

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461150

研究課題名(和文)呼吸器疾患に伴う肺高血圧症の肺血管および右心系に関する臨床病理学的検討

研究課題名(英文)Clinicopathological study on the pulmonary vasculopathy and right heart morphology/function in lung disease-associated pulmonary hypertension

研究代表者

辻野 一三 (TSUJINO, Ichizo)

北海道大学・医学研究科・特任教授

研究者番号：00344507

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肺疾患合併肺高血圧症(R-PH)における肺血管と心臓(特に右心系)の形態・機能解析を行った。病理学的検索では、肺血管のリモデリングと同時に肺血管拡張薬の標的蛋白質の局在を証明し、将来的な肺血管拡張療法の適応に係る重要な知見と考えられた。臨床研究では、肺血管拡張薬がR-PH症例の肺血管抵抗低下に加え右心系指標も改善することを英文誌に発表した。そのほか、血液検査にてインスリン濃度、インスリン抵抗性指標およびマイオカインの上昇を見出し、さらに右心系指標として注目される右室収縮能、右室・肺動脈カップリングの障害を確認した。また肺高血圧症における胸部CT指標の有用性も検証、発表した。

研究成果の概要(英文)：We studied cases with lung disease-associated pulmonary hypertension and demonstrated remodeling of the pulmonary vasculature as well as the expression of target proteins of pulmonary vasodilators. The expression was also shown in myocardial tissue, suggesting favorable effects of pulmonary vasodilating treatment. In the clinical study, we showed significant improvement in the pulmonary vascular resistance and right heart morphology/function (published in the journal Pulmonary Circulation, 2017). We also notably shown elevations of blood insulin level, index of insulin resistance, and plasma concentration of BDNF, one of the myokines, in pulmonary hypertension patients. Lastly, in our study, clinical relevance of chest computed tomography-derived indices of pulmonary vascular system was examined and we found their usefulness in the diagnosis and hemodynamic evaluation of pulmonary hypertension.

研究分野：肺高血圧症

キーワード：肺高血圧症 病理組織学的解析 心臓MRI 胸部CT 肺疾患合併肺高血圧症 右心形態 右心機能

1. 研究開始当初の背景

- (1) 肺高血圧症 (PH) は肺血管の狭窄や閉塞により肺動脈圧が上昇する疾患群の総称である。近年、肺高血圧症に対する治療の大きな進歩がみられるが、一部の群では十分な治療や予後の改善が得られていない。その中で呼吸器疾患に伴う肺高血圧症 (R-PH) は他のタイプの肺高血圧症と病態が異なり、治療効果も不良である。
- (2) PH は肺の血管の疾患と捉えることが可能である。しかし、実際には肺動脈圧の上昇は心臓への負担となり、その結果息切れやむくみ、重症例では心不全死の原因となる。したがって、PH の診療においては肺血管病変に関連する病状や検査結果に加え、心臓の形態や機能を正確に評価し、治療に生かすことは非常に重要である。その中で、今日まで R-PH における心臓の形態・機能解析は十分に進められていなかった。

2. 研究の目的

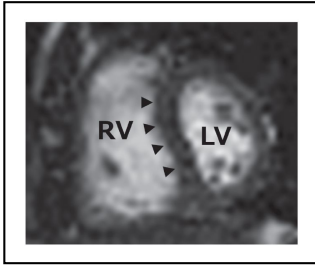
- (1) 研究 1 : R-PH 症例の肺血管病変の病理組織学的特性を解析する。解析は、弾性繊維染色標本による形態的变化と、免疫染色による肺血管拡張薬の標的蛋白の局在の有無・程度を評価することとした。
- (2) 研究 2 : 血液など生体から得られた検体を対象に R-PH および肺動脈性肺高血圧症 (PAH) の発症・病態に関連があると推測される物質を解析する。ここでは従来から臨床指標として広く用いられている脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) などに加え新しい視点として、動脈硬化性疾患との関連が確立しているインスリン抵抗性や高インスリン血症、および筋肉由来の生理活性物質 (マイオカイン) として注目される Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) の測定を予定した。
- (3) 研究 3 : R-PH 症例の右心系形態・機能評価。臨床的アプローチとして、心臓 MRI を用いて右心系の内腔容量や機能解析を行った。加えて、研究 1 と同様に、免疫組織学的に右心室、左心室、心室中隔の病理組織学的に解析する。
- (4) 研究 4 : 当科症例における肺動脈/大動脈 (PA/Ao) 径比計測の臨床的意義。CT 指標として最も広く知られる PA/Ao 比に加え、より末梢血管の指標、および静脈系の指標も加えて解析する

ことで、非侵襲的にかつより多面的に PH の診断や病態把握が可能となるかを検証した。

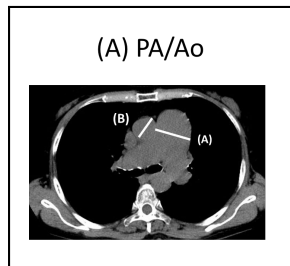
3. 研究の方法

- (1) 研究 1 : 病理検体 (剖検肺、移植肺、胸腔鏡下生検肺) を用いて HE 染色、弾性繊維染色、免疫組織学的検討を行う。病理学的解析は共同研究者の当学腫瘍病理学教室谷野美智枝講師との協力のもとに行った。第一段階として評価可能な剖検検体の確認を行う。対象症例には R-PH に加え、肺疾患合併のない PAH 症例も比較のために選出した。また正常病理所見を得る目的で、肺・心疾患のない症例も得、R-PH、PAH 症例と同様の病理学的解析を行った。
肺血管病変の不均一性も勘案し、肺は 5 葉から得た病理検体を解析する。解析方法として、まず弾性繊維染色標本により内膜・中膜の肥厚を判定量評価した。次に、免疫組織学的検索は検体内の positive control 部位との比較の形で半定量評価した。解析対照とする蛋白は以下の 6 種を取り上げた (1. エンドセリン受容体 A、2. エンドセリン受容体 B、3. フォスフォジエステラーゼ 5、4. プロスタサイクリン受容体、5. 可溶性グアニレートサイクレーズ、6. 可溶性グアニレートサイクレーズ)。また肺高血圧症症例の予後に大きく関連する心筋組織についても同様の免疫組織学的解析を行う。
- (2) 血液・BAL 液検体を用いた PAH 治療薬関連物質と代謝関連物質の測定を行う。生前に PAH 治療薬を投与されていた症例ではその反応と得られた病理・血液生化学的結果を比較・検討する。測定項目としては末梢血、一般的生化学的検査項目、BNP、空腹時血糖値、空腹時インスリン濃度 (immuno reactive insulin (IRI))、BDNF 濃度とした。なお、空腹時インスリン濃度、血糖値からインスリン抵抗性の指標である HOMAIR、インスリン分泌指標である HOMA を算出した。
- (3) 右心形態・機能評価は主に心臓 MRI を用いて行った。原則、当科の既報と同様の方法で評価した (Sato et al., Int J Cardiol. 2013)。具体的には心電図同期画像を用いて撮像した複数の静止画像をトレースすることで右心室の容量、右室駆出率を算出し (下図) 解析した。また、より正確な右心室の収縮能指標である Ees、右室肺動脈カッピングの指標である Ees/Ea、さらに拡張能指標と考えられている stiffness coefficient

(値)も算出して、健常者との比較などを行った。



(4) PA/Ao 径比は算出方法が確立しており、広く用いられている方法に準じて算出した。加えて COPD 合併 PH で報告のある %CSA<5 (肺末梢血管の断面積の肺野面積全体に対する比率) についても解析を行った。さらに肺血流量を反映すると推測され、かつ簡単に計測可能な肺静脈系についても解析を行った。



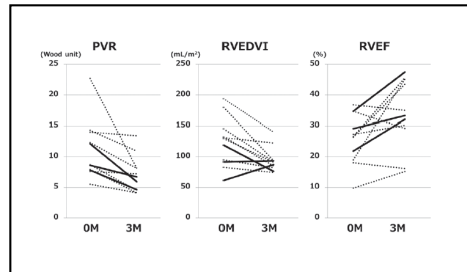
4. 研究成果

(1) 病理学的解析の対象症例として適切な剖検症例を、PH では 12 例、対照症例 (肺疾患・肺循環疾患のない症例) 3 例を選定した。本報告書記載の時点では解析途中であるが、preliminary な結果としては弾性染色検体において PH 症例では内膜、中膜の肥厚が確認されている。また免疫組織学的検索では、リモデリングを来した肺血管壁において 6 種の肺血管拡張薬の標的蛋白が程度の差はあれ多くの症例でその存在が確認された。ただし健常者との比較の詳細な統計学的解析は施行中の段階である。また、心筋における 6 種の蛋白質の局在についても現在、定量評価中である。

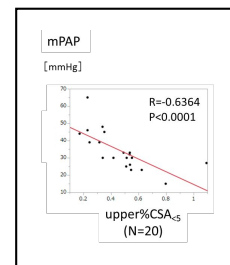
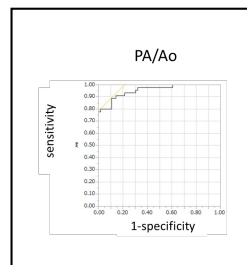
(2) 種々の解析結果の中で、病態解明や治療への応用が期待されるものとしてインスリン抵抗性、高インスリン血症があげられる。PH 症例約 50 例の検討で、インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR は、軽度上昇のカットオフ値である 1.6 を超える症例が多く認められ、2.5 以上の症例も散見された。また対象群と比較しても、有意な上昇を認めた。この結果については 2017 年開催予定の第 2 回肺高血圧・肺循環学会で発表予定である。また、血清インスリン濃度 (IRI) も健常者と比較し

有意に高値であり、動脈硬化性疾患と同様にインスリン抵抗性、高インスリン血症が PH の病態に何らかの影響を有することが示唆された。また、血清 BDNF 濃度の上昇を示唆するデータも得られており、その検証と臨床的意義についてさらに解析を進める予定である。

(3) Lung-PH 症例の右心形態、機能解析を MRI を用いて行った。結果、Lung-PH 症例では対照例に比較して右心房、右心室の内容積が拡大していることが示された。さらに、右心室の収縮能を一部反映する右室駆出率が有意に低下していることを日本人で初めて海外誌に発表した (Sato et al., Pulm Circ 2017)。さらに肺血管拡張薬を投与された後の経過を観察できた症例において右心系の容量・機能を追跡し、多くの症例では肺血管拡張薬の投与により拡大していた右心室の容量が軽減し、また右室駆出率も改善することを示した。



(4) PA/Ao 比については、まず PAH 症例で解析し、既報にあるような PA/Ao 比の上昇を確認した。同指標は PH の診断において有用であるほか、PA/Ao 比は平均肺動脈圧と上昇することも示された (下図)。加えて、COPD 合併 PH で報告のある %CSA<5 も計測し、これが PAH 症例でも上昇していることを確認した。この知見については、第 1 回肺高血圧・肺循環学会 (於東京) で発表し、さらに解析を進めた研究成果を 2017 年 6 月の第 2 回肺高血圧・肺循環学会にて発表予定である。同時並行で英文論文としての準備も進めている。



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3件)

Sato, T. Tsujino, I. Sugimoto, A., Konno S. (8番目), et al., The effects of pulmonary vasodilating agents on right ventricular parameters in severe group 3 pulmonary hypertension: a pilot study. *Pulm Circ.* 2016 Dec;6(4):524-531. doi: 10.1086/688712

Sato, T., Ohira, H., Tsujino, I. Representative Chest Auscultation Findings in Pulmonary Hypertension: Phonocardiograms and Sound Clips. *Ann Am Thorac Soc.* 2017 Mar 2. doi: 10.1513/AnnalsATS.201612-1031LE.

Noguchi, A., Tsujino I. (6番目), et al., Bi-ventricular interplay in patients with systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension: Detection by cardiac magnetic resonance. *Mod Rheumatol.* 2016 Aug 18:1-8

[学会発表](計3件)

学会名: 第1回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会、発表者: 辻野一三、発表表題: 肺疾患による重症肺高血圧症、発表日: 2016年10月1日、会場名: 京王プラザホテル(東京)

学会名: 第56回日本呼吸器学会学術講演会、発表者: 辻野一三、発表表題: RCT・メガトリアルとリアルワールドの乖離、発表日: 2016年4月10日、会場名: 国立京都国際会館

学会名: 第4回日本肺循環学会 第3回日本肺高血圧学会合同学術集会、発表者: 辻野一三、発表表題: 呼吸器疾患に伴う肺高血圧症の治療～肺血管拡張薬の位置づけ、発表日: 2015年10月4日、会場名: ステーションコンファレンス東京

[図書](計0件)

[産業財産権] なし

出願状況(計0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0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

5. 研究組織

(1) 研究代表者
辻野一三 (TSUJINO, Ichizo)
北海道大学大学院医学研科 呼吸器内科学
講座・特任教授
研究者番号: 00344507

(2) 研究分担者
今野哲 (KONNO, Satoshi)
北海道大学大学院医学研究科 呼吸器内科学
講座・准教授
研究者番号: 20399835

谷野美智枝 (TANINO, Mishie)
北海道大学大学院医学研究科 腫瘍病理学
分野・講師
研究者番号: 90360908

(3) 連携研究者
なし

(4) 研究協力者
なし