

喘息患者における血清ペリオスチン値と臨床像の検討

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

研究要旨

喘息は不均一な集団であり、様々なフェノタイプが存在する。ペリオスチンは気道上皮細胞から IL-4 や IL-13 などによって誘導されるマトリセルラー蛋白質であり、いわゆる「Th2 型喘息」のバイオマーカーとなる。我々は血清ペリオスチン値が、気管支喘息の重症度や特定のフェノタイプ、喘息の合併症などに関連があるかを検討することを目的とした。

喘息患者 190 例、健常人 11 例を対象に、血清ペリオスチン値を ELISA 法にて測定した。

喘息患者での血清ペリオスチン中央値は 70.0 (54.0 - 93.5) ng/ml であり、健常人 57.0 (39.0 - 63.0) ng/ml と比較して有意に高値であった ($P=0.014$)。喘息の重症度と血清ペリオスチン値に有意な関連はなかった。一方、喘息患者を血清ペリオスチン値に基づき 3 群に分類したところ、血清ペリオスチン値が高値の喘息患者は発症年齢が高い ($P=0.04$)、アスピリン不耐症の頻度が高い ($P=0.04$)、鼻疾患の合併が多い ($P=0.03 - 0.001$)、末梢血好酸球数が多い ($P<0.001$)、肺機能が低い ($P=0.02 - 0.007$) という特徴を示した。また、血清ペリオスチン値は鼻茸合併副鼻腔炎や嗅覚障害を認める喘息患者で特に高値であった。一方、アトピーの有無や ACT スコアや AQLQ スコアなどの QOL スコアとは有意な関連は見られなかった。血清ペリオスチン値は喘息患者で有意に上昇するだけでなく、好酸球性炎症優位、高齢発症、低肺機能、鼻合併症などの特徴を呈する喘息のフェノタイプと関連することが示唆された。

共同研究者 松坂雅子、加畑宏樹、福永興吉、鈴木雄介、正木克宜、持丸貴生、坂巻文雄、小山田吉孝、井上卓、小熊剛、佐山宏一、黄英文、中村守男、梅田啓、小野純也、太田昭一郎、出原賢治、浅野浩一郎

A. 研究目的

喘息は不均一な集団であり、様々なフェノタイプが存在する。ペリオスチンは気道上皮細胞から IL-4 や IL-13 などによって誘導されるマトリセルラー蛋白質であり、いわゆる「Th2 型喘息」のバイオマーカーとなる。我々は血清ペリオスチン値が、気管支喘息の重症度や特定のフェノタイプ、喘息の合併症などに関連があるかを検討すること

を目的とした。

B. 研究方法

喘息患者 190 例、健常人 11 例を対象に、血清ペリオスチン値を ELISA 法にて測定した。

C. 研究結果

喘息患者での血清ペリオスチン中央値は 70.0

(54.0 – 93.5) ng/ml であり、健常人 57.0 (39.0 – 63.0) ng/ml と比較して有意に高値であった ($P=0.014$)。喘息の重症度と血清ペリオスチン値に有意な関連はなかった。一方、喘息患者を血清ペリオスチン値に基づき 3 群に分類したところ、血清ペリオスチン値が高値の喘息患者は発症年齢が高い ($P=0.04$)、アスピリン不耐症の頻度が高い ($P=0.04$)、鼻疾患の合併が多い ($P=0.03 - 0.001$)、末梢血好酸球数が多い ($P<0.001$)、肺機能が低い ($P=0.02 - 0.007$) という特徴を示した。また、血清ペリオスチン値は鼻茸合併副鼻腔炎や嗅覚障害を認める喘息患者で特に高値であった。一方、アトピーの有無や ACT スコアや AQLQ スコアなどの QOL スコアとは有意な関連は見られなかった。

D, E. 考察, 結論

血清ペリオスチン値は喘息患者で有意に上昇するだけでなく、好酸球性炎症優位、高齢発症、低肺機能、鼻合併症などの特徴を呈する喘息のフェノタイプと関連することが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

M Matsusaka, H Kabata, K Fukunaga, Y Suzuki, Katsunori Masaki, T Mochimaru, F Sakamaki, Y Oyamada, T Inoue, T Oguma, K Sayama, H Koh, M Nakamura, A Umeda, J Ono, S Ohta, K Izuhara, K Asano, T Betsuyaku. Phenotype of asthma related with high serum periostin levels. Allergol Int. 2015 Apr;64(2):175-80.

高齢者に対する肺炎球菌ワクチンの理論と戦略

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

研究要旨

肺炎は世界で第4位の死亡原因となっており、肺炎球菌は肺炎の中で最も重要な起因菌である。肺炎球菌感染症は高齢化の進行と共にさらに増加することが予想され、肺炎球菌ワクチンに関する最適な戦略決定が求められている。23価肺炎球菌多糖体ワクチン（PPV23）は侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）の予防効果にはコンセンサスが得られえているが、市中肺炎（CAP）に対する効果は議論が分かれている。近年、13価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV13）が新たに登場した。CAPiTA スタディーにより PCV13 がワクチンタイプの CAP と IPD を予防することが示された。これらの治験により、米国の ACIP は高齢者に対し、PCV13 の初回接種を推奨とした。高齢者は、自然免疫及び獲得免疫が共に障害されており、高齢者に対する最適なワクチン戦略決定のためには、免疫老化に関する科学的な知見の集積がさらに望まれる。また、免疫老化に関する基礎的研究以外にも、常に変化し続ける疫学を考慮した費用対効果費に関する研究が、ワクチン戦略の決定には必要不可欠である。

共同研究者 南宮湖、石井誠、船津洋平、君塚善文、八木一馬、浅見貴弘、朝倉崇徳、鈴木翔二、加茂徹郎、藤原宏、田坂定智、長谷川直樹

F. 研究発表

1. 論文発表

Namkoong H, Ishii M, Funatsu Y, Kimizuka Y, Yagi K, Asami T, Asakura T, Suzuki S, Kamo T, Fujiwara H, Tasaka S, Betsuyaku T, Hasegawa

N. Theory and strategy for Pneumococcal vaccines in the elderly.

Hum Vaccin Immunother. 2015 Sep 25 PMID: 26406267.

phosphodiesterase 4 阻害薬 E6005 の吸入はマウスにおける肺炎症を抑制する

研究分担者 井上 博雅

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 呼吸器内科学 教授

研究要旨

慢性閉塞性肺疾患（COPD）は、著しい罹患率と死亡率に関連した進行性の肺疾患である。いくつかの経口 phosphodiesterase 4（PDE4）阻害剤が、COPD の治療のために開発されてきたが、それらの使用は、悪心及び嘔吐を含む副作用により制限されている。我々は、ドライパウダーの PDE4 阻害剤の吸入は、全身吸収を最小限に抑え、局所の PDE4 阻害で肺内の炎症が抑制できるであろうという仮説を立てた。マウスに、Lypopolysaccharide(LPS)の気管内投与を行い、好中球性の肺炎症を誘導した。新規 PDE4 阻害薬 E6005 (methyl 4-[(3-[6,7-dimethoxy-2-(methylamino)quinazolin-4-yl]phenyl)amino] carbonyl] benzoate)のドライパウダーを、マウスに気管内投与した。気管支肺胞洗浄液（BALF）中の薬物動態、細胞の種類、サイトカイン、ケモカイン、脂質メディエーター、および肺組織を評価した。マウスへの E6005 気管内投与は、肺での薬物濃度の高値を示した。E6005 処置マウスで、好中球、炎症性サイトカイン、ケモカイン、およびシステイニルロイコトリエンの BALF レベルの減少と相関し、肺組織の炎症を軽減した。このように、E6005 の気管内投与は、効果的に好中球肺の炎症を抑制することができ、COPD 治療の従来の経口製剤に代わりうることを示唆された。

共同研究者

久保田真吾、渡辺正樹、東元一晃、町田健太郎、

A. 研究目的

慢性閉塞性肺疾患(COPD)は、肺の炎症反応の増強から生じる永続的な気流制限により特徴づけられる。好中球は、肺実質と末梢気道で最も豊富な炎症細胞で、COPD における組織損傷に関与している。

環状ヌクレオチドホスホジエステラーゼ (PDEs)は、環状アデノシンリン酸(cAMP)および環状グアノシンリン酸をそれらの不活性形態への分解を触媒する酵素のファミリーである。

PDE4 は、好中球、好酸球、単球/マクロファージ、リンパ球、および気道上皮細胞を含む、ヒト免疫細胞で高度に発現される。PDE4 の阻害はこれらの細胞の炎症誘発活性の多くを減少させる。

経口 PDE4 阻害剤である、ロフルミラストは、COPD の維持療法のために欧州医薬品庁と米国食品医薬品局(FDA)から承認を受けている。ロフルミラストは安全と考えられているとはいえ、下痢、体重減少、吐き気のような消化器の副作用は治療の中断をきたす。これらの有害作用を媒介する明確

な機構は完全に理解されていないが、脳への化合物の浸透によって誘導されうる。

肺に PDE4 阻害剤を到達させるための代替プラットフォームを開発することを目標に、我々、新しい PDE4 阻害剤である E6005 のドライパウダーを局所投与する事により、気道への全身吸収を最小化し、肺内の局所的な PDE4 阻害に続いて、好中球による肺炎症を抑制可能であるという仮説を立てた。

したがって、この研究は E6005 吸入の薬物動態、リポ多糖(LPS)によって引き起こされる好中球性の肺炎症に対する E6005 の治療有効性を評価することを目的とした。

B. 研究方法

8-10 週齢のメスの C57BL / 6 マウスは、日本クレア(東京,日本)から得て、病原体を含まない条件下で飼育した。すべての研究は、研究と鹿児島大学の実験動物科学センターによって承認された。E6005 は、エーザイ研究所(東京)で合成した。

E6005 を、ドライパウダー吸入器(DP-4M, PennCentury, Wyndmoor, PA, USA)を使用して気管内に投与、または懸濁液の皮下注射を行い、異なる投与経路による肺と血清中の E6005 を測定した。

LPS 投与 1 時間前に E6005 を投与し、その後 LPS を気管内投与し、好中球性の肺炎症を誘発した。LPS 投与 6 時間後の気管支肺胞洗浄液(BALF)を回収し、細胞数、細胞分画測定を行った。肺の病理組織学を検討した。BALF の上清で、TNF- α 、IL-6、KC、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MIP-2、IP-10、ロイコトリエン類、プロスタグランジン、トロンボキサン、ヒドロキシエイコサテトラエン酸(HETE)類を含む脂質メディエーターを測定した。

BALF からマウス肺胞マクロファージを単離し、

E6005 または陰性対照を用いてインキュベートした後、LPS 曝露を行い、上清中の TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β を測定した。

C. 研究結果

E6005 の気管内投与は、皮下投与と比較した場合、BALF で高い濃度、血清で低い濃度であった。E6005 濃度は気管内投与後 1 時間でピークに達した。

LPS で誘発した好中球性の肺炎症モデルでは、乳糖で処置したマウスと比較し、E6005 の気管内投与は用量依存性に好中球の減少をもたらした ($P < 0.05$)。

肺への好中球動員に対する E6005 の抑制効果のメカニズムを明らかにするために、BALF 中のサイトカイン、ケモカイン、および脂質メディエーターのレベルを測定した。E6005 は、TNF- α 、IL-6、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MIP-2 および IP-10 のレベルを減少させた ($P < 0.05$)。システインルロイコトリエン (cys-LTs) のレベルを低下させた ($P < 0.005$)。

ex vivo では、E6005 は LPS 刺激したマウス肺胞マクロファージからの TNF- α 、MIP-1 α 、および MIP-1 β の放出を減少させた ($P < 0.005$)。

D. 考察

本研究では、E6005 の気管内投与が局所的に肺、LPS 誘発好中球の肺の炎症を軽減し、BALF 中のサイトカイン、ケモカイン及び脂質メディエーターを軽減するのに有効であったことを示している。皮下投与と比較した場合、E6005 の気管内投与は、血清より BALF 中で高いレベルであった。したがってこの PDE4 阻害薬の吸入は、全身暴露を回避することができる有望な戦略である。興味深いことに、E6005 使用した群の LPS 誘発肺傷害で

BALF 中の cys-LT の減少が認められた。LPS による障害後の cys-LT の増加は、以前の研究の結果と一致している(Chang et al., 1989; Ichinose et al., 2001; Petersen et al., 2011)。cys-LT は好中球走化性があり、cys-LT の拮抗作用によって減衰されることが報告されている(Ishizaka et al., 1994)。E6005 投与における、LPS 刺激後の肺での好中球集簇抑制は cys-LT を抑制する事で部分的に説明することができる。

E. 結論

この研究から得られたデータは、肺への PDE4 阻害剤 E6005 ドライパウダーの気管内投与は、有効な局所の PDE4 阻害を促進することを示した。これは、COPD において従来の経口製剤に代わるものを示した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Shingo Kubota, Masaki Watanabe, Manabu Shirato, Toshiaki Okuno, Ikkou Higashimoto, Kentaro Machida, Takehiko Yokomizo, Hiromasa Inoue. An inhaled phosphodiesterase 4 inhibitor E6005 suppresses pulmonary inflammation in mice European Journal of Pharmacology 2015 Dec 5;768:41-8.

日本の一般住民における COPD Screening Questionnaire の妥当性の検証とカットポイントの設定
：久山研究

研究分担者 井上 博雅

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 呼吸器内科学 教授

研究要旨

慢性閉塞性肺疾患（COPD）は世界的に有病率が高く、治療可能な疾患であり、有用なスクリーニング法が必要である。COPD Population Screener (COPD-PS) はスクリーニングのために開発された質問票であるが、一般住民に対する妥当性は検証されていない。本研究の目的は日本の一般住民における COPD-PS の妥当性を検証することである。対象は 40～79 歳の久山町住民で 2012 年度の久山町健診受診者である。喘息、肺切除歴のある方は対象から除外した。COPD-PS と呼吸機能を施行した 2357 名を解析対象とした。固定した気流制限は気管支拡張薬使用後の 1 秒率 0.7 未満とした。固定した気流制限に対する COPD-PS の点数をロジスティック回帰分析で解析し感度、特異度を算出した。固定した気流制限の有病率は 6.5%であった。COPD-PS の気流制限に対する AUC は 0.748 であった。カットポイントは 4 点が推奨され、感度は 67.1%、特異度は 72.9%、陽性的中率は 14.6%、陰性的中率は 97.0%であった。COPD-PS 日本語版の診断カットポイントとして 4 を選択した。英語版 COPD-PS のカットポイントは 5 を推奨しており、その解離の理由は不明であるが、対象者に関連している可能性がある。アジア人と欧米人という人種差に加えて、この研究が地域住民を対象としているのに対して、これまでの検討は一般医、専門医を受診している患者を含んでいることなども影響した可能性がある。今回の検討でカットポイントを 5 にすると感度は 34.9%に低下する。COPD-PS は COPD のリスクを評価し、その有効性調査は実地臨床や疾患管理にくわえて一般住民における初期スクリーニングのための問診票として応用可能であることを示した。COPD-PS は気道閉塞の可能性のある患者の適切なスクリーニング法である。

共同研究者

鹿児島大学医歯学総合研究科 呼吸器内科学、九州大学大学院 胸部疾患研究施設、他

佃屋剛、松元幸一郎、福山聡、Bruce Crawford、中西洋一、一ノ瀬正和、町田健太郎、寒川卓哉、二宮利治、清原裕、Hisayama Pulmonary Physiology Study Group

A. 研究目的

慢性閉塞性肺疾患（COPD）は世界的に有病率が高く、治療可能な疾患であり、有用なスクリーニ

ング法が必要である。COPD Population Screener (COPD-PS) はスクリーニングのために開発された質問票であるが、一般住民に対する妥当性は

検証されていない。本研究の目的は日本の一般住民における COPD-PS の妥当性を検証することである。

B. 研究方法

対象は 40~79 歳の久山町住民で 2012 年度の久山町健診受診者である。喘息、肺切除歴のある方は対象から除外した。COPD-PS と呼吸機能を施行した 2357 名を解析対象とした。固定した気流制限は気管支拡張薬使用後の 1 秒率 0.7 未満とした。固定した気流制限に対する COPD-PS の点数をロジスティック回帰分析で解析し感度、特異度を算出した。

C. 研究結果

固定した気流制限の有病率は 6.5%であった。COPD-PS の気流制限に対する AUC は 0.748 であった。カットポイントは 4 点が推奨され、感度は 67.1%、特異度は 72.9%、陽性的中率は 14.6%、陰性的中率は 97.0%であった。

D. 考察

COPD-PS 日本語版の診断カットポイントとして 4 を選択した。英語版 COPD-PS のカットポイントは 5 を推奨しており、その解離の理由は不明であるが、対象者に関連している可能性がある。アジア人と欧米人という人種差に加えて、この研究が地域住民を対象としているのに対して、これまでの検討は一般医、専門医を受診している患者を含んでいることなども影響した可能性がある。今回の検討でカットポイントを 5 にすると感度は 34.9%に低下する。

E. 結論

COPD-PS は COPD のリスクを評価し、その有

効性調査は実地臨床や疾患管理にくわえて一般住民における初期スクリーニングのための問診票として応用可能であることを示した。COPD-PS は気道閉塞の可能性のある患者の適切なスクリーニング法である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Go Tsukuya, Koichiro Matsumoto, Satoru Fukuyama, Bruce Crawford, Yoichi Nakanishi, Masakazu Ichinose, Kentaro Machida, Takuya Samukawa, Toshiharu Ninomiya, Yutaka Kiyohara, Hiromasa Inoue, on behalf of the Hisayama Pulmonary Physiology Study Group Validation of a COPD Screening Questionnaire and Establishment of Diagnostic Cut-Points in a Japanese General Population: the Hisayama Study Allergol Int. 2015 Jan;64(1):49-53.

間質性肺疾患に関連した膠原病における血清 B 細胞活性化因子（BAFF）レベルについて

研究分担者 井上 博雅

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 呼吸器内科学 教授

研究要旨

背景：間質性肺炎は膠原病を有する患者において多く認められる合併症である。膠原病関連間質性肺炎（CTD-ILD）の診断は予後および治療の両方に影響を与えるが、それは慢性線維性間質性肺炎（CFIP）から区別することが困難な場合が多い。腫瘍壊死因子ファミリーに属する B 細胞活性化因子(BAFF)は、B 細胞の発達、生存、および抗体産生において重要な役割を果たしており、BAFF が間質性肺炎の鑑別診断に有用である可能性がある。

方法：CTD-ILD 33 名、未分化 CTD-ILD(UCTD-ILD) 16 名、CFIP 19 名、26 人の健常者を対象とし血清 BAFF、KL-6 と SP-D 値の測定をそれぞれ行った。血清 BAFF レベルと肺機能との相関、および CTD-ILD 患者の肺組織中の BAFF 発現の解析を行った。

結果：BAFF の血清レベルは、健常者と CFIP 患者と比較して CTD-ILD 患者で有意に高値を示した。しかし SP-D および KL-6 の血清レベルに有意な差はみられなかった。また CTD-ILD 患者の血清 BAFF レベルは肺機能と逆相関を呈した。免疫組織学的染色による検討では CTD-ILD 患者の肺で過剰強発現がみられ、健常肺で BAFF は弱く発現がみられた。

考察：健常者と CFIP 患者と比較し CTD-ILD 患者で血清 BAFF 値が有意に高かったことを示した最初の報告である。さらに血清 BAFF レベルは肺機能と相関がみられた。CTD-ILD 患者の血清 BAFF 値が間質性肺炎の疾患活動性と重症度の存在を反映している可能性がある。

結論：血清 BAFF 値は CFIP から CTD-ILD を区別するための有用なマーカーとなりうる。

共同研究者

濱田努, 寒川卓哉, 隈元朋洋, 畑中一仁, 佃屋剛, 山本茂樹, 町田健太郎, 渡辺正樹, 水野圭子, 東元一晃, 井上義一, 井上博雅

A. 研究目的

各種膠原病では、細気管支炎、胸膜炎、および肺高血圧症などの多種多様な肺合併症を引き起こす可能性がある疾患である。特に間質性肺炎は膠原病に関連した肺病変の一般的な形態である。

CTD-ILD 患者の予後は一般的に治療反応性が良好であることから特発性間質性肺炎（IIPS）より良い。今後は特発性肺線維症（IPF）に対して新たな抗線維化薬の選択肢も増え、予後及び治療に影響があることから、ILD における膠原病性間質性

肺炎の鑑別を行うことが重要である。しかし自己抗体などの様々な臨床評価が鑑別に使用されるが、膠原病における肺野先行病変の間質性肺炎など診断困難例も少なくない。

腫瘍壊死因子ファミリーに属する B 細胞活性化因子(BAFF)は、B 細胞の発達、生存、および抗体産生において重要な役割を果たしている。BAFF が健常者と比較し IPF 患者で有意に高値である報告があるが、CFIP や CTD-ILD と比較検討されていない。

したがって我々は、ILD 患者において膠原病性間質性肺炎を検出する BAFF の有用性を評価するために、CFIP、UCTD-ILD、および CTD-ILD を有する患者の血清 BAFF 値を測定し臨床的特徴を評価した。

2008 年から 2012 年までに鹿児島大学病院へ受診したILD患者68例の患者(男性35人、女性33人、年齢65.1±9.2歳)を対象とし、内訳はCTD-ILD33名、未分化CTD-ILD(UCTD-ILD)16名、CFIP19名であった。血清BAFF、KL-6とSP-D値の測定、肺機能検査をそれぞれ行った。

またCFIP、UCTD、CTD-ILDで各4検体の外科生検標本において免疫学的染色によりBAFFの発現を調べた。正常な肺組織は、胸部膿胸の摘出手術を受けた非喫煙者の非病変部を用いた。統計分析はノンパラメトリック検定を全ての比較のために使用した。

C. 研究結果

CTD-ILDを有する患者は、VCなどの疾患の重症度を示すCFIPと健常対照を有する患者よりも有意に高い血清BAFFレベル、ならびに血清BAFFレベルとパラメータの間に有意な相関があるCTD-ILDを有する患者におけるBAFFの過剰発現は主に肺胞マクロファージ、リンパ濾胞、線維芽

細胞および肺胞壁にみられた。

D. 考察

間質性肺炎の診断においては、ILDを有する患者に対してCTDの合併有無について評価をするように勧められている。ILDの診断にはSP-DやKL-6などのバイオマーカーが臨床応用されているがこれらのマーカーを用いた膠原病性間質性肺炎の鑑別は困難である。本研究でも血清SP-DとKL-6値はCTD-ILDとCFIP患者間で有意差はみられず、疾患活動性との相関関係もみられなかった。しかし血清BAFFはCTD-ILD患者において他ILDより有意に高値を呈したことから、我々はCFIPからCTD-ILDを区別するためにBAFFが有用な臨床バイオマーカーであると考えた。

また本研究ではCTD-ILDにおける血清BAFF値が肺機能と相関関係がみられることから間質性肺炎の重症度を反映していることが示唆された。またBAFFがCTD-ILDとUCTD-ILDの患者の治療のための新しい潜在的な標的となる可能性がある。

E. 結論

CTD-ILD患者における血清BAFF値はCFIP患者よりも高値であり、肺機能と逆相関の関係がみられた。免疫組織化学的検討では、CTD-ILDにおける肺実質にBAFFの過剰発現がみられた。我々の研究は血清BAFFがCFIPからCTD-ILDを区別するための臨床的に有用であることを示唆している。

F. 研究発表

1. 論文発表

Serum B cell-activating factor (BAFF) level in connective tissue disease associated interstitial lung disease.

Hamada T, Samukawa T, Kumamoto T,
Hatanaka K, Tsukuya G, Yamamoto M,
Machida K, Watanabe M, Mizuno K,
Higashimoto I, Inoue Y, Inoue H. BMC Pulm
Med. 2015 Sep 30;15:110.

Deep sequencing による肺リンパ脈管筋腫症患者肺組織での低頻度 *TSC2* 遺伝子体細胞変異の検出

研究分担者 瀬山 邦明

順天堂大学大学院医学研究科 呼吸器内科学 先任准教授

研究要旨

リンパ脈管筋腫症（LAM）は進行性に肺の嚢胞性変化をきたす稀少難病で、結節性硬化症（TSC）に合併して起こる TSC-LAM と、TSC との関連性なく発症する孤発性 LAM（sporadic LAM）がある。前者は *TSC1* あるいは *TSC2* 遺伝子のどちらの異常でも発症しうるが、sporadic LAM は *TSC2* 遺伝子異常により発症する。しかし、LAM 病巣を構成するすべての LAM 細胞が TSC 遺伝子異常を有するわけではないことが報告されている。本研究では、LAM 患者の末梢血白血球(9 例)、肺組織（7 例）、培養 LAM 関連細胞（4 例）、LAM 細胞クラスター（LCC）からゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた deep sequencing により *TSC1* および *TSC2* 遺伝子変異の頻度を検討した。6 例（67%）の sporadic LAM の LAM 細胞で 9 種類の *TSC2* 遺伝子変異を認めた（アレル頻度 1.7 - 46.2%）。うち 3 例では、2 種類の異なる *TSC2* 遺伝子変異を異なるアレル頻度（1.7 - 28.7%）で検出した。

共同研究者 藤田敦、安藤克利、小林悦子、三谷恵子、奥寺康司、中島光子、宮武聡子、鶴崎美德、才津浩智、三宅紀子、松本直通、瀬山邦明

A. 研究目的

LAM 細胞における *TSC1* あるいは *TSC2* 遺伝子変異の有無を次世代シーケンサーにより検討し、病因としての *TSC* 遺伝子変異の意義をあきらかにする。

B. 結果

9 例の LAM 患者の末梢血白血球(9 例)、凍結保存されていた肺組織（7 例）、肺組織から初代培養した LAM 関連細胞（4 例）、LAM 細胞クラスター（LCC）からゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた deep sequencing（deep NGS）により *TSC1* および *TSC2* 遺伝子変異の頻度を検討した。

LAM 肺組織からは、LAM 細胞をレーザーマイクロディセクション法（LCM）により採取しゲノム DNA を抽出した。deep NGS により検出された体細胞変異は、その領域を含む短い DNA フラグメントを PCR で増幅し deep NGS (targeted deep sequencing) を行い確認した。また、<20%のアレル頻度の体細胞変異は digital droplet PCR (ddPCR)法によっても確認した。

C. 結果

19 種類の異なる体細胞変異が検出され、うち 9 種類の体細胞変異は病的意義が有る変異と確認した。胚細胞遺伝子変異は全例で検出しなかった。9 種類

の体細胞変異は6例のLAM患者(肺組織5例、LCC1例、培養LAM関連細胞0例)で検出した。アレル頻度は低く、1.7–46.2%であったが、LCMを行うことにより高いアレル頻度で検出された。3つは未報告のTSC2遺伝子変異であった

{c.436del(p.Leu146Serfs*36), c.2088C>G (p.Cys696Trp), c.3152_3153delinsA (p.Leu1051Hisfs*2)}。9種類のうち8種類は不完全な蛋白質を生じる変異あるいはスプライスに異常をきたす変異であったが、ひとつはアミノ酸置換を生じる変異であった。3例では、2種類の異なるTSC2遺伝子変異を異なるアレル頻度(1.7–28.7%)で検出した。2名のLAM患者では興味深いことに2種類の変異のアレル頻度は異なっていた。アレル頻度<20%の遺伝子変異はddPCR法によっても確認した。2例のLAM患者ではTSC2近傍のアレルインバランスをみとめLOHが存在することを確認した。

D, E. 考察と結論

LAM病巣に存在するLAM細胞すべてがTSC2遺伝子変異を有するわけではないことを日本人LAM症例でも確認した。2つの異なるTSC2変異が3例で検出され、うち2例ではそれらのアレル頻度は著しく異なっていた。同様の結果は他の研究グループからも報告されており、LAM病巣にはTSC2遺伝子変異を異にする複数系列のLAM細胞が存在する可能性が示唆される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Fujita A, Ando K, Kobayashi E, Mitani K, Okudera K, Nakashima M, Miyatake S, Tsurusaki Y, Saitsu H, Seyama K, Miyake N, Matsumoto M. Detection of low - prevalence somatic TSC2 mutations in sporadic pulmonary lymphangioliomyomatosis tissues by deep sequencing. Hum Genet. 2015 Nov 12. [Epub ahead of print]

リンパ脈管筋腫症の *in vitro* モデルとしての 3 次元培養システム

研究分担者 瀬山 邦明

順天堂大学大学院医学研究科 呼吸器内科学 先任准教授

研究要旨

リンパ脈管筋腫症（LAM）は、遺伝子変異をもつ LAM 細胞の腫瘍性増殖とリンパ管新生により特徴づけられる疾患である。リンパ管内皮細胞（LEC）により被覆された LAM 細胞集塊、LAM 細胞クラスター（LCC）、を介してリンパ行性に転移し肺内に多数の嚢胞を形成して進展すると考えられている。LAM 患者の乳び胸水・腹水から LCC を採取し、コラーゲンゲルの中に埋め込んで 3 次元培養を行ったところ、1）近傍の LCC 間に LEC による tube formation が認められた。2）LCC は 14 日間の観察期間中にゲル内に“嚢胞様の穴”を形成しながら小細胞塊に分裂していった。しかし、子宮筋腫細胞や線維芽細胞のクラスターを同様にコラーゲンゲルに埋め込んだ対照実験では、このような“嚢胞様の穴”を形成することはなかった。3）コラーゲンゲル中に MMP 阻害作用を有する doxycycline やリンパ管新生阻害作用を持つリコンビナント VEGFR-3-Fc キメラ蛋白を添加しておくこと、LCC による“嚢胞様の穴”形成が阻害された。これらの現象は患者体内での LAM 細胞の増殖・進展様式に類似しており、*in vitro* モデルとして病態研究や薬効評価に有用である可能性がある。

共同研究者 熊坂利夫、星加義人、小林悦子、三谷恵子、久能木真喜子、Young Kwon Hong、高橋和久、瀬山邦明

A. 研究目的

リンパ脈管筋腫症（LAM）は、遺伝子変異をもつ LAM 細胞の腫瘍性増殖とリンパ管新生により特徴づけられる腫瘍性疾患である。稀少難病であり、病態や新規治療法の開発には適切なモデル実験系が必要である。患者由来の LAM 細胞を用いた *in vitro* モデル培養系の構築を目的とした。

B, C. 研究方法と結果

LAM 患者の乳び胸水・腹水から LAM 細胞クラスター（LCC）を採取し、コラーゲンゲルの中に埋め

込んで 3 次元培養を行った。コントロールとしてヒト子宮平滑筋細胞、ヒト線維芽細胞で LCC 類似の細胞集塊を作成して実験に用いた。LCC をコラーゲンゲルに埋め込むと以下のような結果が得られた。1）近傍の LCC 間に LEC による tube formation が認められた。LCC の表面を覆う一層のリンパ管内皮細胞（LEC）は、脈管形成能力を有することが証明された。2）LCC は 14 日間の観察期間中にゲル内に“嚢胞様の穴”を形成しながら小細胞塊に分裂していった。しかし、子宮筋腫細胞や線維芽細胞のクラスターを同様にコラーゲンゲルに埋め込んだ対照実験で

は、このような“嚢胞様の穴”を形成することはなかった。この現象は、あたかも肺内に嚢胞を形成するLAMの進展様式に類似すると考えられた。3) コラーゲンゲル中に MMP 阻害作用を有する doxycycline やリンパ管新生阻害作用を持つリコンビナント VEGFR-3-Fc キメラ蛋白を添加しておくと、LCC による“嚢胞様の穴”形成が阻害された。すなわち、LAM の病態解析や新規薬剤の効果を評価しうるモデルとなることが示唆された。

D, E. 考察と結論

LCC をコラーゲンゲル内に埋め込んで培養する 3 次元培養システムは、患者体内での LAM 細胞の増殖・進展様式に類似しており、動物モデルとは異なる LAM 病態モデルとして研究や薬効評価に有用である可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kumasaka T, Hoshika Y, Kobayashi E, Mitani K, Okura MK, Hong YK, Takahashi K, Seyama K.
A model of lymphangioliomyomatosis in a three-dimensional culture system. *Lymphat Res Biol* 13:248-52, 2015.

気胸を再発する Birt-Hogg-Dubé 症候群症例に対する胸膜カバリング術（症例報告）

研究分担者 瀬山 邦明

順天堂大学大学院医学研究科 呼吸器内科学 先任准教授

研究要旨

Birt-Hogg-Dubé 症候群は多発性肺嚢胞を生じ気胸を合併する常染色体優性遺伝性疾患である。肺嚢胞は全肺野に生じるが下肺野縦隔側や横隔膜面により多く存在し、また、肺血管に接するように存在する。そのためブラ切除や縫縮術などの原発性自然気胸症例に対する標準的気胸治療のみでは気胸の再発防止することは困難であることが予想される。そこで、酸化セルロースメッシュで臓側胸膜表面を被覆して脆弱な胸膜を補強するカバリング術を施行した。術後 1 年間の経過観察期間では気胸の再発を認めていない。

共同研究者 江花弘基、尾辻瑞人、溝淵輝明、栗原正利、高橋和久、瀬山邦明

A. 研究目的

多発性肺嚢胞により気胸を再発しやすい Birt-Hogg-Dubé 症候群（BHDS）症例に対してカバリング術を施行し、気胸再発防止に有用かどうか検討する。

B, C. 研究方法と結果

30 歳男性が左気胸を発症した。胸部 CT 画像所見から BHDS を疑い *FLCN* 遺伝子検査を行ったところ、exon 11 に c.1285dupC を認め BHDS と診断した。左気胸に対して簡易型ドレナージキットを挿入して外来気胸管理を行い改善した。しかし、16 ヶ月後および 20 ヶ月後に左気胸を再発したため、手術適応と判断し胸腔鏡下にカバリング術を施行した。酸化セルロースシート（4 インチ×8 インチ）を 9 枚使用して左肺の臓側胸膜全体を被覆した。その後 10ml のフィブリングルー液を全体に被覆して手術を終了した。術後 1 年間再発を認めていない。

D, E. 考察と結論

欧米における気胸治療のガイドラインでは、再発性気胸に対する標準的治療は、外科治療では開胸手術あるいは胸腔鏡下手術と胸膜剥皮術、内科治療では胸膜癒着術が推奨されている。しかし、BHD 症候群では嚢胞の多くが葉間面や肺底部縦隔側・横隔間面にあり呼吸性に肺の膨張・弛緩の大きく変動する領域にある。従って、癒着を目指した外科的・内科的癒着療法では癒着させがたい部分に分布する。今回選択したカバリング術は、癒着を生じにくい素材の吸収性メッシュにより被覆し胸膜全体を被覆し、病的に脆弱な胸膜を補強して厚くし気胸再発を防止しようとする治療である。術後 1 年間再発は認めておらず、BHDS 患者の気胸再発防止に有用であることが示唆される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ebana H, Otsuji M, Mizobuchi T, Kurihara M, Takahashi K, Seyama K. Pleural Covering Application for Recurrent Pneumothorax in a Patient with Birt-Hogg-Dube Syndrome. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2015 Sep 11. [Epub ahead of print]

急性心源性肺水腫における呼吸困難・血行動態・血漿カテコラミン濃度への
adaptive servo-ventilation の効果

研究分担者 葛西 隆敏

順天堂大学医学部 循環器内科学 准教授

順天堂大学大学院医学研究科 循環呼吸睡眠医学講座

研究要旨

Adaptive servo-ventilation は急性心源性肺水腫において交感神経活性を抑制する潜在的可能性を秘めているため、急性心源性肺水腫患者におけるその adaptive servo-ventilation の急性効果を評価することを目的とした研究を行った。急性心源性肺水腫の連続 58 症例を救急室におけるケアとして adaptive servo-ventilation を受けた群と酸素吸入のみを受けた群の二群を比較した。Visual analogue scale とバイタルサイン、血液ガス、血漿カテコラミン濃度を開始前と 1 時間後の値を比較し、さらにはその後の臨床イベント（30 日以内の死亡、7 日間以内、7 から 30 日以内の挿管、在院日数）も比較した。傾向性スコアを用いてマッチングした症例群における比較と、マッチング前の全症例における比較と二通りの集団で比較した。ASV 開始 1 時間で血漿カテコラミン濃度は有意に低下し、血圧、心拍数、呼吸数、動脈血炭酸ガス分圧も低下した。HCO₃ と pH は上昇した。傾向性スコアでマッチさせた集団では、visual analogue scale、収縮期血圧、血漿ドパミンが有意には低下した。臨床転帰に関しても両群間で優位な差は認めなかった。急性心源性肺水腫の患者においては、adaptive servo-ventilation を用いた救急室における初期治療は、臨床転帰に悪影響を及ぼさずに、血漿カテコラミン濃度を減少させ、呼吸困難、血行動態、バイタルサインや酸塩基平衡を改善した。このような adaptive servo-ventilation における呼吸困難の改善、血行動態の改善はおそらく交感神経活性の調節によるものであると考えられる。Adaptive servo-ventilation を用いた初期治療は急性心源性肺水腫の状態の早期の安定化に寄与する可能性がある。

A. 研究目的

Adaptive servo-ventilation は急性心源性肺水腫において交感神経活性を抑制する潜在的可能性を秘めているため、急性心源性肺水腫患者におけるその adaptive servo-ventilation の急性効果を評価することを目的とした研究を行った。

B. 研究方法

急性心源性肺水腫の連続 58 症例を救急室におけるケアとして adaptive servo-ventilation を受けた群と酸素吸入のみを受けた群の二群を比較した。Visual analogue scale とバイタルサイン、血液ガス、血漿カテコラミン濃度を開始前と 1 時間後の値を比較し、さらにはその後の臨床イベント（30 日以内の死亡、7 日間以内、7 から 30 日以内の挿管、在院日数）も比較した。傾向性スコアを用いてマッチ

ングした症例群における比較と、マッチング前の全症例における比較と二通りの集団で比較した。

Acute Cardiovasc Care. 2015; 4: 305-315.

C. 研究結果

ASV開始1時間で血漿カテコラミン濃度は有意に低下し、血圧、心拍数、呼吸数、動脈血炭酸ガス分圧も低下した。HCO₃とpHは上昇した。傾向性スコアでマッチさせた集団では、visual analogue scale、収縮期血圧、血漿ドパミンが有意には低下した。臨床転帰に関しても両群間で優位な差は認めなかった。

D. 考察

急性心源性肺水腫の患者においては、adaptive servo-ventilationを用いた救急室における初期治療は、臨床転帰に悪影響を及ぼさずに、血漿カテコラミン濃度を減少させ、呼吸困難、血行動態、バイタルサインや酸塩基平衡を改善した。このようなadaptive servo-ventilationにおける呼吸困難の改善、血行動態の改善はおそらく交感神経活性の調節によるものであると考えられる。

E. 結論

Adaptive servo-ventilationを用いた初期治療は急性心源性肺水腫の状態の早期の安定化に寄与する可能性がある

F. 研究発表

1. 論文発表

Nakano S, Kasai T, Tanno J, Sugi K, Muramatsu T, Senbonmatsu T, Nishimura S. The effect of adaptive servo-ventilation on dyspnoea, haemodynamic parameters and plasma catecholamine concentrations in acute cardiogenic pulmonary oedema. Eur Heart J

睡眠呼吸障害と糖尿病性網膜症の関係：糖尿病 136 症例における検討

研究分担者 葛西 隆敏

順天堂大学医学部 循環器内科学 准教授

順天堂大学大学院医学研究科 循環呼吸睡眠医学講座

研究要旨

睡眠呼吸障害は血糖コントロールを不良にすることが知られている。しかしながら、睡眠呼吸障害が糖尿病性微小血管障害特に糖尿病性網膜症に影響を与えるか否かは明らかではない。そのため、睡眠呼吸障害と糖尿病性網膜症の関係性を調べることを目的とした研究を行った。2010 年から 2012 年に睡眠検査を行った 136 名の糖尿病症例を睡眠呼吸障害の有無で二群に分類し、睡眠検査結果と糖尿病性網膜症に関連する各因子を比較検討した。眼底所見は経験のある眼科医によって評価された。多変量ロジスティック回帰分析により糖尿病性網膜症に独立して関係する因子を同定した。全 136 例のうち 99 例は網膜症の合併はなく、37 例に網膜症が合併していた。網膜症合併群では糖尿病罹患歴が有意に長く、高血圧や心血管疾患の合併も多かった。また、アンギオテンシン変換酵素阻害薬の内服率が高かった。多変量解析の結果、睡眠検査における最低 SO_2 値が低い症例ほど、また糖尿病罹患歴が長い症例ほど、心血管疾患を合併している症例ほど網膜症の合併に関連があった。糖尿病に合併した睡眠呼吸障害においては低酸素の度合いが糖尿病性網膜症の合併を起りやすくしている可能性が示され、おそらく VEGF などの因子を介する機序が影響しているものと推測された。睡眠検査における最低 SO_2 値は糖尿病性網膜症の合併と、糖尿病罹患歴や心血管疾患の合併などと独立した関係性を示した。睡眠呼吸障害における呼吸イベントの頻度ではなく、一過性低酸素の度合いが糖尿病性網膜症の合併に関連する結果であった。

A. 研究目的

睡眠呼吸障害は血糖コントロールを不良にすることが知られている。しかしながら、睡眠呼吸障害が糖尿病性微小血管障害特に糖尿病性網膜症に影響を与えるか否かは明らかではない。そのため、睡眠呼吸障害と糖尿病性網膜症の関係性を調べることを目的とした研究を行った。

2010 年から 2012 年に睡眠検査を行った 136 名の糖尿病症例を睡眠呼吸障害の有無で二群に分類し、睡眠検査結果と糖尿病性網膜症に関連する各因子を比較検討した。眼底所見は経験のある眼科医によって評価された。多変量ロジスティック回帰分析により糖尿病性網膜症に独立して関係する因子を同定した。

B. 研究方法

C. 研究結果

全 136 例のうち 99 例は網膜症の合併はなく、37