

令和 2 年 5 月 3 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09612

研究課題名(和文)特発性肺線維症の末梢血テロメア長に関する多施設共同研究

研究課題名(英文) Multicenter study for peripheral blood telomere length in patients with idiopathic pulmonary fibrosis

研究代表者

半田 知宏 (Handa, Tomohiro)

京都大学・医学研究科・特定准教授

研究者番号：10432395

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：特発性肺線維症77例を対象として、末梢血のテロメア長を経時的に測定した。抗線維化薬投与群では、非投与群と比較して経時的にテロメア長が伸長する傾向が認められた(ベースラインからの変化率：抗線維化薬投与群 $1.026 \pm 0.037$  vs 非投与群 $1.016 \pm 0.032$ )。12か月後のテロメア長の変化量と末梢血MCP-1の変化量に負の相関関係が認められた( $r = -0.359$ ,  $P < 0.05$ )。以上より、特発性肺線維症の末梢血テロメア長は抗線維化薬の投与によって伸長する可能性が示唆されたが、その機序は明らかでない。今後24か月までのフォローと末梢血のテロメラーゼ活性評価を予定している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

特発性肺線維症は原因不明の肺疾患で、数年の間に呼吸不全が進行する難病である。近年抗線維化薬と称される薬剤がその進行を緩やかにする事が確認されて使用されているが、その有効性に関する詳しいメカニズムは明らかとなっていない。本研究では細胞寿命を規定する染色体のテロメア長に注目し、抗線維化薬との関連について研究を行った。特発性肺線維症では抗線維化薬の投与によって血液のテロメア長が伸長する傾向が確認され、それを介する蛋白質を確認した。今後特発性肺線維症の新規治療戦略の発展に寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Peripheral blood telomere length was serially measured in 77 patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). In patients who were treated with anti-fibrotic drugs (treatment group), the telomere length tended to increase over time as compared with the non-treatment group (rate of change from baseline: treatment group  $1.026 \pm 0.037$  vs non-treatment group  $1.016 \pm 0.032$ ). A negative correlation was observed between changes of telomere length and those of peripheral blood MCP-1 after 12 months from baseline ( $r = -0.359$ ,  $P < 0.05$ ). The result suggested that the peripheral blood telomere length may be extended by the administration of antifibrotic drugs in IPF, but the mechanism remains unclear. The telomere length will be measured until 24 months from baseline, and we are planning to evaluate telomerase activity in peripheral blood of IPF patients.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：特発性肺線維症 遺伝子変異 テロメア

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

## 1. 研究開始当初の背景

特発性肺線維症（idiopathic pulmonary fibrosis: IPF）は無症状のうちに発症し緩徐に進行するが、時に急速に進行することがある予後不良の疾患である<sup>1,2)</sup>。疾患の発病機序については、異常な再上皮化を伴った肺胞上皮障害から始まり、上皮-間質転換や線維芽細胞-筋線維芽細胞転換などを介した異常な創傷治癒が関与すると考えられている。また、マクロファージの活性化や、上皮細胞のアポトーシス、酸化損傷も関与し、この過程で放出されたサイトカイン・ケモカイン、凝固因子、成長因子および血管新生因子が肺線維化の機序において重要な役割を果たすとされる。こうした病態解明により、近年では新たな IPF 診療における末梢血蛋白バイオマーカの有用性が複数報告されている<sup>3)</sup>。また健常者と比較して間質性肺炎患者では体細胞染色体末端のテロメア長が短いことが明らかとなり、IPF 患者は間質性肺炎罹患者の中でも特にテロメア短縮が強い傾向にある。欧米大規模コホートの解析結果ではこのテロメア長に関しても上述の血中バイオマーカと同様に IPF の予後と関連すると報告されたが<sup>4)</sup>、本邦におけるこうした検討は十分でない。慢性閉塞性疾患（Chronic obstructive pulmonary disease: COPD）患者では血漿中の interleukin (IL)-6 や肺組織から抽出された IL-8, ICAM-1 がテロメア長と負の相関を示すことが明らかとなっているが<sup>5)6)</sup>、こうしたサイトカイン・ケモカインは IPF の病態にも深く関わっており、抗線維化薬（Pirfenidone および nintedanib）がこれらを抑制する作用を持つことを考慮すると薬物治療によってテロメアの減長速度が緩徐になる可能性がある。一方で growth factor は後述の hTERT の転写活性化を通してテロメア延長の役割を担うテロメラーゼを活性化することが報告されており<sup>7)</sup>、IPF 患者に対し抗線維化薬を投与した場合には各種の growth factor が抑制されることにより白血球テロメア長が短縮する可能性もある。抗線維化薬投与前後でのテロメア長を比較検討した報告はこれまでになく、バイオマーカや治療ターゲットとしてのテロメアに関して更なる知見が求められている。

## 2. 研究の目的

本研究では IPF の患者を対象に、白血球テロメア長と臨床指標・血中バイオマーカとの関連を明らかにする事、IPF 患者におけるテロメア長の自然経過、並びに抗線維化薬投与による変化について明らかにする事を目的とした。付随研究では、IPF 患者における、遺伝子変異（テロメア関連遺伝子を含む）と疾患感受性およびテロメア長の関連を明らかにする事を目的とした。

## 3. 研究の方法

### 参加施設

京都大学医学部附属病院 呼吸器内科、天理よろづ相談所病院呼吸器内科、神戸市立医療センター中央市民病院 呼吸器内科、神戸市立医療センター西市民病院 呼吸器内科、高槻赤十字病院 呼吸器センター、北野病院 呼吸器センター、茨城東病院 呼吸器内科、大津赤十字病院 呼吸器内科、姫路医療センター 呼吸器内科、大阪赤十字病院 呼吸器内科、京都市立病院 呼吸器内科、音羽病院 呼吸器内科・洛和会京都呼吸器センター、

倉敷中央病院 呼吸器内科（付随研究のみ）

診断基準：特発性肺線維症の診断は米国胸部疾患学会/欧州呼吸器学会/日本呼吸器学会/ラテンアメリカ胸部学会によるガイドライン(上記 4 学会共同のガイドラインである)に基づき診断された症例を対象とした<sup>1,2)</sup>。

適応基準：特発性肺線維症患者のうち、20 歳以上でかつ書面での同意が得られた者。

除外基準：悪性腫瘍を合併している症例（ただし寛解導入もしくは治癒切除後 3 年以上を経過し再発のない症例は登録可能）、過去 6 か月以内のステロイド（プレドニン換算 10mg/日以上）または抗線維化薬使用歴を有する症例、エントリー4 週間以内に急性増悪・気道感染症・新規発症の気胸・慢性気胸の悪化を合併している症例。

付随研究のみの場合は、IPF 症例であれば除外基準なし。

データ収集項目

患者背景（年齢、性別など）、血液検査 KL-6・SP-D、CXCL1、IL-8、MCP-1、ICAM-1  
血液ガス分析、呼吸機能検査（VC、FVC、FEV1、DLco）、Composite physiologic index (CPI)

白血球テロメア長測定：Real time (quantitative) PCR

データ収集タイミング：Baseline、6 か月、12 か月、24 か月に加えて、抗線維化薬開始後 3 か月、6 か月、12 か月、24 か月

遺伝子変異：ベースラインで抽出した DNA を用いて全ゲノムシーケンスを行う。

#### 【解析の概要】

本研究：テロメア長の経時変化を抗線維化治療群と無治療群で比較する。テロメア長の変化と血中バイオマーカー変化の関連を評価する。テロメア長と予後の関連について検討する。

付随研究：IPF の感受性遺伝子を検索するとともに、テロメア長との関連を調べる。

## 4. 研究成果

特発性肺線維症 90 症例をエントリーし、77 症例で 12 か月までの経過をフォローした。対象症例の背景を表 1 に示す。抗線維化薬投与群 52 例（ピルフェニドン 15 例、ニンテダニブ 37 例）と、非投薬群 25 例であった。末梢血テロメア長は quantitative PCR で測定し、結果はテロメア gene と single copy gene の比率（T/S 比）で示した。テロメア長に関連しうる血中メディエータとして CXCL1、IL-8、MCP-1、ICAM-1 をベースラインと 6 か月後に測定した。

末梢血テロメア長は年齢と弱い負の相関を示した ( $r=-0.356$ ,  $P<0.05$ )。喫煙歴による有意差はなかった。抗線維化薬非投薬群では 6 か月後、12 か月後の FVC 低下率が抗線維化薬投与群と比較して有意に大きかった。抗線維化薬投与群ではベースラインと比較して 12 か月後の T/S 比が有意に増加していたが、非投薬群では有意な変化を認めなかった(ベースラインからの変化率：抗線維化薬投与群  $1.026\pm 0.037$  vs 非投与群  $1.016\pm 0.032$ ) (図 1)。血中 IL-8、MCP-1、ICAM-1 の経時変化に関しては、抗線維化薬投与群において非投薬群と比較して増加が少ない傾向が認められた。ベースラインから 6 か月間 ( $r=-0.461$ ,  $P<0.01$ ) および 12 か月間 ( $r=-0.359$ ,  $P<0.05$ ) のテロメア長の変化率は血中 MCP-1 の変化率と負の相関関係を認めた。

#### <付随研究>

孤発性 IPF 患者 77 検体のうち 1 名に *RTEL1*, 1 名に *TERC* の機能欠損が予測されるミスセンス変異を同定した。テロメア長との関連は追加検討予定である。

以上の検討結果より、特発性肺線維症の末梢血テロメア長は抗線維化薬の投与によって伸長する可能性があり、MCP-1 などのメディエータがその機序に関与している可能性が示唆されたが、その機序は不明である。今後は 24 カ月までテロメア長の経過をフォローし、IPF における末梢血のテロメラーゼ活性を測定する事で病態の解明を試みる事を予定している。また、末梢血テロメア長やその経時変化と予後との関連についても検討を加える予定である。

#### 参考文献

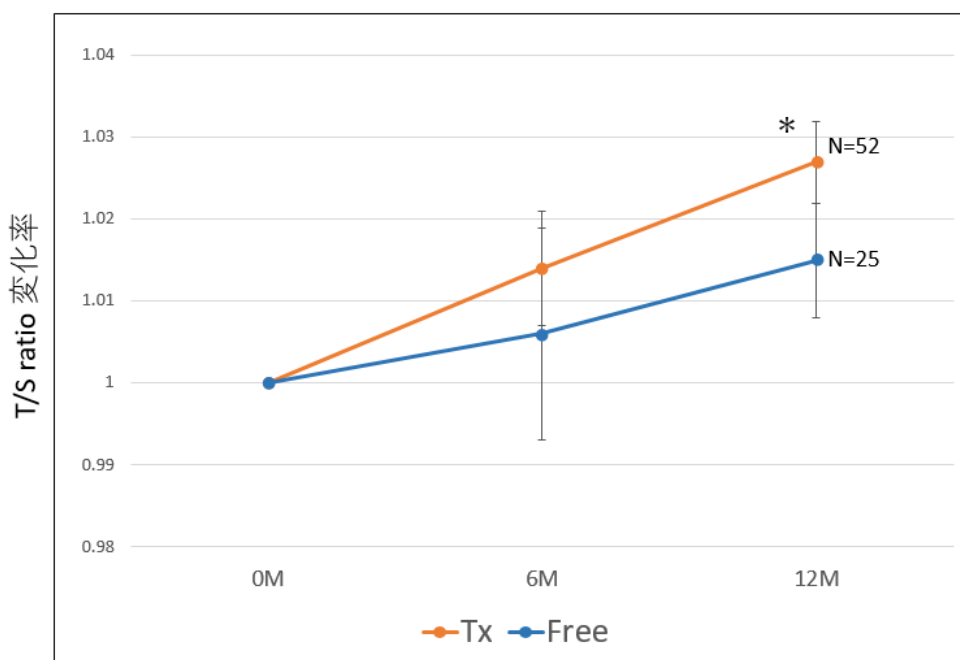
1. Raghu G, *et al.* An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: Idiopathic pulmonary fibrosis: Evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:788-824.
2. Strieter RM. Pathogenesis and natural history of usual interstitial pneumonia: The whole story or the last chapter of a long novel. *Chest* 2005;128:526S-532S.
3. Richards TJ, *et al.* Peripheral blood proteins predict mortality in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;185:67-76.
4. Stuart BD, *et al.* Effect of telomere length on survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: an observational cohort study with independent validation. *Lancet Respir Med* 2014;2:557-565.
5. Laurent S, *et al.* Shortened Telomeres in Circulating Leukocytes of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:566-571.
6. Amsellem V, *et al.* Telomere dysfunction causes sustained inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;184:1358-1366.
7. Maida Y, *et al.* Direct activation of telomerase by EGF through Ets-mediated transactivation of TERT via MAP kinase signaling pathway. *Oncogene* 2002;21:4071-4079.

表 1 対象患者背景

	抗線維化薬投与群 (N=52)	無投薬群 (N=25)
男性, N (%)	41 (78.8%)	22 (88.0%)
年齢, 歳	71.8 ± 9.8	72.0 ± 7.9
Body mass index	24.2 ± 4.1	24.6 ± 4.5
喫煙歴, N (%)		
なし	41 (78.8%)	23 (92.0%)
あり	11 (21.2%)	2 (8.0%)
外科的肺生検による診断, N (%)	11 (21.2%)	5 (20.0%)
抗線維化薬の種類, N(%)		
Pirfenidone	15 (28.8%)	
Nintedanib	37 (71.2%)	
PaO <sub>2</sub> , mmHg	79.3 ± 12.6	85.6 ± 16.9
登録時の肺機能		
%FVC	95.5 ± 25.6	108.0 ± 21.4
%DLco	44.1 ± 12.7	53.3 ± 15.5 *
CPI	45.8 ± 12.5	37.0 ± 15.0 *
白血球テロメア長 (登録時)	1.51 ± 0.11	1.54 ± 0.12

CPI : composite physiologic index, \*  $P < 0.05$  (Student's *t*-test)

図 1 末梢血テロメア長の経時変化



\* Repeated measure analysis of variance (mixed model):  $P < 0.05$ , *post-hoc* Tukey's test:  $P < 0.05$

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakatsuka Yoshinari, Handa Tomohiro, Nakashima Ran, et al.	4. 巻 NA
2. 論文標題 Serum matrix metalloproteinase levels in polymyositis/dermatomyositis patients with interstitial lung disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 NA
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/kez065	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanizawa Kiminobu, Handa Tomohiro, Kubo Takeshi, Chen-Yoshikawa Toyofumi F., Aoyama Akihiro, Motoyama Hideki, Hijiya Kyoko, Yoshizawa Akihiko, Oshima Yohei, Ikezoe Kohei, Tokuda Shinsaku, Nakatsuka Yoshinari, Murase Yuko, Nagai Sonoko, Muro Shigeo, Oga Toru, Chin Kazuo, Hirai Toyohiro, Date Hiroshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Clinical significance of radiological pleuroparenchymal fibroelastosis pattern in interstitial lung disease patients registered for lung transplantation: a retrospective cohort study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Respiratory Research	6. 最初と最後の頁 NA
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12931-018-0860-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nakatsuka Yoshinari, Handa Tomohiro, Kokosi Maria, Tanizawa Kiminobu, Puglisi Silvia, Jacob Joseph, Sokai Akihiko, Ikezoe Kohei, Kanatani Kumiko?T., Kubo Takeshi, Tomioka Hiromi, Taguchi Yoshio, Nagai Sonoko, Chin Kazuo, Mishima Michiaki, Wells Athol?U., Hirai Toyohiro	4. 巻 96
2. 論文標題 The Clinical Significance of Body Weight Loss in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Patients	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Respiration	6. 最初と最後の頁 338 ~ 347
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000490355	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Oga Toru, Windisch Wolfram, Handa Tomohiro, Hirai Toyohiro, Chin Kazuo	4. 巻 56
2. 論文標題 Health-related quality of life measurement in patients with chronic respiratory failure	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Respiratory Investigation	6. 最初と最後の頁 214 ~ 221
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.resinv.2018.01.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sokai A, Tanizawa K, Handa T, Kanatani K, Kubo T, Ikezoe K, Nakatsuka Y, Tokuda S, Oga T, Hirai T, Nagai S, Chin K, Mishima M.	4. 巻 3
2. 論文標題 Importance of serial changes in biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ERJ Open Res.	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/23120541.00019-2016.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ikezoe K, Handa T, Tanizawa K, Yokoi H, Kubo T, Aihara K, Sokai A, Nakatsuka Y, Hashimoto S, Uemasu K, Sato S, Muro S, Nagai S, Yanagita M, Chin K, Hirai T, Taguchi Y, Mishima M.	4. 巻 94
2. 論文標題 Chronic Kidney Disease Predicts Survival in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Respiration.	6. 最初と最後の頁 346, 354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000478787.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Kohei Ikezoe, Tomohiro Handa, Kiminobu Tanizawa, Akihiko Sokai, Yoshinari Nakatsuka, Yuko Murase, Takeshi Kubo, Akihiko Yoshizawa, Sonoko Nagai, Kazuo Chin, Toyohiro Hirai
2. 発表標題 The predictive risk factors for lung cancer in patients with idiopathic pulmonary fibrosis.
3. 学会等名 114th American Thoracic Society International Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 半田知宏
2. 発表標題 間質性肺炎急性増悪 シンポジウム 慢性呼吸不全急性増悪 どんな状態なら積極的に治療すべきか、挿管する？
3. 学会等名 第40回日本呼吸療法医学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村瀬裕子, 祖開暁彦, 半田知宏, 谷澤公伸, 宇野賀津子, 池添浩平, 中塚賀也, 徳田深作, 金谷久美子, 久保武, 小賀徹, 長井苑子, 陳和夫, 三嶋理晃, 平井豊博
2. 発表標題 血清matrix metalloproteinases-7の経時的変化は、特発性肺線維症の独立した予後因子である
3. 学会等名 第58回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 半田知宏, 陳豊史, 谷澤公伸, 渡邊創, 中塚賀也, 山田義人, 豊洋次郎, 中島大輔, 濱路政嗣, 大角明宏, 陳和夫, 伊達洋至, 平井豊博
2. 発表標題 肺移植診療における呼吸器内科医の役割に関する多施設アンケート調査
3. 学会等名 第35回日本肺および心肺移植研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池上直弥, 半田知宏, 陳豊史, 谷澤公伸, 吉澤明彦, 久保武, 渡邊創, 池添浩平, 中塚賀也, 村瀬裕子, 中西智子, 庭本崇史, 中島直樹, 伊達洋至, 陳和夫, 平井豊博
2. 発表標題 肺移植を行った慢性過敏性肺炎に関する検討
3. 学会等名 第38回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamamoto Y, Handa T, Nakatsuka Y, Tanizawa K, Sokai A, Ikezoe K, Tokuda S, Nagai S, Chin K, Hirai T.
2. 発表標題 The Ptognostic value of serum S100A12 in patients with idiopathic pulmonary fibrosis.
3. 学会等名 113th American Thoracic Society International Conference (国際学会)
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 山本裕子、祖開暁彦、半田知宏、谷澤公伸、宇野賀津子、池添浩平、中塚賀也、徳田深作、金谷久美子、久保武、小賀徹、長井苑子、陳和夫、三嶋理晃、平井豊博
2. 発表標題 特発性肺線維症における血中バイオマーカーの経時変化と予後に関する検討
3. 学会等名 第53回 日本肺サーファクタント関連医学会
4. 発表年 2017年

〔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	松田 文彦  (Matsuda Fumihiko)  (50212220)	京都大学・医学研究科・教授    (14301)	