

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

バイオマーカー部会報告

研究分担者 服部登

研究要旨

【背景と目的】本部会の目的は、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。本部会ではその候補として、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) Leucine rich α 2 glycoprotein (LRG) についての検討を行ってきた。また今年度から 3) S100A4, Cold-inducible RNA-binding protein (CIRBP), 14-3-3 γ の 3 つを新規バイオマーカー候補として検討に加えることとなった。

【結果】候補バイオマーカーである 1) ペリオスチン, 2) LRG, および 3) S100A4・CIRBP・14-3-3 γ が間質性肺疾患の診療にどのような臨床的意義を持つ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登録を呼びかけてきた。ペリオスチン・LRG に関しては予定症例の登録を完遂し、登録後の観察期間に入っている。現在、観察期間を延長し、2021 年 9 月までの経過観察および臨床データの収集を継続し最終的な解析を行う予定としている。S100A4・CIRBP・14-3-3 γ に関してはすでに IPF の予後との関連を示されているが、現在は多施設共同研究として後向きに登録施設・登録症例を増やしている。今後は前向き研究の実現に向けても計画を策定中である。

【結論】本部会で選定した新規間質性肺炎マーカーは、臨床の現場における有用性が示されつつある。さらなる症例登録、研究結果の解析を通じた新たな知見が期待される。

A. 研究目的

特発性間質性肺炎（idiopathic interstitial pneumonias: IIPs）には、さまざまなサブタイプが存在しており、その確定診断は決して容易とは言えない¹。このように複雑な間質性肺炎の診療の中でも、IIPs で最も予後不良な「特発性肺線維症（idiopathic pulmonary fibrosis: IPF）の選別」や「IPF 患者の中でも進行性に肺機能の低下や急性増悪の早期発症をきたす予後不良例の選別」、および「抗線維化薬の有効性の予測に有用なバイオマーカーの開発および検証」は重要な課題である。これらの

課題が達成されれば臨床の現場に大きく貢献できる。そこで本部会では、新たなバイオマーカーの開発とその臨床的意義を見出すことを目的として活動してきた。

B. 研究方法

バイオマーカーとして 1) ペリオスチン, 2) LRG, および 3) S100A4, CIRBP, 14-3-3 γ に着目し、臨床的意義を明らかとするための臨床研究の立案および患者登録を行ってきた。症例登録期間が終了したのに関しては、当初予定していた観察期間を延長して臨床データの集積を継続しつつ、解析

が可能な症例について解析を行った。

C. 結果

1) 「ペリオスチン：特発性肺線維症におけるペリオスチンの検討」

本試験は、IPF 患者におけるニンテダニブの治療反応性予測・評価因子としてのペリオスチンの性能を実証することを目的とした前向き試験である。必要なサンプルサイズ 60 例以上 ($\alpha=0.05$, $\beta=0.2$) と想定し、脱落症例を考慮して登録症例数 100 例を目標として症例を集積した本試験では、症例登録期間である 2018 年 9 月 30 日までに全国 19 施設から 112 例を登録した。うち 5 例が HRCT 所見不適合のため登録不可であり、107 例を登録した。観察期間中に主としてニンテダニブ中止のため 12 例が脱落し、95 例が解析可能であった。95 例の患者の背景因子をまとめたのが図 1 である。主要評価項目は、血清ペリオスチン(総ペリオスチンおよび単量体ペリオスチン)濃度と FVC および DL_{CO} 変化率であり、副次評価項目は、1. 血清ペリオスチン値の変化量と FVC, DL_{CO} の 6 か月間変化率との相関, 2. ニンテダニブ治療に対するレスポonder vs ノンレスポonder (呼吸機能の低下率で定義)における血清ペリオスチン値の比較, 3. 血清ペリオスチン値+GAP スコアに組み合わせによる予後予測性能の解析, 4. OS, PFS (イベントは死亡, AE 発症, FVC 5%以上低下)の規定因子, 5. 過去の IPF バイオマーカーとしてのペリオスチン性能試験の抗線維化薬無投与例 (約 35 例)との比較解析, としていたが、当初予定していた観察期間では解析にただけのデータがえられないことが判明したため、観察期間を 2021 年 9

月まで延長し最終的な解析を予定している。

2) 「LRG：間質性肺疾患における Leucine rich $\alpha 2$ glycoprotein (LRG) の検討」

本試験では、びまん性肺疾患症例の血清および BALF 中 LRG 濃度と他の間質性肺炎バイオマーカー (KL-6, SP-A, SP-D, CRP, LDH) との比較検討を行うことで LRG の間質性肺疾患マーカーとしての有用性および臨床的意義を検証することを目的としている。

未治療びまん性肺疾患 (主に間質性肺炎) 症例 (急性増悪の場合は既治療も含む) を対象として、2017 年 11 月から 2020 年 9 月までで 120 例の登録を得た (高知大学 89 例/広島大学 31 例)。解析可能な検体数も急性期 37 例/慢性期 37 例を含む 74 例となった。昨年度の報告同様であるが、急性期 37 検体 (薬剤性 16 例/膠原病関連 10 例/CHP 5 例/放射線肺臓炎 2 例/その他 4 例) の解析では、血清および BALF 中 LRG 値は CRP と有意な正の相関を認め、慢性期の検体を用いても、血清 LRG 値は CRP と強い正の相関を認めた。CRP が上昇している例で LRG 高値例が目立つ結果であったため、CRP 3mg/dL 以下の比較的炎症所見の乏しい慢性期症例 29 検体 (IPF 5 例/膠原病関連 12 例/薬剤性 4 例/CHP 8 例) を用いて検討を行った結果、BALF 中 LRG 値は、 Δ FVC/year と有意な正の相関 ($r=0.74$, $P<0.001$) を認め、このような関連は血清 LRG 値と Δ FVC/year の間には認められなかった。現在、経過観察を継続し観察期間満了後に最終的な解析を行う予定である。

3) 「S100A4, CIRBP, 14-3-3 γ ：特発性肺線維症における S100A4, CIRBP, 14-3-3 γ

の検討」

S100A4, CIRBP, 14-3-3 γ の3つは浜松医科大学によって IPF 患者の血清を用いて行ったプロテオミクスでバイオマーカー候補として見出された。本試験はこれら3つが、IPF 患者における診断及び予後予測マーカーとして有用か評価するものである。これまでに S100A4, CIRBP, 14-3-3 γ ともに健康人と比較して IPF 患者の血中で有意な上昇を示し (図2), またその上昇は IPF 患者の予後の悪化と関連することが示されている (図3)。現在, 多施設での後向き・前向きの研究を行うため準備を進めている。後向き研究としては現在までに浜松医科大学・公立陶生病院・広島大学の3施設での症例登録を進めている。前向き研究についても計画中である。

D. 考察

ペリオスチン, LRG, S100A4, CIRBP, 14-3-3 γ の臨床研究の進捗状況を示した。ペリオスチンに関しては, ニンテダニブなどの抗線維化薬の登場により以前と比較して IPF を含めた線維性間質性肺炎の生命予後が延長していること, 加えてニンテダニブの治療効果とペリオスチンの関連を検討するためには十分な観察期間が必要であることから, さらに観察期間を延長し 2021 年 9 月 30 日までとした。引き続き, 登録症例の転帰 (①急性増悪発症日, ②死亡日, ③死因)を観察しつつ, 順次統計解析を行っていく予定である。

LRG に関しては, 昨年度の報告同様, 血清でなく BALF 中 LRG 値が肺機能の経時的変化と強い正相関を示したことから, 血清でなく BALF 中 LRG 値が将来の肺機能を予測する

マーカーである可能性がある。現在 LRG に関しても観察期間中であり, 最終的な結果次第ではさらなるコホートの拡大や研究の立案が検討される。

S100A4, CIRBP, 14-3-3 γ については健康者に比して IPF 患者の血中で上昇し, またこれらのマーカーが上昇している IPF 患者は予後不良であることもすでに示されている。特に CIRBP, 14-3-3 γ については現時点で2施設での検証がなされている。S100A4・CIRBP の受容体である RAGE(receptor for advanced glycation end product)や TLR (toll like receptor) 4については, そのシグナル伝達を調節する sRAGE (soluble RAGE) や HMGB1 (high mobility group box 1) が IPF の病態と関わっていることが他の施設からも報告されており, IPF の病態を理解する上で重要な役割を担っている可能性がある。さらなる症例の集積を行い, 臨床の現場における有用性の検証が期待される。

本研究部会で選定した新たなバイオマーカー候補によって, 抗線維化薬が使用可能となり新たなフェーズに入った間質性肺炎診療に対応できるマーカーが開発され, 臨床現場へのフィードバックがなされることが期待される。

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.

F. 健康危険情報：なし

G. 研究発表

1. 論文発表：

1: Yoshihara T, Nanri Y, Nunomura S, Yamaguchi Y, Feghali-Bostwick C, Ajito K, Murakami S, Mawatari M, Izuhara K. Periostin plays a critical role in the cell cycle in lung fibroblasts. *Respir Res.* 2020 Jan 30;21(1):38.

2: Nanri Y, Nunomura S, Terasaki Y, Yoshihara T, Hirano Y, Yokosaki Y, Yamaguchi Y, Feghali-Bostwick C, Ajito K, Murakami S, Conway SJ, Izuhara K. Cross-Talk between Transforming Growth Factor- β and Periostin Can Be Targeted for Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2020 Feb;62(2):204-216.

3: Katoh S, Matsumoto N, Tanaka H, Yasokawa N, Kittaka M, Kurose K, Abe M, Yoshioka D, Shirai R, Nakazato M, Kobashi Y. Elevated levels of periostin and TGF- β 1 in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with idiopathic eosinophilic pneumonia.

Asian Pac J Allergy Immunol. 2020 Sep;38(3):208-213.

4: Akiyama N, Hozumi H, Isayama T, Okada J, Sugiura K, Yasui H, Suzuki Y, Kono M, Karayama M, Furuhashi K, Enomoto N, Fujisawa T, Inui N, Nakamura Y, Suda T. Clinical significance of serum S100 calcium-binding protein A4 in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology.* 2020 Jul;25(7):743-749.

5: Yamaguchi K, Iwamoto H, Mazur W, Miura S, Sakamoto S, Horimasu Y, Masuda T, Miyamoto S, Nakashima T, Ohshimo S, Fujitaka K, Hamada H, Hattori N. Reduced endogenous secretory RAGE in blood and bronchoalveolar lavage fluid is associated with poor prognosis in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res.* 2020 Jun 11;21(1):145.

6: Yamaguchi K, Iwamoto H, Sakamoto S, Horimasu Y, Masuda T, Miyamoto S, Nakashima T, Ohshimo S, Fujitaka K, Hamada H, Hattori N. Serum high-mobility group box 1 is associated with the onset and severity of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology.* 2020 Mar;25(3):275-280.

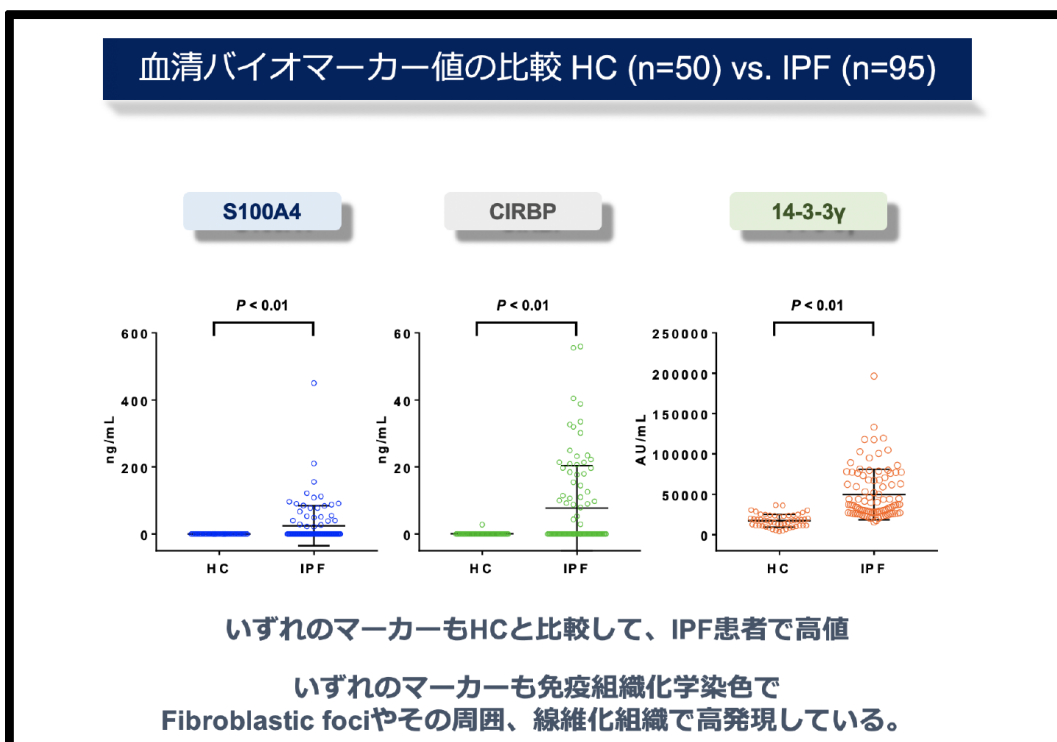
2. 学会発表：なし

H. 知的財産権の出願・登録状況：なし

(図1) 患者背景 (ペリオスチンを測定)

		Range			Range
Number	95		GAP stage (0/1/2/3)	29/52/9	
No. of SLB undergo	19		Japanese severity grade (I / II / III / IV)	47/7/18/12	
Histological diagnosis					
Definite / Probable UIP	14/5		MRC-grade (0/1/2/3/4)	13/41/26/10/0	
Age	72	46-81	CAT	14	3-33
Gender Male	82 (91.1%)		Blood data		
Smoker	78 (86.7%)		LDH(IU/l)	216.0	125.0-363.0
Pack・year	30	0-160	KL-6 (IU/ml)	886.5	122.0-3885.0
Sympton					
Dyspnea	68 (75.6%)		SP-D (ng/mL)	272.0	38.8-884.0
Cough	71 (78.9%)		SP-A (ng/mL)	66.0	15.3-567.0
Sputa	23 (25.6%)		Air blood gas		
Weight loss	8 (8.9%)		PaO ₂ (torr)	81.5	54.4-107.8
Fever	1 (1.1%)		PaCO ₂ (torr)	40.7	27.8-59.9
Physical finding					
Fine crackles	86 (95.6%)		Pulmonary function test		
Clubbed finger	16 (17.8%)		%FVC (%)	70.3	32.7-108.6
			%D _{LCO} /VA	79.0	5.9-141.4
			Six-minutes walk test		
			Minumum SpO ₂ (%)	88.0	66.0-97.0
			Distance (m)	422.0	97.0-662.0

(図2) 血清マーカーの比較 IPF vs. Healthy Control



(図3) IPF患者の予後と血清マーカーの関連

