

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461175

研究課題名(和文) ヒト病変および新規動物モデルを用いたリンパ球浸潤性の肺線維化病変の病態解明

研究課題名(英文) Analysis of lymphoplasmacyte infiltrating fibrotic lung lesion using samples from human lung diseases and RA lung model in D1CC mice

研究代表者

寺崎 泰弘 (terasaki, yasuihiro)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50332870

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：IgG4関連肺病変は他臓器合併の典型例での検討でリンパ路自体を首座とするリンパ球形質細胞浸潤性の肉芽性病変で、鑑別であるMulticentric Castleman's disease肺病変は肉芽性変化が乏しいが硝子化線維化を伴い濾胞形成などリンパ球、形質細胞浸潤・増殖が主体でリンパ路隣接の肺泡領域が病変主座である違いを報告した。

D1CCマウスでのRA肺モデルは、気管支血管周囲の広義間質から周囲末梢肺にリンパ球、顆粒球の細胞浸潤と線維化の病変の伸展がみられヒトRA肺病変に類似し有用なモデルと思われた。抗酸化抗炎症作用ある高濃度水素水投与で同病変は抑制され、この治療の臨床応用が期待できた。

研究成果の概要(英文)：Although both lesions had lymphoplasmacyte infiltrated lesion, lung lesions of IgG4-related disease was characterized by active fibrosis with eosinophilic infiltration within lymphatic stroma itself with obstructive vasculitis, whereas lung lesion of idiopathic multicentric Castleman's disease was marked lymphoplasmacyte proliferating lesions mainly in the alveolar area adjacent to lymphatic stroma and sometimes conspicuous cyst formation. These clinicopathological features may help differentiate them and influence their prognoses.

RA lung model in D1CC mice is very similar to RA lung in humans with inflammatory cells infiltration and alveolitis as lymphangiitic distribution and would be valuable model for investing general pathophysiology of chronic interstitial pneumonias in humans. H2 treatment protected the lung damage with reduction of the increased levels of serum SP-D, CT image density as well as histological changes, thus would be valuable for protection against RA induced lung.

研究分野：呼吸器疾患 病理

キーワード：リンパ球増殖性肺疾患、IgG4関連肺病変、Castleman's disease、RA肺モデル、D1CCマウス、高濃度水素水、Sp-D、抗酸化作用

1. 研究開始当初の背景

リンパ球浸潤性の肺病変は、IgG4 関連病変の概念など一部病態解明の進展があるが、まだ不明な部分も多く、Multicentric Castleman's disease (MCD)の肺病変などとの鑑別も困難な状況があり、東京びまん性間質性肺疾患研究会など全国規模での検討を行っている。一方でリウマチ(RA)肺などは高齢者でのRAの1%以上の高発症率に伴う増加や新規抗リウマチ薬を含めた薬剤性の肺傷害病変やリンパ腫病変も来す複雑な病変の増加も併せて今後ますます問題なる。

連携研究者の金澤が樹立したD1CCリウマチRA肺モデルマウスは、関節RA病変が発症した上で肺病変が生じてくるこれまでにない慢性肺線維症の動物モデルである。このように我々には多くのIgG4,MCD,RA関連肺病変などヒトのリンパ球浸潤性の肺病変や、D1CCマウスのRA肺モデル病変の解析が容易に可能な環境がある。

2. 研究の目的

今回これらヒトおよび動物病変を用い、これまで確立してきた肺線維化に関する病理形態から分子生化学的手法にわたる解析経験を生かし、上皮や内皮の傷害と再生、炎症免疫、apoptosis、酸化ストレス関連分子などの動態も解析に加え、リンパ球浸潤のある肺線維化病変の病態を明らかにし、広く間質性肺炎の病態に対する臨床応用も念頭に入れた研究を立案した。

3. 研究の方法

I:IgG4、MCD、RAの肺病変の病理形態学的な特徴の検討

1)上記3疾患の症例群について臨床画像病理での診断確定作業を行いそれぞれの肺病理所見の特徴と違いをHE,EMG,AL-PAS染色を中心に解析する。

2)免疫染色:上記3疾患の症例群の肺病理検体を用いリンパ球と内皮細胞、上皮細胞、線維芽細胞などに注目しながら、その上皮や内皮細胞の傷害と再生、間質の反応など病変の状態を免疫組織化学などにて解析を行う。

II: RAマウス肺傷害モデルの線維化の病態の解析を行う。
連携研究者である金澤が作製樹立したRA肺モデルマウスになるD1CCマウスの供与をうけ、早期のリンパ球浸潤から後期の線維化になるRA肺病変の形成過程を解析する。

1)呼吸運動に同期モードのある動物用CT装置を用い経時的な肺病変の画像的検索を行う。

2)経時的なRAモデル肺病変をwild-control肺と比較を含めた病理学的検討を行う。

1:病理形態学的検索:HE、EMG、AL-PAS、ギムザ染色で炎症細胞、上皮内皮傷害、線維化を評価する。

2:免疫染色:リンパ球など炎症細胞と線維芽細胞、内皮細胞、上皮細胞などに注目しながら

ら、その上皮や内皮細胞の傷害と再生、間質の反応状態等を免疫組織化学などにて解析を行う。

3)経時的なRAモデル肺病変のwild-control肺と比較を含めた生化学的量的評価。

1:血清:LDH、SP-Cの他、酸化ストレスや病変病態関連因子の活性、蛋白の量的な比較検索をELISA、ウエスタンブロット法で行う。

2:凍結肺組織:同様に病変病態関連因子の活性、蛋白、mRNA発現量をELISA、ウエスタンブロット、リアルタイムPCRなども含めて同様に測定し量的に比較解析する。

4)H₂処理群を加えたRA肺疾患モデルを作成し、抗酸化作用の効果を評価する。H₂飽和飲料水投与をモデル誘導時、モデル誘導後前期、後期に分けて行い上記II 1-3)について検索し抗酸化作用の効果を評価する。

4. 研究成果

診断基準をみたしVATSでの肺病理組織が得られた症例群の中で他臓器合併典型13例での検討では、IgG4関連の肺病変は、リンパ路を首座とするリンパ球形質細胞浸潤性の肉芽性病変であり(Respirology.2013 Apr; 18(3):480-7.)、慢性IP様の症例は肺単独例にのみで、膠原病関連IPと区別がつかない症例が殆どで肺単独例の場合は診断に慎重である必要性があげられた。(びまん性肺疾患に関する調査研究 平成25年度研究報告書) またIgG4関連疾患と鑑別が問題となるMulticentric Castleman's disease (MCD)の症例群の検討では肉芽性変化が乏しく硝子化線維化を伴う濾胞形成性のリンパ球、形質細胞浸潤増殖性病変で、嚢胞性変化を来す点など違いがある事を報告し(病理と臨床2014;32:10;1109-1116)、2疾患の多数例でのまとまった肺病理比較報告はなく重要なデータであり英文論文を投稿中である。

D1CCマウスで2型コラーゲンの皮下注射によりマウスRA肺モデルを作成し、病理形態学的な解析と高濃度水素分子(H₂)水飲水の病変に対する効果を以下のものであった。10ヵ月の早期病変では気管支や血管、胸膜の周囲の広義間質にリンパ球、形質細胞、好酸球、組織球の浸潤がみられ、肺胞領域にも散在性、小血管中心性にリンパ球浸潤や周囲気腔内の組織球集族とSp-C陽性の2型肺胞上皮の過形成を伴う早期の線維化病変が見られた。18ヵ月の後期進行病変では広義間質から肺全体に細胞浸潤と腔内線維化を伴う進行した線維化病変がみられた。D1CCマウスRA肺モデルは、病変の出現期間、分布、質も大きく異なり、ヒトのリウマチ肺病変に類似して有用なマウスモデルと思われた。RA肺モデルでは、血中のSp-Dや過酸化脂質マーカーLPOの上昇や胸部CT画像の肺野濃度上昇が10ヵ月でみられ、肺組織中のTNF- α 、IL-6、TGF- β が増加するが、高濃度H₂水投与

では有意に抑制され、組織学的にも広義間質の炎症細胞浸潤や肺泡領域の組織球集簇と線維化所見はH₂水治療で抑制された。高濃度水素治療の臨床応用が期待できると考えられた。(厚労省科学研究委託業務難治性疾患実用化研究事業 平成26年度研究報告書、病理学会総会2015年、ATS2016年)

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) Pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma associated with pulmonary sarcoidosis: a case report and literature review Kokuho N, Terasaki Y, Urushiyama H, Terasaki M, Kunugi S, Morimoto T, Azuma A, Usuda J, Gemma A, Eishi Y, Shimizu Akira, Hum Pathol (査読有)in press

2) Inter-Observer Agreement of Usual Interstitial Pneumonia Diagnosis Correlated with Patient Outcome Hashisako M, Tanaka T, Terasaki Y, Uekusa T, Hayashi T, Kondou Y, Taniguchi H, Fukuoka J Archives of Pathology Laboratory Medicine (査読有)in press

3) Osteogenesis imperfecta associated with dendriform pulmonary ossification. Morikawa M, Fukuda Y, Terasaki Y, Itoh H, Demura Y, Sasaki M, Imamura Y, Honjo C, Umeda Y, Anzai M, Ameshima S, Ishizaki T, Ishizuka T. Am J Respir Crit Care Med. (査読有) A Vol 193, Iss 4, pp 460-461, Feb 15, 2016

4) Role of $\alpha 1$ and $\alpha 2$ chains of type IV collagen in early fibrotic lesions of idiopathic interstitial pneumonias and migration of lung fibroblasts. Urushiyama H, Terasaki Y, Nagasaka S, Terasaki M, Kunugi S, Nagase T, Fukuda Y, Shimizu A Lab Invest (査読有)95(8):872-85:2015

5) Uterine leiomyosarcoma with osteoclast-like giant cells associated with high expression of receptor activator of nuclear factor κ B ligand. Terasaki M, Terasaki Y, Yoneyama K, Kuwahara N, Wakamatsu K, Nagahama K, Kunugi S, Takeshita T, Shimizu A Hum Pathol (査読有)Jul 21. S0046-8177(15):00254-3: 2015

6) Role of survivin in acute lung injury: epithelial cells of mice and humans. Terasaki Y, Terasaki M, Urushiyama H, Nagasaka S, Takahashi M, Kunugi S, Ishikawa A, Wakamatsu K, Kuwahara N, Miyake K, Fukuda Y. Lab Invest. (査読有) Oct;93(10):1147-63. 2013

7) The difference of neovascularization in early intra-alveolar fibrosis between nonspecific interstitial pneumonia and

usual interstitial pneumonia. Takahashi M, Kunugi S, Terasaki Y, Terasaki M, Urushiyama H, Kuwahara N, Wakamatsu K, Nakayama T, Fukuda Y. Pathol Int. (査読有) May;63(5):237-44. 2013

8) Immunoglobulin G4-related lung disease: clinicoradiological and pathological features. Matsui S, Hebisawa A, Sakai F, Yamamoto H, Terasaki Y, Ogura T. Respiriology. (査読有) Apr;18(3):480-7. 2013

9) A mucin-rich variant of salivary duct carcinoma with a prominent mucinous component, a tumor that mimics mucinous adenocarcinoma. Terasaki M, Terasaki Y, Wakamatsu K, Takahashi M, Kunugi S, Urushiyama H, Sakanushi A, Okubo K, Fukuda Y. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. (査読有) Sep;116(3):e210-4. 2013

10) びまん性肺粒状網状影を呈する Micronodular pneumocyte hyperplasia (MNPH)の1例 寺崎泰弘、寺崎美佳、一門和也、竹屋元裕、福田悠 日医大医会誌 (査読有)第9巻2号 42- 43 2013

[学会発表](計13件)

1) The process of development of lung fibrosis in the Rheumatoid Arthritis lung model and the effect of H₂ treatment in D1CC mice. Yasuhiro Terasaki, Nariaki Kokuho, Mika Terasaki, Shinobu Kunugi, Hirokazu Urushiyama, Motoyo Maruyama, Toshio Akimoto, Satoshi Kanazawa, Akira Shimizu, American Thoracic Society International Conference (USA. San Francisco), 2016.5.13-18

2) Localized pulmonary crystal-storing histiocytosis complicating pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma Nariaki Kokuho, Yasuhiro Terasaki, Shinobu Kunugi, Naomi Onda, Hirokazu Urushiyama, Mika Terasaki, Hino Mitunori, Akihiko Gemma, Tsutomu Hatori, and Akira Shimizu American Thoracic Society International Conference(USA. San Francisco), 2016.5.13-18

3) A case of sarcomatoid mesothelioma with osteosarcomatous element of the pleura Terasaki M, Terasaki Y, Kokuho N, Kunugi S, Nagahama K, Urushiyama H, Kajimoto Y, Shimizu A American Thoracic Society International Conference (USA. San Francisco), 2016.5.13-18

4) 特発性と骨髄移植後の弾性線維増生(PFE型)肺線維症病変の病理学的特徴および弾性線維関連病態のUIP型病変との比較 寺崎泰弘、國保成暁、寺崎美佳、功刀しのぶ、桑原尚美、比島恒和、井上幸治、橋本潔、西岡安彦 5、清水章

日本病理学会総会 2016.5.12-14 仙台

5) Role of 1 and 2 chains of Type IV Collagen in Early Fibrotic Lesions of Idiopathic Interstitial Pneumonias and Migration of Lung Fibroblasts Y. Terasaki, H. Urushiyama, N. Kokuho, M. Terasaki, S. Kunugi, Y. Fukuda, and A. Shimizu American Thoracic Society International Conference (Denver), 2015.5.15-20

6) リウマチ肺モデルD1CCマウスの肺病変の病理形態学的に解析と高濃度水素分子(H₂)水素水の病変に対する効果 寺崎泰弘、漆山博、國保成暁、寺崎美佳、功刀しのぶ、金沢智、清水章 日本病理学会総会(第104回) 2015.4.30-5.2 名古屋国際会議場

7)サルコイドーシス経過中に発症した肺MALToma 國保成暁、漆山博和、梶本雄介、長濱清隆、寺崎美佳、功刀しのぶ、益田幸成、寺崎泰弘、江石義信、清水章 日本病理学会総会(第104回) 日本病理学会総会 2015.4.30-5.2 名古屋国際会議場

8)間質性肺炎の早期線維化巣におけるIV型コラーゲンの沈着と線維芽細胞遊走についての解析 漆山博和、寺崎泰弘、永坂真也、國保成暁、寺崎美佳、功刀しのぶ、清水章 日本呼吸器学会総会 2015年04月17日~2015年04月19日 東京国際フォーラム

9) Hydrogen-supplemented drinking water protects against naphthalene- gefitinib induced lung injury from inflammation-associated oxidative stress. Y. Terasaki, T. Suzuki, I. Ohsawa, H. Urushiyama, M. Terasaki, M. Takahashi, S. Kunugi, A. Ishikawa, N. Kuwahara, N. Kokuho, A. Shimizu American Thoracic Society International Conference (USA. San Diego), 2014.5.16-21

10) 高濃度水素水によるゲフィチニブの急性肺傷害抑制 寺崎泰弘、大澤郁朗、鈴木徹也、渡名喜梢、漆山博和、寺崎美佳、功刀しのぶ、福田悠、清水章 日本病理学会総会(第103回) 2014年04月24日-26日 広島

11) 気腫合併肺線維症の病理組織学的検討: 分類不能型間質性肺炎に焦点をあてて 武村民子、蛇澤晶、寺崎泰弘、小橋陽一郎、村上知之、熊坂利夫、田畑和宏、福岡順也、藤井丈士、河端美則、小倉高志 日本病理学会総会(第103回) 2014年04月24-26日 広島

12) Comparison of pathological features of The lung lesions of systemic IgG4-related disease and multicentric Castleman's disease Y. Terasaki, S. Ikushima, Y. Ichimura, M. Ujita, Y. Matsuzawa, M. Arita, K. Tomii, Y. Komase, I. Ohwan, T. Kawamura, S. Izumi, M. Murakami, H. Ishimoto, H. Kimura, M. Bando, N. Hada, N. Nishimoto, S. Matsui, T. Ogura American Thoracic Society International Conference (USA. San Francisco), 2013.5.17-22 Philadelphia, USA

13) IgG4 関連肺病変と Multicentric Castleman's disease (MCD) 肺病変の病理学的比較検討 寺崎泰弘、蛇澤晶、河端美則、熊坂利夫、武村民子、大田泰徳、福田悠 第102回 日本病理学会総会(招待講演) 2013年06月06日~2013年06月08日 口イトン札幌

〔図書〕(計8件)

- 1) 寺崎泰弘 南江堂 内科びまん性肺疾患の分類と診断「病理診断と問題点」特集ここまで進んだ!びまん性肺疾患の診断と治療 2016年2月
- 2) 寺崎泰弘 メジカルビュー社 集中講義病理学 改訂第2版 上気道、肺、胸膜・縦隔 in press
- 3) 漆山博和、寺崎泰弘、山内康宏、國保成暁、寺崎美佳、功刀しのぶ、長瀬隆英、厚生労働省難治性疾患政策研究事業 びまん性肺疾患に関する調査研究 平成27年度研究報告書 間質性肺炎の早期線維化巣における canstatin の発現とその作用の解析 2015年P.335-P.344
- 4) 寺崎泰弘、漆山博和、福田悠 克誠堂出版株式会社 日本胸部臨床 ATS/ERS2013IIPs 分類と今後の課題:病理学的な概説と今後の課題 2014年2月
- 5) 寺崎泰弘 文光堂 病理と臨床 リンパ増殖性肺疾患 2014年2月
- 6) 寺崎泰弘、國保成暁、漆山博和、寺崎美佳、功刀しのぶ、丸山基世、秋元敏雄、金澤智 厚労省科学研究委託業務難治性疾患実用化研究事業 平成26年度研究報告書 D1CCマウスリウマチモデルの肺病変の病理形態学的に解析と高濃度水素分子(H₂)水飲水の病変に対する効果 2014年
- 7) 寺崎泰弘、福田悠 南光堂 間質性肺炎診療マニュアル 改訂第2版. II-C 特発性間質性肺炎の鑑別診断のポイント 2014年
- 8) 寺崎泰弘、松井祥子、蛇澤晶、酒井文和、山本洋、栗原泰之、早稲田優子、河村哲治、宮下知子、井上博雅、羽田憲彦、増淵裕朗、杉野圭史、岸潤、小林英夫、石田正之、土屋裕、甲田賢治、漆山博和、國保成暁、寺崎美佳、功刀しのぶ、河端美則、小倉高志、東京びまん性肺疾患研究会 びまん性肺疾患に関する調査研究 平成25年度研究報告書 肺・呼吸器領域のIgG4関連疾患の特徴と鑑別、病理学的診断基準にむけて 2014年

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
肺病変を有する MCD の臨床・画像・病理学的
検討 [http:// college.nms.ac.jp/ files/
college/ ichiran_20150114.pdf](http://college.nms.ac.jp/files/college/ichiran_20150114.pdf)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺崎 泰弘 (TERASAKI, Yasuhiro)
日本医科大学・医学部・准教授
研究者番号：50332870

(2) 研究分担者

松井 祥子 (MATSUI, Shoko)
富山大学・学内共同利用施設等・教授
研究者番号：40334726

寺崎 美佳 (TERASAKI, Mika)
日本医科大学・医学部・助教
研究者番号：50372785

三宅 弘一 (MIYAKE, Koichi)
日本医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90267211

(3) 連携研究者

金澤 智 (KANAZAWA, Satoshi)
名古屋市立大学・医学(系)研究科・
助教
研究者番号：90347401

功刀 しのぶ (KUNUGI, Shinobu)
日本医科大学・医学部・講師
研究者番号：30350036

(4) 研究協力者

小倉 高志 (OGURA, Takashi)