

平成 30 年 9 月 14 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09194

研究課題名(和文)肺微小環境PGE2産生を反映する尿中PGE-MUMのIPFにおける有用性の検討

研究課題名(英文)Clinical evaluation of PGE-MUM as a biomarker in IPF

研究代表者

原 弘道 (Hara, Hiromichi)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：70398791

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：慢性線維性間質性肺炎(Chronic Fibrosing Interstitial Pneumonia: CFIP)におけるプロスタグランジンE主要尿代謝物(PGE-MUM)測定の有用性を検討した。コントロール群に比べ、CFIP群ではPGE-MUMが有意に増加していた。また、CFIP群ではPGE-MUM値が画像上の線維化スコアと相関し、肺拡散能と逆相関した。以上より、PGE-MUMはCFIPにおける肺線維化の有用なバイオマーカーとなりうる可能性が示唆された。また、IPFの肺組織では化生上皮細胞のCOX-2発現が増加しており、同細胞がIPFでの主要なPGE-MUMの産生源と考えられた。

研究成果の概要(英文)：We explored the clinical usefulness of measuring stable prostaglandin E-major urinary metabolite (PGE-MUM) with respect to pathogenesis and extent of chronic fibrosing IP (CFIP), including idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). Compared to control, PGE-MUM levels were significantly elevated in CFIP. PGE-MUM levels were positively correlated with FS, and inversely correlated with %DLCO in IP. PGE-MUM can be a promising biomarker reflecting disease activity in CFIP. COX-2 was highly expressed in metaplastic epithelial cells in IPF, suggesting that these cells are major sources of elevated PGE-MUM in IPF.

研究分野：間質性肺炎

キーワード：間質性肺炎 PGE-MUM

1. 研究開始当初の背景

(1) IPF 病態における PGE2 の重要性

IPF は、種々の刺激による上皮細胞の損傷と、引き続き異常な修復がその病態と考えられており、病理学的には老化した異常な化生上皮細胞と、筋線維芽細胞の増殖が特徴とされている。

Prostaglandin(PG)E2 は Cyclooxygenase (COX)により合成される代表的な炎症制御物質であり、様々な作用機序を介して呼吸器疾患の病態と密接に関連する。PGE2 は上皮細胞、線維芽細胞、いずれの細胞からも産生され、IPF の病態形成においても重要な役割を果たしている。IPF の化生上皮細胞では、PGE2 産生で重要な COX-2 の発現が増加しており、PGE2 産生も亢進している可能性が高い。一方、IPF の気道被覆液では PGE2 は低下しているとの報告もあり、必ずしも一定の結果が得られていない。PGE2 には抗線維化作用があり、IPF の線維芽細胞での PGE2 の産生低下が、線維化進展に関与すると報告されている。安定性に乏しい PGE2 の測定方法などの問題から、これまでの過去の報告では、IPF 肺の微小環境における実際の PGE2 濃度は、正確には測定できていない可能性を我々は考えている。さらに、PGE2 の発現量ではなく、線維芽細胞での PGE2 受容体の減少による PGE2 抵抗性が線維化進展には重要との報告もある。興味深いことに、プレオマイシンによる肺線維化動物モデルでは、肺全体の PGE2 は増加する一方で線維芽細胞の PGE2 受容体が減少していることが報告されている。以上より、PGE2 の測定を正確に行い、かつ受容体発現の影響を明らかにすることが IPF の病態を明らかにするためには重要である。

(2) 疾患活動性マーカーとしての PGE-MUM の有用性と課題

PGE2 の正確な測定は、病態を理解し、病勢を評価する上で有用である可能性が高い。しかしながら、PGE2 は半減期が短く、不安定であるため、臨床検体での評価は困難とされてきた。近年、PGE2 の主要な代謝産物で、尿中に排泄され、安定で PGE2 産生を比較的正確に反映する PGE-MUM (prostaglandin E-main urinary metabolite) の Radioimmunoassay (RIA) による測定が可能となった。つまり、PGE-MUM の測定は、簡便で、非侵襲的であり、病勢に合わせて繰り返し測定可能なため、有用な疾患マーカーとなる可能性がある。実際、PGE-MUM の疾患活動性マーカーとしての有用性に関しては、潰瘍性大腸炎における局所の炎症を反映することが報告されており (Arai et al, Inflamm Bowel Dis, 2014 Jul;20(7):1208-16.) IPF における PGE2 の産生についても、より信頼性の高いデータを得ることができる可能性がある。

しかしながら、PGE-MUM は肺全体、さら

には全身由来の PGE2 の総量を反映すると考えられるため、PGE-MUM の評価だけでは、どの臓器のどの細胞の PGE2 産生量の変化をより反映しているかの判定が困難であり、病態の詳細な解明にはつながらない。そこで、我々は、実際の肺組織、分離した細胞、マウスモデルを用いて、PGE2 の産生、分解に関わる代謝酵素の発現などを詳細に検討し、IPF における PGE2 の産生及び作用のメカニズムについて明らかにすることが重要と考えた。

2. 研究の目的

IPF は、進行性の肺線維化を特徴とする予後不良の呼吸器疾患であり、疾患活動性の評価は、临床上、重要な課題である。Prostaglandin(PG)E2 は IPF 病態において重要な役割を果たしており、疾患活動性との相関が想定されるが、半減期が短く臨床検体における測定が困難であった。しかし、近年、比較的安定な尿中代謝産物 PGE-MUM の測定が可能となった。

本研究では、IPF のバイオマーカーとしての PGE-MUM 測定の有用性を臨床的に検討し、その理論的背景を分子生物学的手法で明らかにし、IPF の病態解明、治療法開発のための知見を得る。

3. 研究の方法

1) IPF を含む各種呼吸器疾患患者における尿中 PGE-MUM 測定

東京慈恵会医科大学呼吸器内科通院中の各種呼吸器疾患患者で、本研究の趣旨に文書にて同意の得られた患者の尿検体を採取し、PGE-MUM の測定を行い、疾患ごとに分類し、比較検討を行った。患者より採取された尿は遠心分離後、凍結保存し、PGE-MUM を radioimmunoassay 法にて測定した。PGE-MUM の測定値は各種臨床データとの比較を行った。IPF を含む、Chronic Fibrosing Interstitial Pneumonia(CFIP)においては、血液ガス、臨床的重症度、肺機能 (VC、DLCO)、画像所見 (線維化スコア Fibrosing score:FS) 既存のマーカー (KL-6、SPD) などとの相関について統計学的に検討を行った。

2) 肺組織における PGE2 代謝酵素、PGE2 受容体の発現の検討

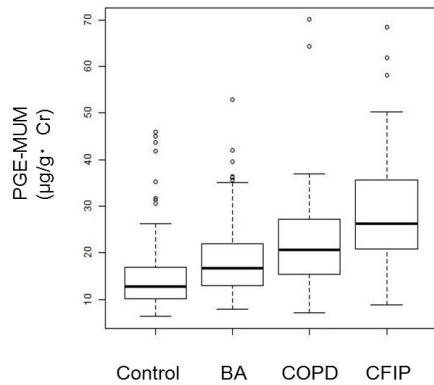
PGE2 は、COX、PGES により合成され、15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase(15-PGDH)により分解される。そこで、当院にて肺癌のため切除された肺組織の癌進展のない肺実質と気道の一部を、凍結もしくはホルマリンで固定し、肺実質、気道における COX-1、COX-2、15-PGDH の発現をそれぞれ、正常肺、IPF 肺を比較し、PGE-MUM との相関を検討した。また、IPF の線維芽細胞において PGE2 受容体の発現量も検討した。

4. 研究成果

(1) コントロール群と比べ、CFIP群ではPGE-MUMが有意に増加していた

健康コントロール124名と各種呼吸器疾患患者(気管支喘息:BA78名,慢性閉塞性肺疾患:COPD33名,CFIP44名)でPGE-MUMを測定した。コントロール群と比べ、CFIP群ではPGE-MUMが有意に増加していた。COPD群においてもPGE-MUMは増加していたが、CFIP群が最もPGE-MUM高値であった。

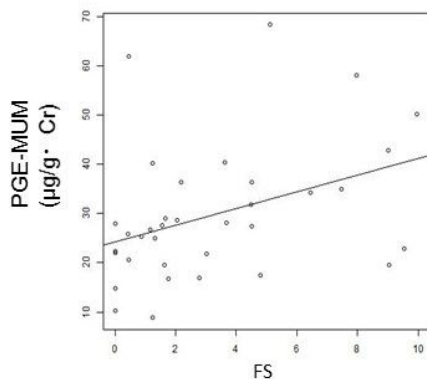
呼吸器疾患におけるPGE-MUM



(2) CFIP群では、高度進展例を除き、PGE-MUMと線維化の範囲(Fibrosing Score FS)が相関した

CFIP群を線維化の進展の程度を示すFSで4群に分類した。高度進展例であるFS4を除き、FS1-3群では、PGE-MUMの値とFSが正の相関を示した。

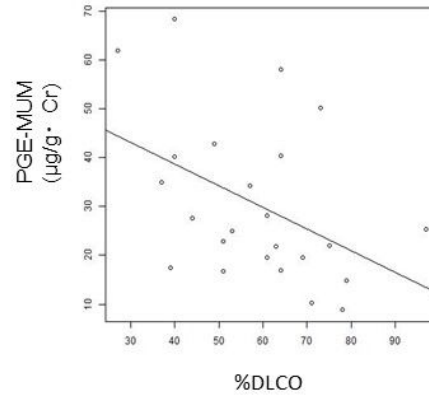
PGE-MUMとFSの相関 (CFIP群)



(3) PGE-MUMは%DLCOと逆相関した

CFIP群(FS1-3)では、PGE-MUMと%DLCOが逆相関した

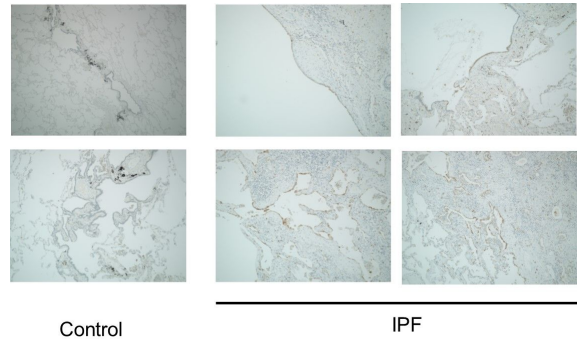
PGE-MUMと%DLCOの相関 (CFIP群)



(4) IPFの化生上皮細胞ではCOX-2発現が増加していた

IPF肺組織の免疫組織染色では、化生上皮細胞のCOX-2発現が増加していた。

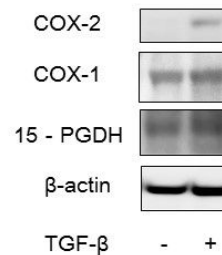
IPF化生上皮細胞のCOX-2発現



(5) TGFβは上皮細胞のCOX-2発現を増加させた

手術検体より分離したヒト気道上皮細胞にTGFβ刺激を行うとCOX-2発現が増加した

TGFβによるCOX-2発現増加

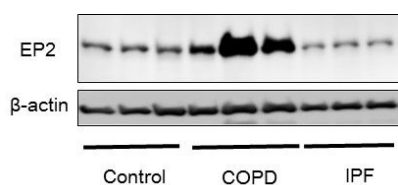


(6) IPFの線維芽細胞ではEP2発現が低下していた

コントロール、COPD、IPFから肺線維芽細胞を分離し、PGE2の受容体であるEP2発現を比較した。EP2発現はIPF由来の線維

芽細胞で低下していた。

線維芽細胞のEP2発現



(結論)

PGE-MUMはCFIPで増加し、線維化の範囲と相関、%DLCOと逆相関し、新たな線維化マーカーとなりうると考えられた。IPFの肺組織では化生上皮細胞のCOX-2発現が増加しており、IPFでの主要なPGE-MUMの産生源と考えられた。IPFの線維芽細胞ではEP2受容体発現が低下し、PGE2の線維化抑制作用を減弱し、病態と関連している可能性がある。

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1件)

Horikiri T, Hara H, Saito N, Araya J, Takasaka N, Utsumi H, Yanagisawa H, Hashimoto M, Yoshii Y, Wakui H, Minagawa S, Ishikawa T, Shimizu K, Numata T, Arihiro S, Kaneko Y, Nakayama K, Matsuura T, Matsuura M, Fujiwara M, Okayasu I, Ito S, Kuwano K
Increased levels of prostaglandin E-major urinary metabolite (PGE-MUM) in chronic fibrosing interstitial pneumonia. *Respir Med.* 2017 Jan;122:43-50. 査読あり

[学会発表](計2件)

原弘道, 堀切つぐみ, 荒屋潤, 齋藤那由多, 門田宰, 坪内和哉, 佐藤奈穂子, 吉田昌弘, 栗田裕輔, 小林賢司, 伊藤晶彦, 内海裕文, 和久井大, 皆川俊介, 小島淳, 沼田尊功, 河石真, 柳沢治彦, 橋本典生, 金子由美, 中山勝敏, 桑野和善 肺微小環境 PGE2 産生を反映する新規バイオマーカー尿中 PGE-MUM の IPF における役割とその分子生物学的背景の解明 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会 . 京都 . 2016 年 4 月

Hara H, Horikiri T, Araya J, Sato N, Yoshida M, Kurita Y, Kobayashi K, Ito S, Takasaka N, Kadota T, Yoshii Y, Wakui H, Minagawa S, Kojima J, Shimizu K, Numata T, Kawaishi M, Kaneko Y, Nakayama N, Kuwano K Clinical Importance Of Measuring Prostaglandin E- Major Urinary Metabolite (PGE-MUM)

In Fibrotic Lung Diseases (FLDs) ATS Conference. Denver 2015 5 月

[図書](計0件)

[産業財産権]

○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

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

原弘道 (HARA HIROMICHI)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号: 70398791

(2)研究分担者

荒屋潤 (ARAYA JUN)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 90468679

(3)連携研究者

桑野和善 (KUWANO KAZUYOSHI)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号: 40205266