

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09563

研究課題名(和文)薬剤性肺障害における内皮細胞由来EMPの臨床マーカーとしての可能性探索

研究課題名(英文) Exploratory study on endothelial microparticles (EMPs) as possible markers of interstitial lung diseases.

研究代表者

臼杵 二郎 (Usuki, Jiro)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：80318477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：血中に放出された血管内皮細胞由来の微小粒子(EMP)測定の意味が、さまざまな疾患で報告されている。そこで我々は、特発性間質性肺炎や薬剤性肺障害におけるEMP測定の意味について臨床研究を行った。特発性間質性肺炎においては、登録時のEMPの中のPECAM-1陽性EMPやMCAM陽性EMPが、その6か月後の呼吸機能の低下と相関することを認めた。さらに登録時のEMPの総数が、1年後の呼吸機能低下と相関することも示唆された。薬剤性肺障害においても、特定の種類のEMPの急性期と回復期における変動が見られた。このようにEMP測定の実臨床的有用性について、基礎的知見を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果から、肺の傷害を生じる疾患において、肺の血管を構成する細胞(内皮細胞)から放出され血液中を流れる小さな粒子(EMP)を解析することで、慢性間質性肺炎の予後を占うことができる可能性が示唆された。さらにその粒子の種類により、臨床的な意味合いが異なるかもしれない。今後症例数を増やして研究を行うための、基礎的な知見を得ることができた。また薬剤による肺障害においても、同様にEMPを調べることで、傷害の程度や予後を判断する材料になると期待される。

研究成果の概要(英文)：In interstitial lung diseases, the importance of endothelial microparticles (EMPs) from circulating peripheral blood has not been understood. We investigated the clinical role of EMPs from patients with idiopathic interstitial pneumonias. We found that the number of PECAM-1-positive EMP at the time of registration was correlated with the decrease of pulmonary function at 6 months later. The total number of EMPs at the time of registration was also correlated with the decrease of pulmonary function at 1 year later. In cases with drug-induced lung injury, a specific kind of EMPs was increased during acute phase and decreased during recovery phase. We could provide basic knowledge of EMPs as a possible clinical marker in interstitial lung diseases.

研究分野：呼吸器内科学、特にびまん性肺疾患・間質性肺炎における病態解明と治療応用

キーワード：血管内皮細胞微小粒子(EMP) 薬剤性肺障害 間質性肺炎 特発性肺線維症 バイオマーカー 予後因子

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

特発性間質性肺炎(IIPs)をはじめとするさまざまな間質性肺炎・肺線維症において、主たる病態は肺胞上皮細胞の傷害とその修復不全であるとこれまでは考えられてきた。しかしながら、肺胞壁の重要な構成成分であり、肺胞傷害においては上皮細胞と同様に影響を受けると考えられる血管内皮細胞の役割については、十分に検討がなされていない。その大きな理由は、臨床的に測定することのできる血管内皮細胞マーカーが乏しいことにあると考えられる。

血管内皮細胞微小粒子(EMPs)は内皮細胞の細胞膜に由来する径0.1~1.5 μ mの粒子であり、内皮細胞の傷害やアポトーシスに伴い血中に遊離されると考えられている。EMPsの意義については主に循環器疾患において報告されているが、呼吸器疾患ではCOPDなどに限られている^{1),2)}。間質性肺炎におけるEMPsに関しては、ほとんど解明されていないのが現状である。

2. 研究の目的

薬剤性肺障害およびIIPs(特に慢性線維化性IIPs)において血中EMPsを測定し、臨床的な所見と比較検討し、肺病変の病態とEMPsの関連を探索することを主な目的とする。さらにEMPsの臨床マーカーとしての可能性を検討するための基礎的なデータ収集も、本研究の目的である。

3. 研究の方法

IIPsのうち、IPFおよびI-NSIPの症例に対し、同意を得た後、登録時および6か月後、12か月後に採血および臨床指標について観察を行う。EMPs以外の観察項目として、胸部X線、呼吸機能検査、血清マーカー検査、酸素飽和度測定、息切れの評価(mMRCスコア)を評価する。胸部CTならびに動脈血ガス分析は、少なくとも毎年1回実施する。さらに急性増悪症例では、増悪診断時およびその後約1週間毎に採血を行い、血中EMPsの変化について観察する。気腫合併間質性肺炎(CPFE)についても、IPFやI-NSIPに該当するものは間質性肺炎症例として対象に含む。

薬剤性肺障害については、「薬剤性肺障害の診断・治療の手引き」に基づき臨床的に診断した症例を対象とし、同意を得た後に採血を行う。その後約1週間毎に寛解と診断するまで採血を行い、血中EMPsの変化について観察する。

EMPsの測定:空腹時にクエン酸の入った採血管に3mlの採血を行い、2段階の遠心分離により乏血小板血漿を作成し、凍結保存する。これを外部委託業者に送付し、4種類の血管内皮マーカーに対する抗体(VE-cadherin(CD144), PECAM-1(CD31), E-selectin(CD62E), MCAM(CD146))を反応させ、フローサイトメーターにより測定する。血小板のコンタミネーションを避けるため、二重染色にてCD41a陰性のゲートをかける。定量化のため、calibration beadsを混ぜた上で測定する。

前向き観察研究として施行した。IIPsについては、6か月、12か月後の肺活量(VC)変化(VC)と各EMPsおよびEMPsの総数との相関を主な評価項目とする。拡散能の経時的変化(DLco)と各EMPsおよびEMPsの総数との相関を副次項目として解析を行う。従来の血清マーカー(KL-6, SP-D, LDH)や心不全マーカー(BNP)、画像所見、酸素飽和度、息切れのスコア(mMRCスコア)を評価し、EMPs値の変化との相関を統計学的に解析する。またIIPs急性増悪例および薬剤性肺障害例については、日常臨床で観察する臨床的所見とEMPsの変化について検討する。

4. 研究成果

(1) 慢性線維化性IIPsについては、計12例から参加同意を取得した。このうち1例は、途中で同意を撤回された。また1例は現喫煙者であり、規定により解析から除外した。残りの10例が解析の対象となった。男女比は8:2、平均年齢は69.6歳。喫煙歴が全くないのは1例のみであり、合併症として1例に比較的コントロールされた糖尿病を認めた。IPFの予後因子とさ

れる GAP score は 2~6 に分布し、中央値は 4 であった。HRCT 上の画像パターンは、UIP が 8 例 possible UIP が 2 例であった。臨床的に I-NSIP と診断される症例は含まれなかった。登録後 1 年の時点では、7 例が解析対象となった。

主要評価項目である VC の変化と EMPs の関係については、登録後 6 か月の時点における VC の減少量(ΔVC) と登録時 PECAM-1 陽性 EMP 数の間(図 1) および%VC の減少量($\%VC$)と登録時 PECAM-1 陽性 EMP 数の間に正の相関を認めた。1 年後の ΔVC と $\%VC$ についても PECAM-1 陽性 EMP 数との間に弱い正の相関を認めた。さらに登録後 6 か月における DLco の低下($\Delta DLco$)と登録時 MCAM 陽性 EMPs の間には、正の相関を認めた。また登録後 1 年における $\Delta DLco$ と登録時 EMPs 総数の間にも正の相関を認めた(図 2)。

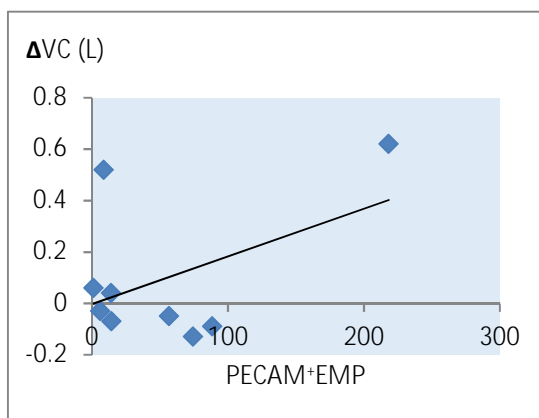


図 1 PECAM 陽性 EMPs と 6M 後の VC

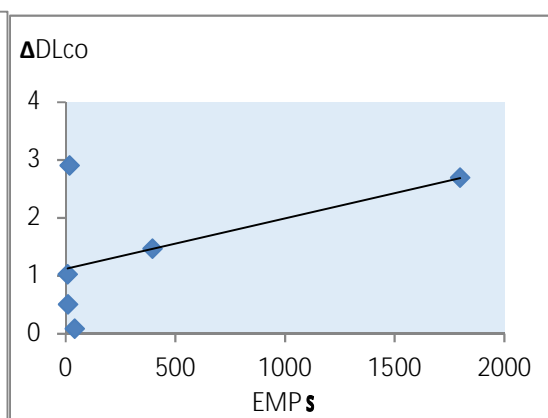


図 2 EMPs 数と 1 年後の DLco

本研究を通じ、IIPs における EMPs の臨床マーカーとしての可能性が示された。IPF を代表とする慢性線維化性間質性肺炎においては、進行の指標である VC や DLco の低下と EMPs が相関することが示唆され、今後臨床応用できる予後因子となり得るのか、症例数を増やした検討が必要である。EMPs の種類別の意義、あるいは病態に役割については、現時点では不明である。動物実験などを参照しながら検討することが必要である。なお他の臨床指標と EMPs の関係などについては、現在も解析を進めている。

(2)薬剤性肺障害については計 4 例から同意を得たが、途中で 1 例が同意を撤回したため、3 例のみが解析対象となった。被疑薬は 2 例が肺癌における分子標的薬(gefitinib, nivolumab)、1 例は抗不整脈薬(amiodarone)であり、いずれも回復した。症例数が少なく解析は困難であるが、3 例に共通していた所見は急性期における E-selectin 陽性 EMP の増加と、回復期における PECAM-1 陽性 EMP の増加であった。これは COPD 増悪例における E-selectin 陽性 EMP 増加と、回復期における減少の報告¹⁾と矛盾しない所見であると考えられる。

<引用文献>

- 1) Takahashi T, et al. Thorax 67:1067-1074, 2012
- 2) Takahashi T, et al. BMJ Open 2014;4:e004571.doi:10.1136/bmjopen-2013-004571

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	板倉 潮人 (Itakura Shioto) (50511804)	日本医科大学・医学部・助教 (32666)	