

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006 年～2008 年
 課題番号：18590840
 研究課題名（和文） 間質性肺炎の急性増悪における凝固線溶系の関与
 研究課題名（英文） Blood coaguration and fibrinolytic pathways may connect with acute exacerbation of interstitial pneumonia

研究代表者

寺田正樹 (Masaki Terada)
 新潟大学・医歯学総合病院・助教
 研究者番号：50401740

研究成果の概要：

凝固線溶系の観点から、急性増悪をきたす間質性肺炎症例の特徴を明らかにすることを目的として、間質性肺炎 40 例（特発性、膠原病、慢性過敏性肺炎）、サルコイドーシス 20 例、Organizing Pneumonia 5 例、その他 5 例、計 70 例の気管支肺胞洗浄液について、凝固能のマーカー TAT (thrombin antithrombin 複合体)、線溶系のマーカー D-dimer の測定を試みた。しかし、測定値のばらつきが大きく、有意差は得られなかった。組織学的には、fibroblastic foci の分布が目立つ症例に急性増悪が多い傾向が伺われた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,300,000	0	1,300,000
2007 年度	700,000	210,000	910,000
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	450,000	3,250,000

研究分野：呼吸器内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 7204

キーワード：外科的肺生検、凝固線溶系、間質性肺炎、気管支肺胞洗浄

1. 研究開始当初の背景

原因不明の間質性肺炎である特発性間質性肺炎 Idiopathic Interstitial Pneumonias (IIPs) のうち、特発性肺線維症 (IPF) は予後不良で、病理学的には Usual Interstitial Pneumonia (UIP) と呼ばれる。線維化の末期像としての蜂窩肺に至り、慢性呼吸不全に陥い

るだけでなく、感染や手術侵襲、ステロイド薬の減量などを契機に、慢性の経過から突如として急性呼吸不全に陥ることがあり、本邦では以前から「急性増悪」という特異な病態として認識され、この概念は近年世界的に浸透しつつある。急性増悪は病理学的にはびまん性肺胞障害 Diffuse Alveolar Damage (DAD)

と捉えられ、多くは致死性的である。一方、IIPsのうち、近年提唱された非特異的間質性肺炎 Nonspecific Interstitial Pneumonia(NSIP)はIPFより比較的予後のよい病型として区別される。このうち、線維化を主体とする Fibrosing NSIPの予後はIPF/UIPに近く、急性増悪をきたしうるといふ報告が散見される。また、稀ではあるが、慢性過敏性肺炎でも病理学的にDADを呈する急性増悪例が報告され、急性増悪をおこす基盤になる病態はIPF/UIP、Fibrosing NSIPなどの区別とは関係なく、広く肺の線維化病変と捉えるべきと考えられる。IPFでは凝固線溶のアンバランスが指摘されてきたが、凝固線溶に関わる蛋白は血栓止血の制御だけでなく、白血球の他、線維芽細胞や平滑筋など間葉系細胞に対する増殖因子、遊走因子としても働き、線維化に直接影響している可能性がある。最近では、線維化に対する抗凝固療法の有効性が徐々に明らかになり、急性増悪の頻度を減らすという報告もある。IPF/UIPでもFibrosing NSIPでも、活動性の線維化病変には線維芽細胞巢fibroblastic fociがみられ、同部の線維芽細胞は高いTGF- β 1mRNA発現を示し、持続的に高い活動性を持つ。肺癌の術後に急性増悪をきたした切除肺の検討では、線維芽細胞巢が顕著に見られると報告されており、線維芽細胞巢は急性増悪の発症に深く関わっている。

2. 研究の目的

当科で多くの症例を経験しているFibrosing NSIPを中心に、

a. 気管支肺胞洗浄液中の凝固線溶系に関わる因子(トロンビン、F1+2、Tissue Factor、PAI-1=Plasminogen Activator Inhibitor-1、TAT=thrombin antithrombin 複合体、D-dimerなどから選択)を測定し、凝固能の亢進および線溶に関わる因子の減少に伴う凝固線溶系のアンバランスがあるかどうかを検討する。対

照としては、線維化に陥っていないサルコイドーシス症例およびOrganizing Pneumonia(OP)を用いる。

b. 肺生検組織を用いて、特に、線維芽細胞巢に注目し、凝固因子による刺激の受け手である線維芽細胞のprotease activated receptor-1(トロンビンレセプター)と線溶系のkey factorとなるPAI-1の発現を比較検討する。対照については1.と同様である。

c. Fibrosing NSIP患者の気管支肺胞洗浄液を用いてヒト肺由来線維芽細胞を刺激培養して増殖能を検討し、トロンビンのインヒビターなどを用いて、気管支肺胞洗浄液中の凝固線溶因子活性が線維芽細胞の増殖に実際に関与しているかどうかを検討する。

d. 臨床所見、病理組織所見の他、上記の所見をもとに、急性増悪をきたす症例の特徴を明らかにし、間質性肺炎の急性増悪に関わる凝固線溶系の意義を解明する。

3. 研究の方法

a. 症例の選択

当科外来および入院患者で、病歴、臨床症状、検査所見から、典型的なIPFと異なり、外科的肺生検が必要な症例を選択する(新規症例)。当科の過去の外科的肺生検症例から、病理所見により、Fibrosing NSIP症例を選択する。対照として、過去の外科的肺生検症例から、線維化に陥らないサルコイドーシス症例およびOP症例を選択する。

b. 検体採取

上記の新規症例の中から、全身状態、呼吸機能検査などの結果で肺生検が可能と判断され、書面でインフォームドコンセントを得られた症例について、変化の軽い部分、強い部分の2カ所の肺組織を外科的肺生検で採取する。外科的肺生検の前には感染症の否定の意味もあり、必ず気管支肺胞洗浄を行い、通常の細

胞分画、細胞表面マーカーの分析をおこなった上で、気管支肺胞洗浄液上清を-80℃で保存する。

c. 気管支肺胞洗浄液中の各種凝固因子、線溶関連蛋白の測定

SRLなどの外注検査でF1+2、Tissue Factor、TAT、D-dimer、PAI-1は測定可能である。

d. 病理学的検討

生検肺組織を通常のヘマトキシリンエオジン染色およびエラスチカワンギーソン染色で観察する。

e. 免疫組織化学検討

病理学的検討の評価を基に、維芽細胞巣を特に詳細に評価するため、維芽細胞巣におけるprotease activated receptor-1とPAI-1の発現を免疫組織化学で評価する。対照として線維化に陥らないサルコイドーシス症例およびOrganizing Pneumoniaの気腔内の器質化部分などを用いる。

f. 線維芽細胞培養

ヒト正常肺線維芽細胞をserum free media、および上記検討に用いた症例の気管支肺胞洗浄液を添加し、24時間mediaで培養し、増殖能をbromodeoxyuridineで評価する。トロンビンインヒビター (0.5U/ml hirudin)添加の有無での測定を加えることで、気管支肺胞洗浄液中にトロンビンによる線維芽細胞増殖能があるかどうかを検討する。

4. 研究成果

a:平成18年度～19年度(過去の症例を含む): 間質性肺炎 40例(特発性、膠原病、慢性過敏性肺炎)、サルコイドーシス 20例、Organizing Pneumonia 5例、その他 5例、計 70例の気管支肺胞洗浄液を収集。

b:凝固能のマーカーとして TAT (thrombin antithrombin 複合体)、線溶系のマーカーとして D-dimer を測定することとした。

c. 測定値のばらつきが大きく、各疾患間での有意な差は得られなかった。したがって、肺胞洗浄液所見と生検組織、臨床所見との対比などは行えなかった。一方、線維化主体のFibrosing NSIP(f-NSIP)を中心とした急性増悪症例の特徴については、ヘマトキシリンエオジンおよびエラスチカワンギーソン染色での観察のレベルで、fibroblastic fociの分布が目立つ症例に急性増悪が多い傾向が伺われた。

d. 有意な結果が得られなかった原因: 肺胞洗浄液が種々の程度に希釈されていることが一因と考えられ、適当な補正法の検討が必要である。

e. 今後: 外科的肺生検組織自体は間質性肺炎 26例、サルコイドーシス 2例、Organizing Pneumonia 3例など十分集めることができたので、肺胞洗浄液の処理が安定すれば検討を加えていくことができると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10件)

①Narita J, Hasegawa T, Tsuchida M, Terada M, Takada T, Hashimoto T, Aoki T, Tsukada H, Narita I, Hayashi J, Gejyo F, Suzuki E. Analysis of the effect of surgical lung biopsy on serum KL-6 Levels in patients with interstitial pneumonia: surgical lung biopsy does not elevate serum KL-6 levels.

Intern Med., 45, pp615-9, 2006

②寺田正樹: 間質性肺炎患者と咳嗽: 藤森勝也編 咳嗽 基礎的事項から臨床まで, モ

ダンフィジシャン 26(11), 新興医学出版社・東京, pp1777-1780, 2006

③Hiroshi Moriyama, Masayoshi Kobayashi, Toshinori Takada, Takashi Shimizu, Masaki Terada, Jun-Ichi Narita, Michio Maruyama, Kouichi Watanabe, Eiichi Suzuki, and Fumitake Gejyo
Two-dimensional Analysis of Elements and Mononuclear Cells in Hard Metal Lung Disease.

American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 176, pp70-77, 2007

④Tajima S, Bando M, Yamasawa H, Ohno S, Moriyama H, Terada M, Takada T, Suzuki E, Gejyo F, Sugiyama Y.

Preventive effect of hochu-ekki-to, a Japanese herbal medicine, on bleomycin-induced lung injury in mice. Respirology. 12, pp814-822, 2007

⑤ Takashi Shimizu, Fumio Fujimori, Yuichi Shimaoka, Jun-ichi Narita, Toshinori Takada, Shunji Tajima, Hiroshi Moriyama, Masaki Terada, Eiichi Suzuki and Fumitake Gejyo

Isolation and immunophenotyping of mononuclear cells from human lung tissue. Intern Med. 46, 163-9, 2007

⑥中田光, 井上義一, 高田俊範, 寺田正樹, 新井徹, 坂谷光則, 田澤立之, 貫和敏博, 桧澤伸之, 山口悦郎, 江田良輔, 土橋佳子, 田中直彦, 笠原靖紀
肺障害・線維化に関わる肺細胞とその産生分子 わが国の特発性肺胞蛋白症の病勢、予後、

GM-CSF 吸入療法の Up-to-date

分子呼吸器病, 11(1), pp72-74, 2007 年 1 月

⑦中田光(新潟大学医歯学総合病院 生命科学医療センター), 井上義一, 高田俊範, 寺田正樹, 新井徹, 坂谷光則, 田澤立之, 貫和敏博

【喀痰学の up-to-date】 肺胞蛋白症の臨床 THE LUNG-perspectives, 15(1), pp59-63, 2007 年 1 月

⑧寺田正樹, 鈴木榮一

気管支肺胞洗浄, 経気管支肺生検, 胸腔鏡下肺生検—検査の意義と適応—: 間質性肺炎, Medical Practice 24(6), 文光堂・東京, pp1022-1030, 2007

⑨島岡雄一, 田島俊児, 古塩奈央, 富士盛文夫, 津畑千佳子, 小屋俊之, 森山寛史, 寺田正樹, 高田俊範, 下條文武, 長谷川隆志, 鈴木榮一

汎下垂体機能低下症をきたした中枢神経サルコイドーシスの 1 例

日本呼吸器学会雑誌, 46(10) pp814-819, 2008 年 10 月

⑩寺田正樹

特発性および膠原病性間質性肺炎と薬剤性肺障害, 医学のあゆみ, 2009 年, 印刷中

[学会発表] (計 5 件)

1. 寺田正樹

イブニングシンポジウム: 関節リウマチの治療薬と呼吸器関連副作用, 1. 関節リウマチ固有の呼吸器病変, 第 46 回日本呼吸器学会総会, 2006 年 6 月 2 日, 東京

2. 寺田正樹

Efficacy of GM-CSF inhalation therapy for

autoimmune PAP, 第 5 回肺胞蛋白症国際学術
会議, 2007 年 5 月 8 日, 大阪

3. 寺田正樹,

教育講演:びまん性肺疾患における肺生
検の動向, 第 40 回 新潟チェストカンフ
ァレンス総会, 2007 年 7 月 28 日, 新潟

4. 寺田正樹

薬剤性肺障害—これからの課題, 1. DLST
の診断的意義, 第 6 回 DILD フォーラ
ム, 2008 年 8 月 22 日, 東京

5. 寺田正樹,

病理組織パターンが IIPs の “Others” とさ
れる間質性肺炎の検討. 厚生労働科学研究
「特発性肺線維症の予後改善を目指したサ
イクロsporin+ステロイド療法 ならび
にNアセチルシステイン吸入療法に関する
臨床研究」平成 20 年度研究報告会, 2009 年
1 月 16 日, 東京

[図書] (計 1 件)

①寺田正樹, 鈴木榮一

Goodpasture 症候群, 工藤翔二・中田紘一
郎・貫和敏博編, 南江堂・東京, 呼吸器疾患
最新の治療 2007-2009, pp346-348, 2007 年 2
月

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺田正樹 (Masaki Terada)

新潟大学・医歯学総合病院第 2 内科・助教

研究者番号: 50401740

(2) 研究分担者

鈴木榮一 (Eiichi Suzuki)

新潟大学・医歯学総合病院・教授

研究者番号: 30187710

長谷川隆志 (Takashi Hasegawa)

新潟大学・医歯学総合病院・准教授

研究者番号: 90361906

高田俊範 (Toshinori Takada)

新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号: 40361919

(3) 連携研究者

吉澤弘久 (Hirohisa Yoshizawa)

新潟大学・医歯学総合病・准教授

研究者番号: 5028298