

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591140

研究課題名(和文) 自宅あるいは職場環境が原因で起こる間質性肺炎の原因真菌の同定

研究課題名(英文) Identification of causative fungi for interstitial pneumonias due to home/work environments

研究代表者

宮崎 泰成 (Miyazaki, Yasunari)

東京医科歯科大学・学生支援・保健管理機構・教授

研究者番号：30396999

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：自宅あるいは職場環境の真菌が原因で起こる住居関連過敏性肺炎(home-related hypersensitivity pneumonitis: HRHP)は間質性肺炎の一つである。本研究ではHRHPの診断能の向上のため、HRHP患者の気管支肺胞洗浄液(BALF)の真菌DNA及び血清抗体価について検討した。Trichosporon asahiiやT. mucoidesといった真菌が原因として多いとされていたが、HRHPは様々な真菌が原因となっていた。BALF中真菌DNAの解析と真菌抗体価を検討することにより診断能が向上した。抗原回避の指標が明らかとなり、予後の改善にもつながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Home-related hypersensitivity pneumonitis (HRHP) is an interstitial pneumonia mainly caused by fungi in the environment, including home and working place. In the present study, we have evaluated fungus DNA of the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and titer of antibodies of fungi. Trichosporon asahii or T. mucoides have been thought to be most frequent antigens of HP, however various fungi were causative in HRHP. We have shown that analyses of fungus DNA in BALF and measurement of fungus antibodies are useful in diagnosis of HRHP. These results should be helpful to perform antigen avoidance and leading to improve prognosis of the disease.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学

キーワード：過敏性肺炎 真菌

1. 研究開始当初の背景

特発性間質性肺炎(idiopathic interstitial pneumonias; IIPs)は原因不明の間質性肺炎の総称で、「特定疾患治療研究事業対象疾患」に指定されている。その中の一つである特発性肺線維症(idiopathic pulmonary fibrosis; IPF)はIIPsの約半数以上を占め慢性進行性で平均生存日数は4-6年と致死性疾患である。我々の研究によりこれらの疾患の中に自宅あるいは職場環境の真菌が原因で起こる間質性肺炎つまり『住居関連過敏性肺炎』と呼ばれる疾患群が含まれていることが分かっている。本邦においては住宅環境が原因となるアレルギー性間質性肺炎は血清抗体で診断可能な *Trichosporon asahii* や *Trichosporon mucoides* といった真菌によるものが多いとされてきたが、血清抗体が証明されないものの問診や帰宅誘発試験陽性などより住宅環境が発症要因と考えられる例をしばしば経験する。このような住居関連過敏性肺炎の診断法はまだ確立されていないため本研究を行った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、住居関連過敏性肺炎の原因真菌の同定である。この診断法が確立されれば、原因抗原を排除する指標が明らかとなり、本疾患の予後の改善にもつながる。

3. 研究の方法

ヒト臨床検体からの真菌の検出：気管支肺胞洗浄液(BALF；一般的に細菌学的検索・腫瘍細胞診・細胞分画のために行なう。)より *Trichosporon* 及び他の真菌の検出を試みる。対象者は住居関連過敏性肺炎ならびに夏型過敏性肺炎、対照として膠原病肺および健康者である。BALFのペレットからDNAを抽出、IGS1領域にトリコスポロンを含めた8種類真菌プライマーを作成し、抽出したDNAのPCRを行い、クローニングを行い、真菌の種を同定した。

Trichosporon 各種抗体の測定：急性および慢性住居関連過敏性肺炎を対象とし、*Trichosporon* による過敏性肺炎として報告されている *T. asahii*, *T. mucoides*, *T. ovoides*, *T. domesticum*, *T. montevidense* の特異抗体価を測定し、臨床像および診断にどのように寄与しているか検討した。

さらに *T. mucoides* (血清型 I), *T. asahii* (血清型 II), *T. domesticum* (血清型 III) の抗体価を多重ロジスティック解析にて解析し、 $score = 係数 a \times T. asahii \text{ 抗体価} + 係数 b \times T. mucoides \text{ 抗体価} + 係数 c \times T. domesticum \text{ 抗体価} + 定数の予測式でスコア化しROC解析した。$

4. 研究成果

ヒト臨床検体からの真菌の検出：住居関連過敏性肺炎 19 例、健康者 8 例、他の間質

性肺炎(膠原病肺含む)35例の患者に気管支肺胞洗浄(Bronchoalveolar lavage: BAL)を行い、真菌DNAを抽出し、種を同定した。住居関連過敏性肺炎 19 例中 17 例で *Trichosporon*、2 例で *Fusarium* が検出された(図1)。*Trichosporon* も *Fusarium* も住居関連過敏性肺炎の原因真菌として報告されており、本方法が住居関連過敏性肺炎の原因真菌同定に有用であると考えられた。

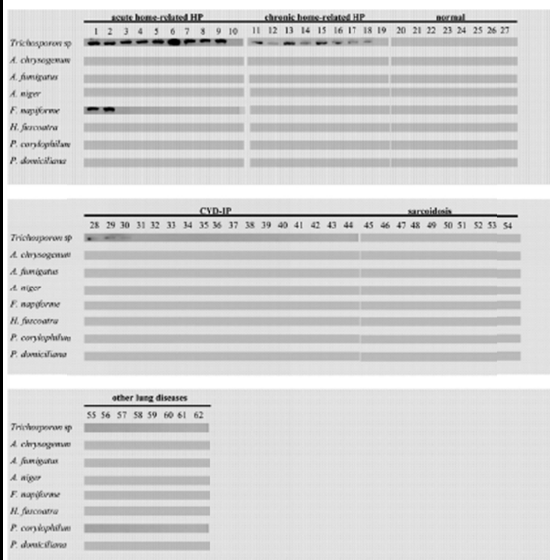


図1 住居関連過敏性肺炎のBAL中真菌DNAの同定

Trichosporon 各種抗体の測定：住居かん廉価便性肺炎のうち急性25例と慢性35例を解析した。*T. asahii*, *T. mucoides* の抗体陰性率が急性のうち1例、慢性のうち9例で陰性となり、急性と慢性では責任抗原が異なっている可能性が示唆された(図2)。

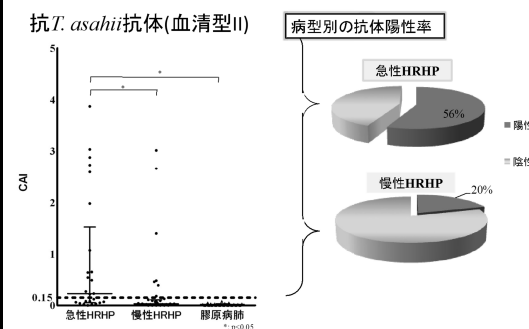


図2 抗 *T. asahii* 抗体(血清型 III) 病型別抗体陽性率

また、*T. mucoides* (血清型 I), *T. asahii* (血清型 II), *T. domesticum* (血清型 III) の抗体価を組み合わせて解析した結果、 $score = 14.986 \times T. asahii \text{ 抗体価} + 19.423 \times T. mucoides \text{ 抗体価} + 3.867 \times T. domesticum \text{ 抗体価} - 2.029$ の予測式となり、さらにこれを使用しROC解析した所、慢性住居関連過敏性肺炎の診断率は向上した(RC解析：

AUC0.8433、図3 Combined;太線)(論文準備中)

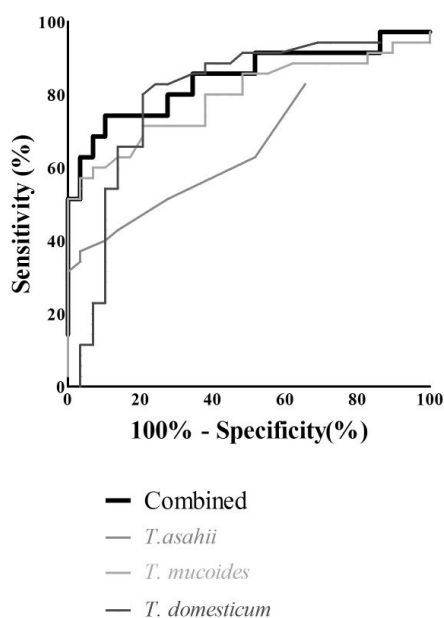


図3 *T. mucooides*, *T. asahii*, および *T. domesticum* の抗体価における診断能 (ROC 曲線)

以上の検討により、HRHP は、様々な真菌抗原が原因となっており、BALF 中の真菌 DNA を解析し、その真菌に対する抗体価を検討することにより診断能が向上することが示唆された。

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)

1. Y Miyazaki, K Unoura, T Tateishi, T Akashi, T Takemura, M Tomita, N Inase, Y Yoshizawa. Higher serum CCL17 may be a promising predictor of acute exacerbations in chronic hypersensitivity pneumonitis. *Respir Res*, 査読有、Vol.14、2013、57-67
2. T Okamoto, Y Miyazaki, T Ogura, K Chida, N Kohno, S Kohno, H Taniguchi, S Akagawa, Y Mochizuki, K Yamauchi, H Takahashi, T Johkoh, S Homma, K Kishi, S Ikushima, S Konno, M Mishima, K Ohta, Y Nishioka, N Yoshimura, M Munakata, K Watanabe, Y Miyashita, N Inase. A nationwide epidemiological survey of chronic hypersensitivity pneumonitis in Japan. *Respir Investig*, 査読有、Vol.51、2013、191-199
3. T Okamoto T, Y Miyazaki, M Tomita, M Tamaoka, N Inase. A familial history of pulmonary fibrosis in patients with chronic hypersensitivity

pneumonitis. *Respiration*, 査読有、Vol.85、2013、384-390

4. 宮崎泰成, 免疫学的機序からみた呼吸器疾患、3. 過敏性肺炎の免疫反応 2) 慢性過敏性肺炎、日胸、査読無、Vol.72、2013、1328-1335
5. 宮崎泰成, 稲瀬直彦、抗トリコスポロン・アサヒ抗体、モダンメディア、査読無、Vol.59、2013、11-17
6. 宮崎泰成, 筒井俊晴、鶴浦康司、稲瀬直彦、特集 真菌とアレルギー・炎症 真菌と過敏性肺炎、免疫・アレルギー、査読無、Vol.7、2012、30-40
7. 宮崎泰成, 岸雅人、見高恵子、安井牧人、仁多寅彦、稲瀬直彦、総説 過敏性肺炎の病態と治療、呼吸、査読無、Vol.31、2012、101-115
8. 宮崎泰成, 特集 間質性肺疾患 Up-To-Date 過敏性肺炎：原因，病型，疾患進行の多様性、THE LUNG perspectives、査読無、Vol.20、2012、295-300
9. 宮崎泰成, 稲瀬直彦、特集/難治性びまん性肺疾患克服への取り組み 慢性過敏性肺炎、呼吸と循環、医学書院、査読無、Vol.60、2012、397-404
10. K Unoura, Y Miyazaki, Y Sumi, M Tamaoka, T Sugita, N Inase. Identification of fungal DNA in BALF from patients with home-related hypersensitivity pneumonitis. *Respir Med*, 査読有、Vol.105、2011、1696-1703

[学会発表](計7件)

1. Y Miyazaki. Higher serum CCL17 may be a promising predictor of acute exacerbations in chronic hypersensitivity pneumonitis. APSR Conference 2013.11.13.
2. T Okamoto, Y Miyazaki, M Fujii, H Furusawa, T Tateishi, K Tsuchiya, T Fujie, M Tamaoka, H Sakashita, Yu Sumi, N Inase. Serum Levels Of KL-6 And SP-D In Chronic Hypersensitivity Pneumonitis. ATS 2013 International Conference, Philadelphia, USA, 2013.5.20.
3. 駒崎義利、宮崎泰成、藤江俊秀、坂下博之、土屋公威、玉岡明洋、角勇樹、稲瀬直彦 住居関連過敏性肺炎の検討 第53回日本呼吸器学会学術集会 東京、2013.4.19.
4. 宮崎泰成 日常診療で過敏性肺炎を疑うポイント、第187回東京内科医会臨床研究会 東京、2012.6.23.
5. 駒崎義利、宮崎泰成、藤江俊秀、土屋公威、玉岡明洋、坂下博之、角勇樹、稲瀬直彦 住居関連過敏性肺炎(HRHP: home-related hypersensitivity

- pneumonitis)の検討 第 62 回日本アレルギー学会 大阪、2012.11.29.
6. 鶴浦康司、宮崎泰成、藤井ゆみ、土屋公威、玉岡明洋、坂下博之、角勇樹、稲瀬直彦 住居関連過敏性肺炎におけるトリコスポロン特異抗体の検討 第 51 回日本呼吸器学会学術集会 東京、2011.4.23.
 7. Y Miyazaki, A Azuma, N Inase, T Ogura, H Taniguchi, Y Yoshizawa, Y Sugiyama, S Kudoh. A randomized, double-blind, multi-centered controlled trial of cyclosporine A vs. cyclophosphamide with corticosteroid in patients with idiopathic pulmonary fibrosis in Japan. ATS 2011 International Conference, Denver, USA, 2011.5.16.

〔図書〕(計 6 件)

1. Y Miyazaki, Y Yoshizawa, T Yamaguchi. Editor Om Sharma. Clinical focus series: Hypersensitivity pneumonitis, 9. Summer-type Hypersensitivity Pneumonitis. Jaypee Brothers Medical Publishers, 2013, 116-126
2. 宮崎泰成、稲瀬直彦、免疫・アレルギー性疾患イラストレイテッド アレルギー性疾患 過敏性肺炎、羊土社、2013、312-313
3. 宮崎泰成、過敏性肺炎 今日の臨床サポート(電子書籍) エルゼビア・ジャパン、2013
4. 宮崎泰成、間質性肺炎を究める III. 特発性間質性肺炎以外の間質性肺炎 過敏性肺炎、Medical View、2012、235-242
5. 宮崎泰成、ケアに役立つ 呼吸器疾患ナーシング 間質性肺炎/過敏性肺炎、総合医学社、2011、148-154
6. 宮崎泰成、呼吸器 研修医ノート 第 10 章各疾患のみかたと対応 F 免疫が深く関与する肺疾患 1. 過敏性肺炎、診断と治療社、2011、582-588

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮崎 泰成(MIYAZAKI, Yasunari)
東京医科歯科大学・学生支援・保健管理機構・教授
研究者番号：30396999

(2)研究分担者

杉田 隆(SUGITA, Takashi)
明治薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号：10312076

江石 義信(EISHI, Yoshinobu)
東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・教授
研究者番号：70151959

(3)連携研究者

なし