

バイオマーカー部会報告

研究分担者 服部登（広島大学教授）

研究要旨

バイオマーカー部会における活動目標は、KL-6 や SP-D・SP-A とは別の臨床的視点から間質性肺疾患の診療に資する新たなバイオマーカーを見出すことである。その候補として、間質性肺疾患のバイオマーカーとなりうる可能性が既に実証されている 1) ペリオスチン、2) 抗 myxovirus resistance-protein 1 (MX1) 抗体、3) Leucine rich 2 glycoprotein (LRG) の 3 つを選んだ。それぞれの臨床的意義についてはさらなる検討が必要となっていることから、バイオマーカー部会では、候補バイオマーカーが間質性肺疾患の診療にどのような臨床的意義を付与できるのかを明らかにする研究計画を策定し、それぞれの研究に参加できる施設を募集する予定としている。研究計画の概要は以下の通りである。

- 1) ペリオスチン：特発性肺線維症患者を用いた前向き試験で、ニンテダニブの治療効果予測バイオマーカーとなりうるかを検証する。
- 2) 抗 MX1 抗体：外科的肺生検標本を用いて、血清中の抗 MX1 抗体陽性、陰性症例間での組織学的所見の違いを検討する。
- 3) LRG：間質性肺疾患患者の血清中（可能なら BAL 液も）の LRG 濃度を測定し、鑑別診断能の有無、病勢との相関の有無を検討する。

A. 研究目的

間質性肺炎の分類が改定され、特発性間質性肺炎（idiopathic interstitial pneumonias: IIPs）の分類はさらに複雑化してきている¹。さらに近年の大きな進歩として特発性肺線維症（idiopathic pulmonary fibrosis: IPF）に対する治療法の出現²により、我々呼吸器科医は IPF をその他の IIPs と可能な限り分類する必要性に迫られている。

B・C. 研究方法と結果

- 1) 「ペリオスチン：特発性肺線維症患者を用いた前向き試験で、ニンテダニブの治療効果予測バイオマーカーとなりうるかを検証する」

ペリオスチンは、IL-4、IL-13、あるいは TGF- β によって産生誘導される細胞外マトリックス蛋白であり⁴、IPF の fibroblastic foci に強く発現する⁵。また、血清総ペリオスチンタンパク濃度が IPF の呼吸機能増悪の予測バイオマーカーであることが報告されている。近年、ペリオスチンの monomer を特異的に検出する ELISA キットが開発され、従来の oligomer を認識するキットに比べて、IPF 診断能、予後予測能に優れていることも明らかにされている⁶。

現時点において IPF に対する新規線維化剤ニンテダニブに対する適切な導入時期検討のためのコンパニオン診断薬は存在しないため、「ペリオスチンがニンテダニブの治療効果予測バイオマーカーとなり得る」という仮説のもとに全国 10 施設による前向き性能試験を進行中である。

対象は、実臨床での必要性からニンテダニブが開始となった 40 歳以上の IPF 症例であり、プレドニゾン換算 10 mg/日を超えるステロイド剤、免疫抑制剤、N-アセチルシステイン、ピルフェニドン、その

他の治療薬の投与例は除外としている。IPF の診断は国際ガイドラインに準じて行い、登録時は施設診断であるが症例収集後に判定医による中央診断を行う。症例追跡期間は 1 年間とし、ニンテダニブ開始前、6、12 か月後の保存血清を用いて総ペリオスチン濃度、および分画ペリオスチン濃度を ELISA 法で測定する。主要評価項目は、総ペリオスチン濃度、および分画ペリオスチン濃度と%FVC、%DLCO 低下速度との相関である。全国 10 施設が前向き試験にご参加頂き、目標症例数 100 例に対して、現在の登録症例数は 65 例（うち 4 例が脱落）である。本研究に興味があり、前向き試験に参加可能な施設を募集したい。

- 2) 「抗 MX1 抗体：外科的肺生検標本を用いて、血清中の抗 MX1 抗体有無症例間の組織学的所見の違いを検討する」

Myxovirus resistance-protein 1 (MX1) はインターフェロン関連蛋白の 1 つであり、生体の抗ウイルス作用に必須の蛋白である⁷。IIPs 症例においてその MX1 に対する血清自己抗体である抗 MX1 抗体が検出される例が認められ、その陽性例は 17.5%であり、抗 MX1 抗体と抗 ARS 抗体が同時に陽性となる症例は稀であった⁸。本研究では、IIPs の中に一定の割合で存在する抗 MX1 抗体陽性例を 1 つのサブグループとして扱って良いかを検討するため、抗 MX1 抗体陽性 IIPs 症例の臨床的、画像的、病理学的特徴を明らかにする目的で行う。

対象は、過去に外科的肺生検を行った、あるいは今後外科的肺生検が行われる成人 IIPs 症例で、保存血清を含めた血清が利用可能な症例とする。血清は株式会社医学生物学研究所（MBL）へ送付し、抗 MX1 抗体、抗 ARS 抗体測定を行う。登録頂いた各施設よ

り、臨床情報、画像情報 (DICOM データ)、病理スライドをそれぞれ解析施設へ集積し、ブラインド評価、統合解析を行う。多施設で 200 例の登録を予定している。

3) 「LRG：間質性肺疾患患者の血清中 (可能なら BAL 液も) の LRG 濃度を測定し、鑑別診断能の有無、病勢との相関の有無を検討する」

Leucine rich 2 glycoprotein (LRG) は関節リウマチ患者血清において治療後に速やかに低下する急性期タンパクとして見いだされた。LRG は炎症性疾患の血清で上昇するが、IL-6 に依存しないため CRP と異なる挙動を示し、現時点においては関節リウマチや気管支喘息症例におけるバイオマーカーとしての可能性が示されている^{9,10}。本研究に先立って行った予備的検討では、健常者と比較して間質性肺炎患者において血清 LRG が高値を示し、組織学的に LRG タンパクは肺胞上皮、細気管支上皮、血管内皮細胞などに発現していることが明らかとなった。以上の背景から本研究では血清および BAL 中 LRG の間質性肺炎のバイオマーカーとしての意義、特に IIPs サブタイプの鑑別能、病勢予測、治療予測、治療効果判定、予後予測などのバイオマーカーとしての有用性を検討する目的で行う。

対象は、共同研究全体としてびまん性肺疾患 200 症例を目標としている。臨床経過で必要な血清の採取および気管支鏡検査時の BAL 検体を利用し、臨床情報およびその後の臨床経過との関連性を明らかにする予定である。

D. 考察

今日の臨床において本邦で開発された間質性肺炎のバイオマーカー (KL-6, SP-D, SP-A) を用いることで、間質性肺炎自体をその他の一般的な細菌性肺炎や心原性肺水腫と鑑別すること自体は、ほぼ可能になったと言っても過言ではない。しかしながら、IIPs の中で IPF を選別するバイオマーカー、IPF 以外の IIPs のサブタイプに特異的なバイオマーカー、あるいは慢性過敏性肺臓炎 (chronic hypersensitivity pneumonitis: CHP) を IPF と選別するバイオマーカーは現時点では存在しない。すなわち、間質性肺炎に対する薬剤が開発されてきてその薬剤を正しい患者層に投与できない危険性が残されている。以上のことから、近年注目されている multidisciplinary discussion (MDD) システム³の成熟と並行しながら、IIPs のサブタイプや CHP 特異的なバイオマーカーの開発を進めていくことは、大変重要なミッションであると考えられ、本研究部会では KL-6, SP-D, SP-A とは別の臨床的視点から間質性肺疾患の診療に資する新たなバイオマーカーを見出すことを目的として活動してゆく予定である。

E. 文献

1 Travis WD, Costabel U, Hansell DM, King TE Jr,

Lynch DA, Nicholson AG, Ryerson CJ, Ryu JH, Selman M, Wells AU, Behr J, Bouros D, Brown KK, Colby TV, Collard HR, Cordeiro CR, Cottin V, Crestani B, Drent M, Dudden RF, Egan J, Flaherty K, Hogaboam C, Inoue Y, Johkoh T, Kim DS, Kitaichi M, Loyd J, Martinez FJ, Myers J, Protzko S, Raghu G, Richeldi L, Sverzellati N, Swigris J, Valeyre D. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: Update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013; 188: 733-48.

2 Raghu G, Rochweg B, Zhang Y, Garcia CA, Azuma A, Behr J, Brozek JL, Collard HR, Cunningham W, Homma S, Johkoh T, Martinez FJ, Myers J, Protzko SL, Richeldi L, Rind D, Selman M, Theodore A, Wells AU, Hoogsteden H, Schönemann HJ. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline: Treatment of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Update of the 2011 Clinical Practice Guideline. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015; 192: e3-19.

3 Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, Colby TV, Cordier JF, Flaherty KR, Lasky JA, Lynch DA, Ryu JH, Swigris JJ, Wells AU, Ancochea J, Bouros D, Carvalho C, Costabel U, Ebina M, Hansell DM, Johkoh T, Kim DS, King TE Jr, Kondoh Y, Myers J, Müller NL, Nicholson AG, Richeldi L, Selman M, Dudden RF, Griss BS, Protzko SL, Schönemann HJ. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011; 183: 788-824.

4 Izuhara K. Periostin: from pathogenesis to clinical application in allergic diseases. *Allergol Int.* 2014; 63: 141-142.

5 Okamoto M, Hoshino T, Kitasato Y, Sakazaki Y, Kawayama T, Fujimoto K, Ohshima K, Shiraishi H, Uchida M, Ono J, Ohta S, Kato S, Izuhara K, Aizawa H. Periostin, a matrix protein, is a novel biomarker for idiopathic interstitial pneumonias. *Eur Respir J.* 2011; 37: 1119-27.

6 Ohta S, Okamoto M, Fujimoto K, Sakamoto N, Takahashi K, Yamamoto H, Kushima H, Ishii H, Akasaka K, Ono J, Kamei A, Azuma Y, Matsumoto H, Yamaguchi Y, Aihara M, Johkoh T, Kawaguchi A, Ichiki M, Sagara H, Kadota JI, Hanaoka M, Hayashi SI, Kohno S, Hoshino T, Izuhara K.

- The usefulness of monomeric periostin as a biomarker for idiopathic pulmonary fibrosis. *PLoS One*. 2017; 12: e0174547.
- 7 Sadler AJ, Williams BR. Dynamiting viruses with MxA. *Immunity*. 2011; 35: 491-3.
- 8 Hamano Y, Kida H, Ihara S, Murakami A, Yanagawa M, Ueda K, Honda O, Tripathi LP, Arai T, Hirose M, Hamasaki T, Yano Y, Kimura T, Kato Y, Takamatsu H, Otsuka T, Minami T, Hirata H, Inoue K, Nagatomo I, Takeda Y, Mori M, Nishikawa H, Mizuguchi K, Kijima T, Kitaichi M, Tomiyama N, Inoue Y, Kumanogoh A. Classification of idiopathic interstitial pneumonias using anti-myxovirus resistance-protein 1 autoantibody. *Sci Rep*. 2017; 7: 43201.
- 9 Fujimoto M, Serada S, Suzuki K, Nishikawa A, Ogata A, Nanki T, Hattori K, Kohsaka H, Miyasaka N, Takeuchi T, Naka T. Leucine-rich 2 -glycoprotein as a potential biomarker for joint inflammation during anti-interleukin-6 biologic therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2015; 67: 2056-60.
- 10 Honda H, Fujimoto M, Miyamoto S, Ishikawa N, Serada S, Hattori N, Nomura S, Kohno N, Yokoyama A, Naka T. Sputum Leucine-Rich Alpha-2 Glycoprotein as a Marker of Airway Inflammation in Asthma. *PLoS One*. 2016; 11: e0162672.

F. 健康危険情報：なし

G. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

H. 知的財産権の出願・登録状況：なし