

令和元年6月19日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09541

研究課題名(和文) 間質性肺炎急性増悪の人種差および好中球転写因子を用いた多角的病態解明と治療開発

研究課題名(英文) Multifaceted approach to the pathogenesis and novel treatments for acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis based on the ethnic difference and neutrophilic transcription factor

研究代表者

大下 慎一郎 (Ohshimo, Shinichiro)

広島大学・医歯薬保健学研究科(医)・准教授

研究者番号：50508132

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： 間質性肺炎患者の血清を用いて解析し、血清ヘリコバクター・ピロリ抗体価が高値である患者は、高率に間質性肺炎急性増悪を発症することを証明した。

上記に続き、口腔内細菌叢による潜在感染症の関与について解析を継続した。主要な口腔内常在菌16種類の抗体価を解析し、急性増悪発症に促進的に作用する細菌と防御的に作用する細菌がいることを証明した。

C57BL/6マウスの間質性肺炎モデルを作製し、real time PCRを用いて好中球の転写因子CCAAT/enhancer binding protein(C/EBP)の機能を解析した。しかし、C/EBPと間質性肺炎には相関を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

特発性肺線維症の急性増悪発症率には人種差がある可能性が示唆されてきたが、それを科学的に証明した研究はこれまで存在しなかった。本研究は、日本人とドイツ人の特発性肺線維症患者コホートを用いて、同一の研究者が同一の診断基準で評価をした点で、精度・信頼性が高いと考えられる。本研究の成果は、人種差の一因として、潜在感染症の関与があることを初めて明らかにした点で学術的意義が高い。しかもこれらの潜在感染症は日常生活において認識されることが乏しいため、これらの潜在感染症を治療することで、急性増悪発症率を抑えられる可能性を示唆した点で社会的意義も大きい。

研究成果の概要(英文)： Patients with increased serum levels of Helicobacter pylori demonstrated an increased occurrence of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). Multiple analyses of 16 oral indigenous bacteria demonstrated that several bacteria promote acute exacerbation of IPF, whereas the others inhibit acute exacerbation. Animal models of interstitial pneumonia (C57BL/6 mice) and the real time PCR demonstrated no significant function of CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) in interstitial pneumonia.

研究分野： 救急医療，集中治療，急性呼吸不全，間質性肺炎

キーワード： 特発性肺線維症 急性呼吸不全 人種差 救急医療 集中治療 潜在感染症 好中球機能

1. 研究開始当初の背景

特発性肺線維症 (IPF) は慢性進行性の線維性呼吸器疾患であり、その平均生存期間は 3~5 年と短い。さらに、急速進行性に呼吸状態が増悪し、極めて短期間に死亡に至る病態 (急性増悪) が起こりうることも知られている。また、私たちは 2006 年からドイツ (デュイスブルク・エッセン大学 ドイツ肺センター (主任教授: Ulrich Costabel)) と継続して行っている国際共同研究において、IPF 急性増悪が、欧州人と比較して日本人に好発することを見出してきた (Ohshimo S. American Thoracic Society 2013)。ゆえに、その病態解明は、わが国が率先して行うべき重要課題であり、さらには IPF の新たな治療法開発にも重要な役割を担っていると考えられる。

私たちの研究チームは、これまで日本人・ドイツ人の間質性肺炎患者の血清・ゲノム・肺組織を継続して収集してきており、臨床データ・呼吸機能検査・胸部高分解能 CT とともにデータベースの構築を行い、現在も定期的にアップデートしている。現在までに集積されたデータは、日本人・ドイツ人いずれも各 1,000 症例以上にのぼる。これらのコホートをを用いて、私たちはこれまで、臨床像・血清タンパク・遺伝子・SNP など、様々な因子が IPF の発症に関与していることを証明してきた。

しかし、これまでに明らかにした危険因子で補正してもなお、人種差は IPF 急性増悪の危険因子であることが分かり、このことから、いまだ同定できていない危険因子が残っていると推測された。過去の研究では、この他に感染、大気汚染、胃食道逆流、物理的刺激など複数の因子が危険因子である可能性が示唆されているが、いずれも十分には証明されていない。

2. 研究の目的

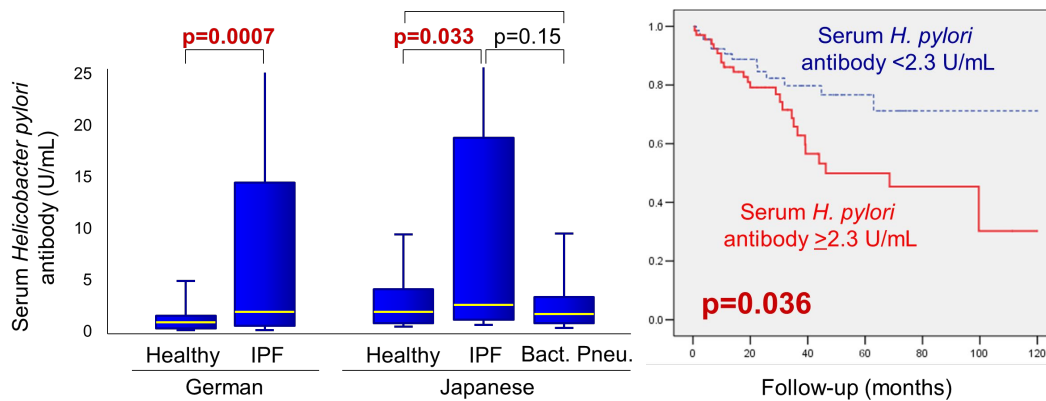
本研究の目的は、日独の間質性肺炎患者の血清・ゲノム・肺組織を用いて、IPF 急性増悪の人種差における原因遺伝子・タンパクの同定に加え、新たに好中球転写因子 C/EBP β 炎症制御に着眼し、より多角的な病態解明をすること、IPF 急性増悪に対する多角的治療法開発の基礎的検討をすることである。

3. 研究の方法

- (1) すでに収集しデータベース化している日本・ドイツの間質性肺炎コホートの中から、IPF 患者を抽出する。そして、現在までの急性増悪発症率・死亡率を追跡調査し、発症数・死亡数をアップデートする。
- (2) C57BL/6 マウスを用いて間質性肺炎モデルを作製し、摘出したマウス肺組織・気管支肺胞洗浄液中における好中球の転写因子 CCAAT/enhancer binding protein(C/EBP)の発現を、real time PCR を用いて解析する。
- (3) siRNA を用いて C/EBP 発現をブロックし、間質性肺炎発症を抑制しうることを検証する。
- (4) 上記検討が順調に進まなかった場合、日本人・ドイツ人の IPF 患者血清・ゲノムを用いて、潜在感染症に関与する因子の発現を測定し、急性増悪発症数との相関を解析する。

4. 研究成果

- (1) 本研究期間中に、ドイツと複数回の連携を取り、日本人・ドイツ人の IPF 患者における急性増悪発症率・死亡率のデータベースをアップデートした。その中から確定診断がなされており、治療・呼吸機能・生命予後などの臨床情報がすべて揃っているコホートを抽出した。以後の検討には、IPF 患者 142 名 (日本人 65 名、ドイツ人 77 名)、健康人 264 名 (日本人 100 名、ドイツ人 164 名)、細菌性肺炎患者 31 名 (すべて日本人) のコホートを使用することにした。
- (2)(3) C57BL/6 マウスにプレオマイシンを投与し、間質性肺炎動物モデルを作成した。気管支肺胞洗浄を行った後、肺を摘出し、気管支肺胞洗浄液中・肺組織中における、C/EBP の発現解析 (real time PCR)・ELISA を行った。しかし、いずれの検討においても、C/EBP family の発現は、健康マウスと比較して有意差を認めず、IPF における病態意義は不明であった。
- (4) このため、IPF における潜在感染症の関与を検討することとした。具体的には、上記血清を用いて、日本人高齢者に有意に感染率の高い *Helicobacter pylori* 抗体価を評価した。その結果、日本人・ドイツ人いずれにおいても、健康人に比べ IPF 患者群で、*H. pylori* 抗体価が高いことが明らかになった。ROC 曲線を用いて、血清 *H. pylori* 抗体価 2.3 U/mL をカットオフ値とすると、高値群は低値群に比べ有意に効率的に急性増悪を発症した (下図)。しかし、人種ごとに分類して同検討を行うと、いずれの人種においても有意差は得られなかった。患者数が十分でなかったため検出力が不十分であった可能性がある。多変量解析では、血清 *H. pylori* 抗体価 2.3 U/mL 以上は、IPF 急性増悪の独立した危険因子であることが分かった (ハザード比 2.53, 95%信頼区間 1.23-5.21, $p=0.012$)。この他に、低肺活量、ステロイド使用も IPF 急性増悪の危険因子であった。特筆すべきは、これらの因子で補正してもなお、日本人という人種は独立した危険因子であったことである (ハザード比 5.08, 95%信頼区間 2.46-10.4), $p<0.0001$)。つまり、日本人種にはまだ同定できていない危険因子が残っていることを示唆していると言える。



続いて、口腔内細菌叢 16 種についても同様の検討を行った。16 種類の口腔内細菌は、日本人の口腔に高頻度に認められる細菌叢から選択した。その結果、Porphyromonas (type III, IV, V), Fusobacterium は、日本人 IPF 患者群のみで高頻度に検出され、日本人健常者・肺炎患者、ドイツ人 IPF 患者・健常者と比べて有意に高値であった。抗体価が高値であると IPF 急性増悪の発症率が高くなる細菌 (Porphyromonas type I, III, IV, V, Tannerella, Campylobacter) が同定された。その一方で、抗体価が高値であると IPF 急性増悪の発症率が低くなる細菌 (Aggregatibacter, Prevotella Fusobacterium) も同定された。これらの細菌叢の中で、Tannerella と Aggregatibacter が高値である患者は、多変量解析で有意に高率に急性増悪を発症することが明らかになった (ハザード比 2.23, p=0.03)。

これらの結果から、潜在感染症は IPF 急性増悪の危険因子になりうるということが証明された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 55 件)

1. Yamaga S, Ohshimo S, Shime N. Potential confounders for the effect of high-flow nasal cannula oxygen therapy. Crit Care. (査読有). 2019; 23, (1): 17.
2. Lavonas EJ, Ohshimo S, Nation K, et al. Advanced airway interventions for paediatric cardiac arrest: A systematic review and meta-analysis. Resuscitation. (査読有). 2019; 138: 114-28.
3. Kyo M, Hosokawa K, Ohshimo S, et al. High serum potassium level is associated with successful electrical cardioversion for new-onset atrial fibrillation in the intensive care unit: A retrospective observational study. Anaesthesia and intensive care. (査読有). 2019; 47, (1): 52-59.
4. Khemani RG, Smith L, Lopez-Fernandez YM, Ohshimo S, et al. Paediatric acute respiratory distress syndrome incidence and epidemiology (PARDIE): an international, observational study. The Lancet Respiratory medicine. (査読有). 2019; 7, (2): 115-28.
5. Jensen JL, Ohshimo S, Cassan P, et al. Immediate Interventions for Presyncope of Vasovagal or Orthostatic Origin: A Systematic Review. Prehospital emergency care : official journal of the National Association of EMS Physicians and the National Association of State EMS Directors. (査読有). 2019: 1-63.
6. Buick JE, Wallner C, Aickin R, Ohshimo S, et al. Paediatric targeted temperature management post cardiac arrest: A systematic review and meta-analysis. Resuscitation. (査読有). 2019; 139: 65-75.
7. Bessa V, Bonella F, Ohshimo S, et al. Changes in serum KL-6 levels are associated with the development of chronic lung allograft dysfunction in lung transplant recipients. Transplant immunology. (査読有). 2019; 52: 40-44.
8. Yamaguchi K, Iwamoto H, Sakamoto S, Ohshimo S, et al. Serial measurements of KL-6 for monitoring activity and recurrence of interstitial pneumonia with anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibody: A retrospective cohort study. Medicine. (査読有). 2018; 97, (49): e13542.
9. Yamaga S, Ohshimo S, Shime N, et al. Confounders for interpreting the benefit of a biomarker-based strategy in early discontinuation of empirical antifungal therapy. Intensive care medicine. (査読有). 2018; 44, (3): 399-400.
10. Tanabe Y, Ohshimo S, Shime N. Potential factors affecting lung inhomogeneity in acute respiratory distress syndrome. Intensive care medicine. (査読有). 2018; 44, (1): 125-26.
11. Tanabe Y, Ohshimo S, Shime N. Focusing on Risk Factors of Cardiac Arrest During

- Intubation in ICU Again. *Critical care medicine*. (査読有). 2018; 46, (11): e1082.
12. Soar J, Donnino MW, Maconochie I, **Ohshimo S**, et al. 2018 International Consensus on Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Science With Treatment Recommendations Summary. *Resuscitation*. (査読有). 2018; 133: 194-206.
 13. Soar J, Donnino MW, Maconochie I, **Ohshimo S** et al. 2018 International Consensus on Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Science With Treatment Recommendations Summary. *Circulation*. (査読有). 2018; 138, (23): e714-e30.
 14. **Ohshimo S**, **Shime N**, Nakagawa S, et al. Comparison of extracorporeal membrane oxygenation outcome for influenza-associated acute respiratory failure in Japan between 2009 and 2016. *Journal of intensive care*. (査読有). 2018; 6: 38.
 15. **Ohshimo S**, Sadamori T, **Shime N**. The western Japan chaotic rainstorm disaster: a brief report from Hiroshima. *Journal of intensive care*. (査読有). 2018; 6: 82.
 16. **Ohshimo S**, Costabel U, **Shime N**. An emerging frontier in the treatment of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiratory investigation*. (査読有). 2018; 56, (2): 97-99.
 17. Nakahashi S, Imai H, Imanaka H, **Ohshimo S**, et al. Ventilator-associated events: prevalence and mortality in Japan. *Journal of thoracic disease*. (査読有). 2018; 10, (12): 6942-49.
 18. Masuda T, Hirano C, Horimasu Y, **Ohshimo S**, et al. The extent of ground-glass attenuation is a risk factor of chemotherapy-related exacerbation of interstitial lung disease in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. (査読有). 2018; 81, (1): 131-39.
 19. Kyo M, **Ohshimo S**, **Shime N**. Should We Abandon Airway Pressure Release Ventilation in Pediatric Acute Respiratory Distress Syndrome? *American journal of respiratory and critical care medicine*. (査読有). 2018; 198, (11): 1459-60.
 20. Kikutani K, **Ohshimo S**, **Shime N**, et al. Potential confounders affecting the reintubation rate : Discussion on "Reconnection to mechanical ventilation for 1 h after a successful spontaneous breathing trial reduces reintubation in critically ill patients: a multicenter randomized controlled trial". *Intensive care medicine*. (査読有). 2018; 44, (4): 542-43.
 21. Kida Y, **Ohshimo S**, Kyo M, et al. Rapid-onset plasma leakage of extracorporeal oxygenation membranes possibly due to hyperbilirubinemia. *Journal of artificial organs : the official journal of the Japanese Society for Artificial Organs*. (査読有). 2018; 21, (4): 475-78.
 22. Iwasaki Y, **Ohshimo S**, **Shime N**. Accurate Quantification of Pleural Effusion and Cofactors Affecting Weaning Failure. *Anesthesiology*. (査読有). 2018; 128, (3): 678-79.
 23. Iwasaki Y, **Ohshimo S**, **Shime N**. Does Dysphagia After Extubation Really Increase Mortality? *Critical care medicine*. (査読有). 2018; 46, (7): e726-e27.
 24. Ishii J, **Ohshimo S**, **Shime N**, Lamontagne F, Guyatt G, Asfar P. Target blood pressure for septic and vasodilatory shock: what is optimal? *Intensive care medicine*. (査読有). 2018; 44, (4): 548-49.
 25. Ishii J, **Ohshimo S**, **Shime N**. Is Oxygenation Really an Intrinsic Predictive Factor of Mortality in Patients Undergoing Extracorporeal Life Support? *Critical care medicine*. (査読有). 2018; 46, (2): e181-e82.
 26. Hamai K, Iwamoto H, **Ohshimo S**, et al. Use of proton pump inhibitors is associated with increased mortality due to nosocomial pneumonia in bedridden patients receiving tube feeding. *Geriatrics & gerontology international*. (査読有). 2018; 18, (8): 1215-18.
 27. Yamaguchi K, Iwamoto H, Sakamoto S, **Ohshimo S**, et al. AGER rs2070600 polymorphism elevates neutrophil-lymphocyte ratio and mortality in metastatic lung adenocarcinoma. *Oncotarget*. (査読有). 2017; 8, (55): 94382-92.
 28. Yamaguchi K, Iwamoto H, Horimasu Y, **Ohshimo S**, et al. AGER gene polymorphisms and soluble receptor for advanced glycation end product in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology*. (査読有). 2017; 22, (5): 965-71.
 29. Tanabe Y, **Ohshimo S**, **Shime N**. Outcome Prediction for Acute Respiratory Distress Syndrome: Are the Current Three Variables Really Optimal? *Critical care medicine*. (査読有). 2017; 45, (2): e237-e38.
 30. Shimatani T, **Ohshimo S**, **Shime N**. Next Step to Understanding Subphenotypes of Acute Respiratory Distress Syndrome. *American journal of respiratory and critical care medicine*. (査読有). 2017; 196, (6): 795-96.
 31. **Ohshimo S**, Guzman J, Costabel U, Bonella F. Differential diagnosis of granulomatous lung disease: clues and pitfalls: Number 4 in the Series "Pathology for the clinician" Edited by Peter Dorfmüller and Alberto Cavazza. *European respiratory review : an*

- official journal of the European Respiratory Society. (査読有). 2017; 26, (145).
32. Ohki S, **Ohshimo S**, **Shime N**. Potential Confounders of the Accuracy and Reliability of Delirium Assessment Tools. *Critical care medicine*. (査読有). 2017; 45, (1): e114.
 33. Ohki S, **Ohshimo S**, **Shime N**. Does enhanced antibiotic de-escalation really have no benefit in the ICU? *Crit Care*. (査読有). 2017; 21, (1): 270.
 34. Miyoshi H, **Ohshimo S**, **Shime N**. Is Higher Cerebral Oxygen Saturation Really Predictive of Favorable Neurologic Outcome After In-Hospital Cardiac Arrest? *Critical care medicine*. (査読有). 2017; 45, (4): e468-e69.
 35. Long X, He X, **Ohshimo S**, et al. Serum YKL-40 as predictor of outcome in hypersensitivity pneumonitis. *The European respiratory journal*. (査読有). 2017; 49, (2).
 36. Kyo M, **Ohshimo S**, **Shime N**. Confounders Affecting the Prognosis in Patients With Acute Decompensated Heart Failure Who Underwent Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Critical care medicine*. (査読有). 2017; 45, (12): e1309.
 37. Kyo M, **Ohshimo S**, Ota K, et al. Combined rupture of left ventricular free wall and pericardium. *Intensive care medicine*. (査読有). 2017; 43, (12): 1858-59.
 38. Kikutani K, **Ohshimo S**, **Shime N**. Potential Confounders of Procalcitonin-Guided Antibiotic Therapy for Sepsis. *Critical care medicine*. (査読有). 2017; 45, (12): e1310-e11.
 39. Kida Y, **Ohshimo S**, **Shime N**. Optimal Cutoff Value for Lung Injury Prediction Score and Potential Confounders for Identifying the Risk of Developing Acute Respiratory Distress Syndrome. *Critical care medicine*. (査読有). 2017; 45, (6): e624-e25.
 40. Horimasu Y, Ishikawa N, Taniwaki M, **Ohshimo S**, et al. Gene expression profiling of idiopathic interstitial pneumonias (IIPs): identification of potential diagnostic markers and therapeutic targets. *BMC medical genetics*. (査読有). 2017; 18, (1): 88.
 41. Horimasu Y, Ishikawa N, Tanaka S, **Ohshimo S**, et al. MUC1 in lung adenocarcinoma: cross-sectional genetic and serological study. *BMC cancer*. (査読有). 2017; 17, (1): 263.
 42. Hirano C, **Ohshimo S**, Horimasu Y, et al. FAM13A polymorphism as a prognostic factor in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiratory medicine*. (査読有). 2017; 123: 105-09.
 43. Hashimoto S, Sanui M, Egi M, **Ohshimo S**, et al. The clinical practice guideline for the management of ARDS in Japan. *Journal of intensive care*. (査読有). 2017; 5: 50.
 44. Bonella F, Long X, He X, **Ohshimo S**, et al. Serum YKL-40 is a reliable biomarker for pulmonary alveolar proteinosis. *Respirology*. (査読有). 2017; 22, (7): 1371-78.
 45. **Ohshimo S**, Sadamori T, Tanigawa K. Innovation in Analysis of Respiratory Sounds. *Annals of internal medicine*. (査読有). 2016; 164, (9): 638-9.

【学会発表】(計 127 件)

1. **Ohshimo S**, Nishi H, Hosokawa K, et al. Imbalance in the oral bacterial flora as a risk factor for acute exacerbation in idiopathic pulmonary fibrosis. *European Respiratory Society International Congress, 2019*.
2. Watanabe M, Horimasu Y, **Ohshimo S**, et al. Clinical utility of CCL15 as a prognostic biomarker for hypersensitivity pneumonitis. *European Respiratory Society International Congress, 2019*.
3. Horimasu Y, **Ohshimo S**, Yamaguchi K, et al. Fine crackles quantitative value can help the diagnosis of interstitial lung diseases – Clinical utility of the innovative analyzing system of respiratory sounds. *European Respiratory Society International Congress, 2019*.
4. **Ohshimo S**, Kida Y, Kyo M, et al. Modified GAP stage as a predictor of acute exacerbation in idiopathic pulmonary fibrosis. *European Respiratory Society International Congress, 2018*.
5. **Ohshimo S**, Kida Y, Kyo M, et al. Extracorporeal membrane oxygenation for the treatment of acute exacerbation of interstitial lung diseases. *European Respiratory Society International Congress, 2017*.
6. **Ohshimo S**, Nishi H, Horimasu Y, et al. Helicobacter pylori as a risk factor for acute exacerbation in idiopathic pulmonary fibrosis. *American Thoracic Society 2017 International Conference, 2017*.

【図書】(計 42 件)

1. **大下慎一郎**, 他. メディカ出版. みんなの呼吸器 Respica. 間質性肺炎の呼吸管理とケア コンプリートガイド:挿管人工呼吸管理・ECMO, 2019 (in press).
2. **大下慎一郎**, 他. 医学書院. 呼吸器ジャーナル. 非侵襲的呼吸管理の実践講座—酸素療法からハイフロー・NIVまで症例で学ぶ: 肺炎・ARDS, 2019, 174 頁.

3. **大下慎一郎**, 他. メディカルレビュー社. THE LUNG Perspectives. 急性期の呼吸器管理を検証する: 背景肺疾患と呼吸管理法, 2018, 108 項.

【産業財産権】

出願状況 (計 2 件)

名称: 信号処理装置及び方法、並びにコンピュータプログラム及び記録媒体

発明者: 谷川攻一, 大下慎一郎, 貞森拓磨

権利者: 谷川攻一, 大下慎一郎, 貞森拓磨

種類: 特許

番号: 特願 2017-205315

出願年: 2017 年

国内外の別: 国内

名称: 異常音発生個所の可視化表現手法

発明者: 貞森拓磨, 大下慎一郎, 讃岐美智義, 儀賀普嗣

権利者: 貞森拓磨, 大下慎一郎, 讃岐美智義, 儀賀普嗣

種類: 発明

番号: 発明届番号 13085

出願年: 2018 年

国内外の別: 国内

取得状況 (計 0 件)

該当なし

【その他】

ホームページ等

<https://home.hiroshima-u.ac.jp/kyukyu/staff.html>

<https://research-er.jp/researchers/view/541651>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 志馬 伸朗

ローマ字氏名: SHIME, Nobuaki

所属研究機関名: 広島大学

部局名: 医歯薬保健学研究科 (医)

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 00260795

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 濱田 泰伸

ローマ字氏名: HAMADA, Hironobu

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。