

令和元年6月3日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09546

研究課題名(和文) 間質性肺炎急性増悪の発症と予後予測因子としての血中細胞外マトリックス蛋白の検討

研究課題名(英文) Serum extracellular matrix protein as a biomarker for acute exacerbation of interstitial pneumonia

研究代表者

谷野 功典 (Tanino, Yoshinori)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10443863

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：間質性肺炎は、肺間質における細胞外マトリックス蛋白の増加を特徴とし、急性増悪発症時にはその構造が破壊され、組織構造の改変が引き起こされる。そこで、本研究では間質性肺炎急性増悪において血中の細胞外マトリックス蛋白濃度が変化すると考え、バイオマーカーとしての役割を検討した。細胞外マトリックス蛋白である、decorin、syndecan-4、versicanは間質性肺炎において、安定期と急性増悪期において血中濃度が変化し、急性増悪発症後の予後と関連があり、臨床的に有用なバイオマーカーであることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質性肺炎は細胞外マトリックス(ECM)の改変を特徴としており、本研究ではその中でもプロテオグリカンに着目して解析を行った。今回の検討では、プロテオグリカンであるdecorin、syndecan-4とversicanの血中濃度が間質性肺炎急性増悪の予後に関するバイオマーカーであることが示された。間質性肺炎急性増悪は、予後不良の間質性肺炎の予後を左右する病態であることから、その予後を予測できるバイオマーカーを確立することは間質性肺炎急性増悪に対する治療法検討に非常に有用であると考えられ、今後の臨床応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Interstitial pneumonia is characterized by excessive accumulation of extracellular matrix (ECM) protein in interstitium, which is destructed in acute exacerbation (AE) leading to architectural distortion. In this study, we hypothesized that ECM protein levels in serum are changed in acute exacerbation of interstitial pneumonia (AE-IP), and examined the possibility that they are clinically helpful biomarkers in AE-IP. Decorin, syndecan-4 and versican levels in serum were changed in both stable and AE phases, and related with prognosis in AE-IP. These results suggest that ECM protein levels in serum are possible clinically useful biomarkers in AE-IP.

研究分野：呼吸器病学

キーワード：細胞外マトリックス 間質性肺炎急性増悪 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

間質性肺炎は、種々の原因から肺胞壁に炎症や損傷が起こり、線維化をきたすことによってガス交換障害を引き起こす難治性肺疾患である。特に、特発性肺線維症 (IPF) は平均生存期間が3-5年といわれ、肺癌と膵臓癌を除く種々の悪性腫瘍よりも予後が不良と報告されている。近年、pirfenidone (ピレスパ®) や nintedanib (OFEV®) が IPF に対する臨床試験で有効性が証明され、日常臨床で使用されているがその効果は十分とは言えない。IPF を中心とする間質性肺炎はその経過中に明らかな原因が特定できないにも関わらず、致死的な急性呼吸不全をきたすことが知られている。この間質性肺炎急性増悪は、間質性肺炎の臨床経過を左右する重要なイベントであり、ステロイドパルス療法などの治療が行われているが確立した治療法は存在せず、急性増悪発症後の予後規定因子も不明であり、臨床的に経過を予測できないことから臨床医はその取扱いに難渋している。また、間質性肺炎の臨床経過は一樣ではなく、慢性的に比較的安定している例、徐々に増悪する例、亜急性に悪化する例、急性増悪をきたす例など様々であることがわかってきたが、早期に予後不良例を予測することはできていない。以上のことから、急性増悪発症を早期に予測することにより pirfenidone や nintedanib などの治療薬の早期使用を行うこと、急性増悪発症後の予後を予測することにより、急性増悪に対する有効性が期待されているポリミキシンカラムの使用を行うことなどによって IPF などの間質性肺炎の予後を改善できる可能性があり、急性増悪に関するバイオマーカーの開発が急務と考えられる。

間質性肺炎の肺組織において過剰に蓄積している collagen、グリコサミノグリカン (GAG)、プロテオグリカン (PG) などの細胞外マトリックス (ECM) はこれまで肺の構造を維持する単なる "glue" として認識されていたが、近年、種々の生物学的活性を持ち様々な疾患の病態に関連することが明らかになってきている。我々はこれまでに GAG が炎症性サイトカインや growth factor などと結合することから、GAG への結合能が低い mutant CXCL8 のマウス投与によって CXCL8 と GAG の interaction の肺への好中球遊走に関する重要性を明らかにし (Tanino Y et al. *J Immunol*, 2010)、ヘパラン硫酸 PG である syndecan-4 の欠損マウスを使用して syndecan-4 が LPS による肺の炎症に対して抗炎症作用をもつこと (Tanino Y et al. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012) GAG であるヒアルロン酸 (HA) とコンドロイチン硫酸 PG である versican が肺のグラム陰性菌感染症における innate immunity に重要な役割を果たしていること (Chang MY, Tanino Y et al., *Matrix Biol*, 2014) を報告し、肺の炎症病態における ECM の重要性を明らかにしてきた。臨床検体の解析においても、IPF の気管支肺泡洗浄 (BAL) 液において HA 濃度は好中球数や CXCL8 濃度と正の相関関係があり、HA が間質性肺炎の病態に関与していること (Inokoshi Y, Tanino Y et al., *Respirology*, 2013) や急性肺炎において syndecan-4 が血中で増加しバイオマーカーとなること (Nikaido T, Tanino Y et al., *J Infect Dis*, 2015) を報告してきた。

2. 研究の目的

間質性肺炎急性増悪の発症や予後予測因子としての血中 ECM の臨床的有用性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 血中 ECM の検討: 当科に間質性肺炎急性増悪で入院した患者について、入院時に血中 ECM 濃度を ELISA 法で測定し、臨床的パラメーターや予後との関連を後方視的に解析した。また、安定期との比較ができた患者については安定期の血中 ECM 濃度についても解析を行った。

(2) 血中 ECM 分解産物の検討: 研究協力者の施設である Denmark の Nordic Bioscience において ECM 分解産物の血中濃度を測定し、(1) と同様に解析を行った。

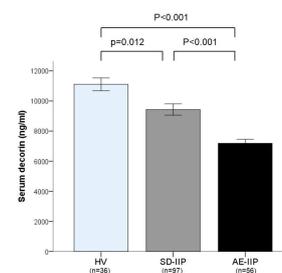


図1: 特発性間質性肺炎患者の血中Decorin濃度

4. 研究成果

(1) コンドロイチン硫酸プロテオグリカンである decorin の検討では、Syndecan-4 濃度の解析では、特発性間質性肺炎患者 (IIP) の血中 decorin 濃度は、健常者 (HV) と比較して、安定期は低値であり、急性増悪期には更に低値であった (図1)。また、同一患者においての解析では、IIP 全体では安定期と比較して急性増悪期に低下していたが、特発性肺線維症 (IPF) 患者では低下がみられたのにも関わらず、IPF ではない IIP 患者 (non IPF) では明らかな低下がみられなかった。予後の解析では、non IPF では血中 decorin 濃度との関連はみられなかったが、IPF 患者では血中 decorin 濃度高値群で急性増悪発症後の予後が不良であった (図2)。

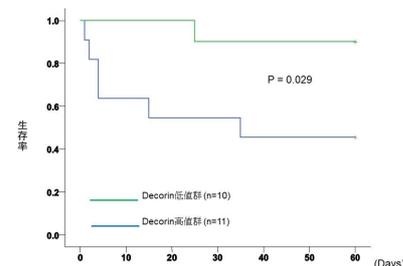


図2: 特発性肺線維症患者の血中Decorin濃度と予後との関連

ヘパラン硫酸プロテオグリカンである syndecan-4 の血中濃度の IIP 患者の検討では、健常者と比較して血中 syndecan-4 濃度は安定期に増加していたが、急性増悪期には健常者と差がみられなかった。同一 IIP 患者の検討では、急性増悪期には安定期より血中 syndecan-4 濃度は低下がみられ、急性増悪期には血中 syndecan-4 濃度は白血球数と正の相関関係、KL-6 と正の相関傾向がみられた。しかし、急性増悪期の血中 syndecan-4 濃度は急性増悪発症後の予後との関連はみられなかった。一方、安定期の syndecan-4 濃度は、急性増悪発症後の死亡との関連において多変量解析で唯一の関連因子であり、IIP 患者において安定期の血中 syndecan-4 濃度が高値であると予後であった (図 3)。

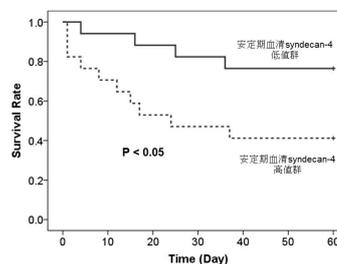


図3：安定期syndecan-4濃度と予後

(2) ECM の血中分解産物の検討では、MMP (matrix metalloproteinase) などにより分解された I 型、IV 型、VI 型コラーゲン、エラスチン、CRP、biglycan と versican 濃度を解析した。これらの ECM 分解産物は、IIP 患者において安定期と比較して IV 型、VI 型コラーゲンが急性期で増加し、エラスチンと versican が低下していた。予後との関連では、versican の血中分解産物濃度を 3 分割した一番高値の群で急性増悪発症後の予後が不良であった (図 4)。

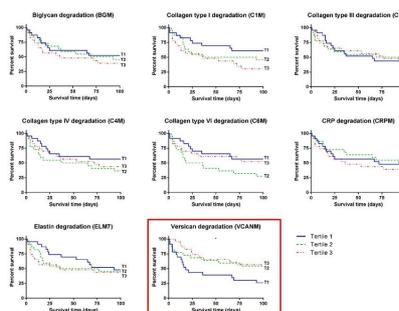


図4：特発性間質性肺炎患者の血中ECM分解産物と予後との関連

以上の結果から、decorin、syndecan-4、versican などの血中 ECM 濃度は間質性肺炎急性増悪の臨床的に有用なバイオマーカーである可能性が示され、今後更に検討が必要である。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

Sato Y, Tanino Y, Wang X, Nikaido T, Sato S, Misa K, Togawa R, Frevert CW, Munakata M. Baseline Serum Syndecan-4 Predicts Prognosis after the Onset of Acute Exacerbation of Idiopathic Interstitial Pneumonia. *PLoS One* 12(5):e0176789, 2017.

Nikaido T, Tanino Y, Wang X, Sato Y, Togawa R, Kikuchi M, Misa K, Saito K, Fukuhara N, Kawamata T, Rikimaru M, Umeda T, Morimoto J, Koizumi T, Suzuki Y, Hirai K, Uematsu M, Minemura H, Fukuhara A, Sato S, Saito J, Yokouchi H, Kanazawa K, Shibata Y. Serum decorin is a potent prognostic biomarker in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *J Thorac Dis* 10(9):5346-25, 2018.

Sand JMB, Tanino Y, Karsdal M, Nikaido T, Misa K, Sato Y, Togawa R, Wang X, Leeming D, Munakata M. A Serological Biomarker of Versican Degradation is Associated with Mortality Following Acute Exacerbations of Idiopathic Interstitial Pneumonia. *Respir Res* 19:82, 2018.

[学会発表] (計 11 件)

Nikaido T, Tanino Y, Fukuhara N, Misa K, Sato Y, Togawa R, Suzuki Y, Uematsu M, Fukuhara A, Sato S, Saito J, Wang X, Munakata M. Serum decorin as a possible prognostic biomarker in patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *ATS International Conference, 2016 (San Francisco)*

Togawa R, Tanino Y, Wang X, Nikaido T, Fukuhara N, Misa K, Sato Y, Suzuki Y, Uematsu M, Fukuhara A, Sato S, Saito J, Munakata M. Serum Syndecan-1 in Patients with Acute Exacerbation of Idiopathic Interstitial Pneumonia. *ATS International Conference, 2016 (San Francisco)*

Sand JMB, Tanino Y, Nikaido T, Misa K, Sato Y, Togawa R, Wang X, Leeming DJ, Munakata M. Biomarkers of Extracellular Matrix Remodeling are Associated with Acute Exacerbations

of Idiopathic Interstitial Pneumonia. ATS International Conference, 2017 (Washington, DC)

Sand JMB, Juhl P, Tanino Y, Nikaido T, Misa K, Sato Y, Togawa R, Wang X, Karsdal M, Bay-Jensen AC, Leeming D, Siebuhr AS, Munakata M. Biomarkers of Extracellular Matrix Remodeling are Associated with Acute Exacerbations of Idiopathic Interstitial Pneumonia. EULAR Madrid 2017 Annual European Congress of Rheumatology, 2017 (Madrid)

Nikaido T, Tanino Y, Wang X, Sato Y, Togawa R, Munakata M. Serum Hyaluronan in Patients with Acute Exacerbation of Idiopathic Interstitial Pneumonia. 22nd Congress of the APSR, 2017 (Sydney)

Sato Y, Tanino Y, Nikaido T, Sato Y, Togawa R, Wang X, Munakata M. Serum Laminin 3 in Patients with Acute Exacerbation of Idiopathic Interstitial Pneumonia. 22nd Congress of the APSR, 2017 (Sydney)

Togawa R, Tanino Y, Nikaido T, Sato Y, Togawa R, Suzuki Y, Uematsu M, Fukuhara A, Sato S, Saito J, Shibata Y. Hyaluronan in Bronchoalveolar Lavage Fluid from Patients with Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis. 23rd Congress of the APSR, 2018 (Taipei)

佐藤佑樹、谷野功典、佐藤俊、二階堂雄文、美佐健一、東川隆一、齋藤香恵、福原奈緒子、齋藤純平、福原敦、植松学、鈴木康仁、王新涛、棟方充．特発性間質性肺炎急性増悪における血清プロテオグリカン syndecan-4 の予後予測因子としての可能性．第 48 回日本結合組織学会学術大会，2016（長崎）

二階堂雄文、谷野功典、王新涛、美佐健一、佐藤佑樹、東川隆一、鈴木康仁、植松学、齋藤香恵、福原奈緒子、福原敦朗、佐藤俊、齋藤純平、棟方充．特発性間質性肺炎急性増悪における血清ヒアルロン酸の検討．第 57 回日本呼吸器学会，2017（東京）

東川 隆一、谷野功典、二階堂雄文、美佐健一、福原奈緒子、齋藤香恵、佐藤佑樹、鈴木康仁、植松学、福原敦朗、佐藤俊、齋藤純平、王新涛、棟方充．IPF の急性増悪における血清ラミニン 3 の役割の検討．第 57 回日本呼吸器学会，2017（東京）

東川隆一、二階堂雄文、佐藤佑樹、齋藤香恵、福原奈緒子、王新涛、福原敦朗、佐藤俊、金沢賢也、谷野功典．肺胞蛋白症における BAL 液中ヒアルロン酸の臨床的意義の検討．第 58 回日本呼吸器学会，2018（大阪）

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：王新涛

ローマ字氏名：Xintao Wang

所属研究機関名：福島県立医科大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：00448630

研究分担者氏名：海老名雅仁

ローマ字氏名：Masahito Ebina

所属研究機関名：東北医科薬科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：10280885

研究分担者氏名：棟方充

ローマ字氏名：Mitsuru Munakata

所属研究機関名：福島県立医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：00209991

(2)研究協力者

研究協力者氏名：Diana Julie Leeming

ローマ字氏名：Diana Julie Leeming

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。