

平成 22 年 5 月 13 日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19390224

研究課題名（和文） 間質性肺炎・薬剤性肺障害の臨床像とゲノム解析の日欧比較研究

研究課題名（英文） Comparative studies of a clinical features and genomic analysis in patients with interstitial lung disease and drug induced lung injury

研究代表者

河野 修興 (KOHNO NOBUOKI)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：80215194

研究成果の概要（和文）：

独国との国際共同研究により、間質性肺炎の人種的な差異を明らかにした。健常人の血清 KL-6 値は日本人より欧州人で高値であったが、特発性間質性肺炎患者では有意な差を認めなかった。欧州人においても、血清 KL-6 値は特発性間質性肺炎患者で高値を示し、呼吸機能検査と BALF 所見と相関を認めた。網羅的発現解析の結果からは、慢性過敏性肺炎と特発性間質性肺炎の発現プロファイルは大きく異なることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We elucidate a racial difference of the interstitial lung disease (ILD) by international collaborative investigation with Germany. The serum levels of KL-6 in European healthy volunteers were significantly higher than Japanese. On the other hands, serum levels of KL-6 in European ILD patients were not significantly higher than Japanese. Serum levels of KL-6 in European patients with idiopathic interstitial pneumonia (IIP) were significantly higher than European controls, and were correlated with inversely with some pulmonary function tests and BALF findings. Microarray analysis revealed that gene expression patterns clearly distinguished IIP from chronic hypersensitivity pneumonia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	9,200,000	2,760,000	11,960,000
2008 年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2009 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度			
年度			
総計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

研究分野：医歯薬

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：呼吸器病学

1. 研究開始当初の背景

近年、薬剤の開発がグローバル化する中で、

間質性肺炎の急性増悪、上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤の奏効例とその薬剤性肺障害の発生頻度が欧米と比較してわが国では極めて高いことが明らかになってきた。以上より、呼吸器疾患の人種的な差異を解明することはわが国が先進的に進めるべき重要な研究課題であり、呼吸器疾患の病態解明と治療開発につながるものと思われる。

これまでに私達のグループは MUC1 ムチンにクラスター分類される KL-6 抗原が、様々な間質性肺炎患者血清中で上昇することを見出し、間質性肺炎の診断や病勢の判断に有用であるバイオマーカーであることを明らかにしてきた。その結果、間質性肺炎の診断および疾患活動性評価のための診断試薬として、2000年に医療保険への適応を受け、現在では日本全国で年間約 180 万検体が測定されている。ところが、KL-6 は日本以外の国では少数の研究報告がなされているものの臨床応用はなされていないのが現状である。現在までに、KL-6 がクラスター分類されている MUC1 には数種類の SNP があることが報告され、健常人における検討では、日本人と欧米人において発現頻度の異なるものが存在することがわかっている。しかし、MUC1 の SNP と血清 KL-6 値の関係、間質性肺炎・薬剤性肺障害の発症リスクについてはほとんど検討されていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、国際共同研究を通じて、間質性肺炎・薬剤性肺障害の人種的な差を臨床像と分子レベルの両面から解明することである。同時に、わが国において開発された呼吸器疾患の血清バイオマーカーが欧米人においても有用であることを示すことにより、欧米での臨床応用を目指したい。

3. 研究の方法

(1) 間質性肺炎・薬剤性肺障害の人種的な差異の解明 (臨床像より)

日本人と欧州人の間質性肺炎患者・薬剤性肺障害の臨床像の違いを、画像所見、呼吸機能を含めた臨床病理学的因子から検討した。さらに、特発性間質性肺炎患者 (日本 n=40; 欧州, n=150)、非線維性呼吸器疾患患者 (欧州, n=40)、健常人 (日本, n=100; 欧州, n=110) における血清 KL-6 値を測定し、特発性間質性肺炎患者の臨床病理学的診断、気管支肺胞洗浄液解析、呼吸機能との相関を検討した。

(2) 間質性肺炎・薬剤性肺障害の人種的な差異の解明 (分子レベルより)

開胸肺生検時に採取された肺組織を用いて網羅的発現解析を行った。また、MUC1 の SNP と血清 KL-6 値に関する検討も行った。

4. 研究成果

(1) 間質性肺炎・薬剤性肺障害の人種的な差異の解明 (臨床像より)

日本人は欧州人と比較して、慢性過敏性肺炎の頻度が高いことが示唆された。

健常人の血清 KL-6 値は、日本人より欧州人で高値であった。欧州人においても、特発性間質性肺炎患者は、非線維性呼吸器疾患患者・健常人に比べ高い血清 KL-6 値を示した。欧州人特発性間質性肺炎患者における血清 KL-6 値は、%VC、%TLC、%FEV₁、%D_{1CO} と負相関を示し、A-aD_{O2}、BALF 中好中球分画と正相関を示した。しかし、日本人と欧州人で、IIPs 患者の血清 KL-6 値に有意差は認められなかった。欧州人においても KL-6 は臨床的に有用である可能性があるが、基準値の設定にはさらに詳細な検討が必要であると考えられた。

(2) 間質性肺炎・薬剤性肺障害の人種的な差異の解明 (分子レベルより)

マイクロアレイを用いた日本人の間質性肺炎患者約25症例の網羅的発現解析の結果からは、慢性過敏性肺炎と特発性間質性肺炎の発現プロファイルは大きくことなるが、特発性肺線維症と非特異的間質性肺炎の発現プロファイルは非常に似通っているものであることが明らかになった。欧州では開胸肺生検が一般的ではないため、欧州人の網羅的発現解析は行うことができなかった。

また、間質性肺炎で特異的に発現上昇するいくつかの分子を同定した。まずリアルタイムPCR法でmRNAレベルでの確認を行い、さらに市販の抗体の入手可能なものについては、ウェスタンブロット、組織免疫染色により、タンパクレベルでの確認も行った。ELISA法により診断マーカーとしての有用性について検討しているところである。

また、MUC1のSNPに日本人と欧米人において発現頻度の異なるものが存在し、そのタイプと血清KL-6が相関する可能性が示唆された。今後は、血清KL-6値、MUC1長、間質性肺炎・薬剤性肺障害の発症リスクの関係について検討する予定である。

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 16 件)

- ① Senoo T, Hattori N, Tanimoto T, Furonaka M, Ishikawa N, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Yokoyama A, Kohno N. Suppression of plasminogen activator inhibitor-1 by RNA interference attenuates pulmonary fibrosis. *Thorax* 2010; 65: 334-340, 2010. 査読有
- ② Yamane T, Hattori N, Kitahara Y, Haruta

- Y, Sasaki H, Yokoyama A, Kohno N. Productive cough is an independent risk factor for the development of COPD in former smokers. *Respirology* 2010; 15: 313-318. 査読有
- ③ Ohshimo S, Bonella F, Grammann N, Starke K, Cui A, Bauer PC, Teschler H, Kohno N, Guzman J, Costabel U. Serum KL-6 as a novel disease marker in adolescent and adult cystic fibrosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2009; 26: 47-53. 査読有
- ④ Hirata S, Hattori N, Kumagai K, Haruta Y, Yokoyama A, Kohno N. Lymphocyte transformation test is not helpful for the diagnosis of methotrexate-induced pneumonitis in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta* 2009; 407: 25-29. 査読有
- ⑤ Tanimoto T, Hattori N, Senoo T, Furonaka M, Ishikawa N, Fujitaka K, Haruta Y, Yokoyama A, Igarashi K, Kohno N. Genetic ablation of the Bcl6 gene reduces hyperoxic lung injury in mice: role of IL-6. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 1119-1126. 査読有
- ⑥ Ohshimo S, Bonella F, Cui A, Beume M, Kohno N, Guzman J, Costabel U. Significance of bronchoalveolar lavage for the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 1043-1047. 査読有
- ⑦ Onari Y, Yokoyama A, Haruta Y, Nakashima T, Iwamoto H, Hattori N, Kohno N. IL-12p40 is essential for the down-regulation of airway hyperresponsiveness in a mouse model of bronchial asthma with prolonged antigen exposure. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 290-298. 査読有
- ⑧ Iwamoto H, Yokoyama A, Kitahara Y, Ishikawa N, Haruta Y, Yamane K, Hattori N, Hara H, Kohno N. Airflow limitation in smokers is associated with subclinical atherosclerosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 35-40. 査読有
- ⑨ Furonaka M, Hattori N, Tanimoto T, Senoo T, Ishikawa N, Fujitaka K, Haruta Y, Yokoyama A, Kohno N. Suplatast tosilate prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 328: 55-61. 査読有
- ⑩ Kinnula VL, Ishikawa N, Bergmann U, Ohlmeier S. Proteomic approaches for studying human parenchymal lung diseases. *Expert Rev Proteomics* 2009; 6: 619-629. 査読有
- ⑪ Kanehara M, Yokoyama A, Tomoda Y, Shiota N, Iwamoto H, Ishikawa N, Taooka Y, Haruta Y, Hattori N, Kohno N. Anti-inflammatory effects and clinical efficacy of theophylline and tulobuterol in mild-to-moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Pulm Pharmacol Ther* 2008; 21: 874-878. 査読有
- ⑫ Nakashima T, Yokoyama A, Onari Y, Shoda H, Haruta Y, Hattori N, Naka T, Kohno N. Suppressor of cytokine signaling 1 inhibits pulmonary inflammation and fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1269-1276. 査読有
- ⑬ Ishikawa N, Hattori N, Yokoyama A, Tanaka S, Nishino R, Yoshioka K, Ohshimo S, Fujitaka K, Ohnishi H, Hamada H, Arihiro K, Kohno N. Usefulness of monitoring the circulating Krebs von den Lungen-6 levels to predict the clinical outcome of patients with advanced nonsmall cell lung cancer treated with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Int J Cancer* 2008; 122: 2612-2620. 査読有
- ⑭ Nakashima T, Yokoyama A, Ohnishi H, Hamada H, Ishikawa N, Haruta Y, Hattori N, Tanigawa K, Kohno N. Circulating KL-6/MUC1 as an independent predictor for disseminated intravascular coagulation in acute respiratory distress syndrome. *J Intern Med* 2008; 263: 432-439. 査読有
- ⑮ Ohtsuki Y, Fujita J, Hachisuka Y, Uomoto M, Okada Y, Yoshinouchi T, Lee GH, Furihata M, Kohno N. Immunohistochemical and immunoelectron microscopic studies of the localization of KL-6 and epithelial membrane antigen (EMA) in presumably normal pulmonary tissue and in interstitial pneumonia. *Med Mol Morphol* 2007; 40: 198-202. 査読有
- ⑯ Sakurai J, Hattori N, Nakajima M, Moriya T, Suzuki T, Yokoyama A, Kohno N. Differential expression of the glycosylated forms of MUC1 during lung development. *Eur J Histochem* 2007; 51: 95-102. 査読有
- [学会発表] (計6件)
- ① 河野修興. 間質性肺炎と肺癌. 日本内学会総会. (2009.4.10-12 東京都).
- ② 河野修興. KL-6の発見から臨床応用まで.

- 第28回日本糖質学会年会。(2008.8.18.つくば)
- ③ **河野修興**, Krebs von den Lungen-6 (KL-6) is a Serologic and Prognostic Biomarker and a Possible Therapeutic Target for IPF (International Symposium). **第48回日本呼吸器学会総会**. (2008.6.15-17 神戸)
- ④ **Hattori N.** Role of coagulation and fibrinolytic systems in pulmonary fibrosis. **The 12th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology** (2007.11.30-12.4 Gold Coast, Australia)
- ⑤ **Hattori N.** Serum markers in acute exacerbation of IPF. **4th International WASOG Conference on Diffuse Lung Diseases**. (2007.10.19-20 Tokyo).
- ⑥ **河野修興**, 薬物性肺障害の種類と診断の要点. **第104回日本内科学会総会**. (2007.4.3-5 大阪)

[図書] (計3件)

- ① **河野修興監修, 横山彰仁, 森山美智子, 服部登編集**. まんがで読み解く呼吸器症例100. メディカルビュー社, 2009, 284頁.
- ② **服部登, 河野修興**. BAL法の臨床応用. **気管支肺胞洗浄(BAL)の手引き**. 京誠堂出版社 5-7, 2008
- ③ **河野修興**. 呼吸器疾患のバイオマーカー. **内科学第9版**. 杉本恒明・矢崎義雄 総編集 朝倉書店 645-647, 2007

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河野 修興 (KOHNO NOBUOKI)
広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 80215194

(2) 研究分担者

横山 彰仁 (YOKOYAMA AKIHITO)
高知大学・医学部・教授
研究者番号: 30191513
[H20→H21] 連携研究者

服部 登 (HATTORI NOBORU)
広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号: 00283169
[H20→H21] 連携研究者

石川 暢久 (ISHIKAWA NOBUHISA)
広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号: 90423368

[H20→H21] 連携研究者

(3) 連携研究者 ()

研究者番号: