous or concurrent diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis; [2] unexplained worsening or new development of dyspnea within 30 days; [3] high-resolution computed tomography (HRCT) findings showing new sites of bilateral ground-glass opacity; [4] abnormalities and/or consolidation superimposed on a background of a reticular or honeycomb pattern consistent with the UIP pattern; [5] no evidence of pulmonary infection on an endotracheal aspirate or bronchoalveolar lavage (BAL) sample and [6] the exclusion of left heart failure, pulmonary embolism and other identifiable causes of acute lung injury. Regarding infectious causes in the current study, we carefully excluded possible infections based on the findings of a sputum examination, laboratory tests and physical examinations, although we did not perform endotracheal aspiration or BAL in all cases due to the presence of severe hypoxemia. In addition, we attempted to rule out pulmonary embolism as far as possible using enhanced computed tomography. The following variables were abstracted from the medical records: demographic data (age, sex, smoking history, symptoms, comorbidities and prior treatment for IPF), clinical data (hospitalization before death, laboratory results and HRCT findings) and the autopsy findings, including infectious causes.

### Autopsy findings in the patients with AE-IPF

All autopsied lung materials were fixed in 10% formalin for more than seven days. At least one tissue block was prepared from the gross AE-IPF lesions in each lobe, and the tissue blocks were embedded in paraffin. Sections (4  $\mu$ m thick) were cut and stained with hematoxylin and eosin (H&E) using standard procedures. The pathological diagnosis of UIP was made according to the current guidelines [10]. The criteria for DAD were the presence of hyaline membranes in addition to at least one of the following findings: alveolar type I cell or endothelial cell necrosis, edema, organizing interstitial fibrosis or prominent alveolar type II cell proliferation [15]. We also performed phosphotungstic acid hematoxylin staining for fibrin in patients without a hyaline membrane on H&E staining. OP was pathologically defined as the presence of buds of granulation tissue in the distal air spaces progressing from fibrin exudates to loose collagen-containing fibroblasts [16]. Alveolar hemorrhage was diagnosed in cases involving acute hemorrhage in the alveoli and airways as well as the presence of macrophages (i.e., siderophages) that stained positively for hemosiderin with Berlin-blue stain. Right ventricular hypertrophy was defined as a right ventricular free wall thickness of  $\geq 5$  mm [17].

### Screening for infectious diseases in the autopsied lungs

Four-micrometer-thick sections were cut from the lung tissue blocks and stained with H&E for the histopathological examinations in addition to Periodic acid-Schiff (PAS) stain, Grocott's methenamine silver stain and Gram stain to identify any infectious pathogens in the presence of bronchopneumonia. Bronchopneumonia (i.e., concomitant infection) was conclusively diagnosed based on histopathological evidence, such as neutrophil infiltration, fibrinopurulent exudate accumulation or abscess formation in the broncho-bronchioalveolar space. For immunohistochemical detection of cytomegalovirus (CMV) antigens, the sections were incubated with a mouse monoclonal anti-CMV antibody (DAKO, Glostrup, Denmark; diluted 1:20) for 30 minutes. Secondary antibody peroxidase-linked polymers were then applied, and the sections were incubated with a solution consisting of 20 mg of 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, 65 mg of sodium azide and 20 ml of 30%  $H_2O_2$  in 100 ml of Tris-HCl (50 mM, pH 7.6). After counterstaining with Meyer's hematoxylin, the sections were observed under a light microscope.

## Results

### Patient characteristics

A total of 52 patients with AE-IPF underwent autopsies during the study period. The demographics of the patients are reported in Table 1. All patients had a known diagnosis of IPF in addition to either unexplained worsening or