

令和元年6月12日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09576

研究課題名(和文) 過敏性肺炎におけるケモカイン・プロスタノイドを介した線維化機序の解明

研究課題名(英文) Role of chemokines and prostanoids in fibrogenesis of hypersensitivity pneumonitis

研究代表者

宮崎 泰成 (Yasunari, Miyazaki)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：30396999

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：慢性過敏性肺炎の線維化機序を解明するために臨床検体を用いて、ケモカイン・サイトカインなどのメディエーターの検討を行った。過敏性肺炎の慢性期(線維化期)においても抗原吸入により急性期に見られる好中球反応/Th1反応が起こることを明らかにするとともに、Th2サイトカインに関連した細胞外器質タンパクであるペリオスチンが慢性過敏性肺炎患者における線維化及び予後マーカーになることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これらの研究成果は慢性過敏性肺炎の線維化機序を明らかにする初めての知見であり、平均生存期間が4～9年と短く、既存のステロイド治療の効果が少ない慢性線維化性過敏性肺炎において新しい治療を開発する一助になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated mediators such as chemokines and cytokines using clinical samples to elucidate the fibrotic mechanism of chronic hypersensitivity pneumonia. It has been clarified that the neutrophil response / Th1 response seen in the acute phase of hypersensitivity pneumonitis during antigen inhalation even in the chronic phase (fibrosis phase) of hypersensitivity pneumonitis, and the extracellular organ protein related to Th2 cytokine, periostin, was found to be a marker of fibrosis and prognosis in patients with chronic hypersensitivity pneumonitis.

研究分野：呼吸器病学

キーワード：肺線維化 過敏性肺炎 ケモカイン プロスタノイド

1. 研究開始当初の背景

(1) 肺の線維化は間質性肺炎において予後不良因子である。最も線維化が進行した病態である特発性肺線維症の平均生存期間は4～6年と致死的疾患である。従って、間質性肺炎患者の予後改善のために肺線維化機序の解明が必要である¹。

(2) 過敏性肺炎はそのような間質性肺炎の一つである。慢性（線維化性）過敏性肺炎の平均生存期間は4～9年間とやはり予後不良である。急性過敏性肺炎では、Th1ケモカインによりマクロファージが類上皮細胞と多核巨細胞に分化し、Th1細胞が肺局所に浸潤し肉芽腫と胞隔炎を形成する。一方、我々の検討では血清および気管支肺胞洗浄液のTh1ケモカインCXCL10は急性で増加し、慢性の再燃症状軽減型、潜在性発症型の順に有意に減少、逆にTh2ケモカインCCL17は急性で減少、再燃症状軽減型、潜在性発症型の順に有意に増加していた。外科的肺生検におけるそれらの受容体の免疫染色の検討でも同様の結果であった。従って、慢性化・線維化する過程で急性ではTh1が優位であったTh1/Th2免疫バランスが慢性過敏性肺炎ではTh2へシフトしていた²。さらに我々の作製した慢性過敏性肺炎マウスモデルでも、同様にTh2への免疫バランスのシフトは肺線維化を促進し³、この肺線維化過程で上皮間葉転換が重要であることを明らかにした⁴。

2. 研究の目的

過敏性肺炎において、急性期から慢性・線維化する過程で、Th1/Th2免疫バランスがTh1からTh2にシフトする可能性が示された。しかし、慢性過敏性肺炎患者において、特異抗原を吸入した際（吸入誘発試験）に、実際に免疫反応がTh2へシフトしているかについては明らかではなく、また、ケモカインなどのメディエーターとその受容体を介して線維化するメカニズムは解明されていない。そこで、我々は、Th2免疫反応関連のケモカイン・プロスタノイドあるいはその受容体が肺線維化に重要であると考え、その役割を明らかにすることを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 鳥関連過敏性肺炎における抗原吸入前後のサイトカイン・ケモカインの検討(発表論文②)：当院において2001年から2008年にPDEによる吸入誘発試験（Inhalation provocation test；IPT）を施行し、IPT前後（安定期および吸入24時間後）にBALを施行した計39例（誘発試験陽性例19例、陰性例20例）を後ろ向きに検討した。さらに、平成26年以降にIPTを施行した連続前向き計25例において、①吸入前 ②6時間後 ③24時間後に血清を採取し、マルチプレックスアッセイ(Bio-Rad®)を用いて各種ケモカイン・サイトカイン(G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, CCL2, CCL4, TNF- α , IP-10, TARC(CCL17), CXCL1, CXCL2, CXCL5)を測定した。なお、IPTの陽性基準は石塚らのスコアを用いた⁵。

(2) 慢性過敏性肺炎におけるバイオマーカーとしてのペリオスチンの検討（発表論文①）

当院において2004年から2013年に吸入誘発試験によって診断された慢性鳥関連過敏性肺炎(CBRHP)63例と対象として対象群としてIPF(13例)、健常コントロール(113例)においてTh2サイトカインに関連した細胞外器質タンパクであるペリオスチンも検討した。外科的肺生検施行された(CBRHP21例)症例においては、組織病理パターン別の免疫染色を行い染色性も検討した。

4. 研究成果

(1) 鳥関連過敏性肺炎における抗原吸入前後のサイトカイン・ケモカインの検討(発表論文②)：慢性過敏性肺炎における抗原吸入後の急性期には好中球性炎症が関与し、G-CSF, IL-6, CCL2, CXCL1, CXCL2, TNF- α などのサイトカイン・ケモカインが病態に関与していることが示唆され

た。吸入誘発陽性例では血清およびBALFにおいてIL-8の上昇を認め、抗原吸入時における好中球性炎症に関与している可能性が考えられた。血清ではIFN γ およびCXCL10 (IP-10)、またBALFでもCXCL10の上昇を認め、Th1リンパ球の活性化も起きていることが示唆された。以上より慢性過敏性肺炎においても抗原吸入により急性期に見られる好中球反応/Th1反応が起こることがわかった。

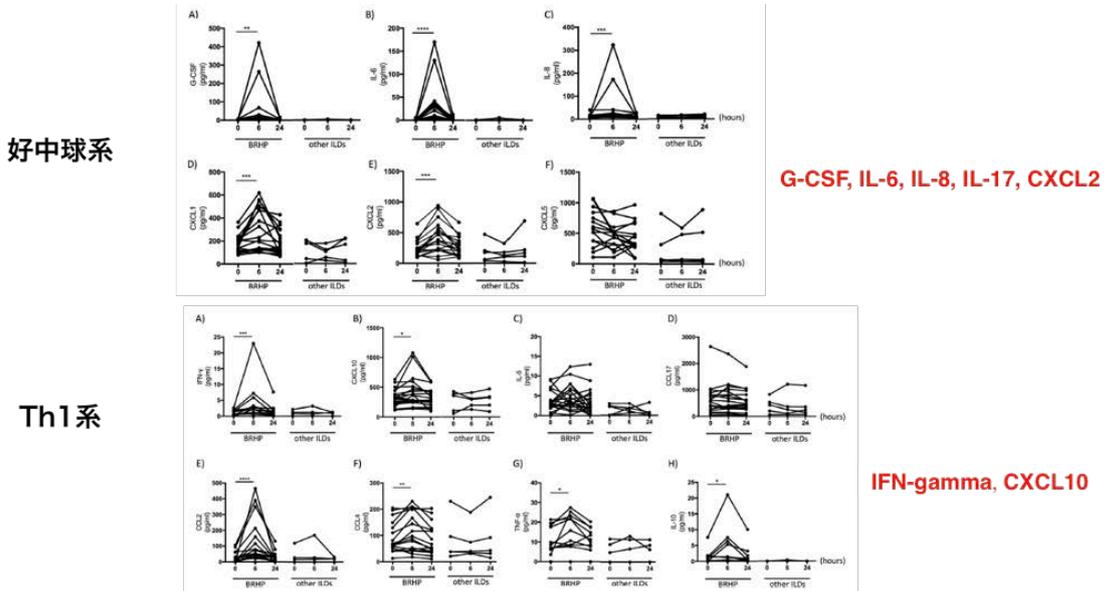


図1 慢性過敏性肺炎において抗原吸入により急性期と同様の好中球反応/Th1反応が起こる
 (2) 慢性過敏性肺炎におけるバイオマーカーとしてのペリオスチンの検討 (発表論文①) :
 診断時の血清ペリオスチン値と胸部CTにおける線維化スコアは有意に正の相関を認めた。また血清ペリオスチン高値群と低値群にわけて比較したところ、高値群が有意に生存期間、急性増悪発症までの期間が短かった (図2)。以上より血清ペリオスチン値は慢性過敏性肺炎において予後予測マーカーとなりえる可能性が示唆される。

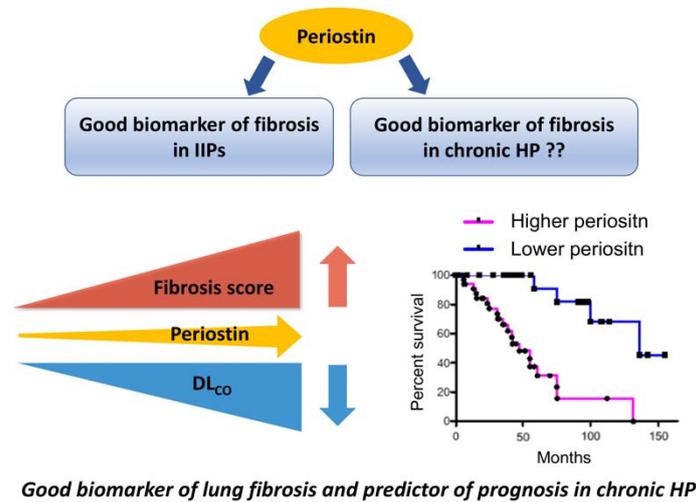


図2 慢性過敏性肺炎における線維化マーカー及び予後マーカーとしての血清ペリオスチン値
 現在、この臨床検体を用いた検討の結果を、マウスモデルにおいても検証しており、特に超急性期に起きる好中球の反応からTh1反応に橋渡しをするサイトカインとしてのIL-17及びその産生細胞である可能性の高い $\gamma\delta$ T細胞が関与しているかを検討している。
 これらの知見は、平均生存期間が4~9年と短く、既存のステロイド治療の効果が少ない慢性線維化性過敏性肺炎において線維化メカニズムを解明することにより新しい治療を開発する一助になると考えられる。

<引用文献>

- ① Wynn TA. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis. *J Exp Med* 2011;208:1339-50.
- ② Kishi M, Miyazaki Y, et al. Pathogenesis of cBFL in common with IPF? Correlation of IP-10/TARC ratio with histological patterns. *Thorax* 2008;63:810-6.
- ③ Mitaka K, Miyazaki Y, et al. Th2-biased immune responses are important in a murine model of chronic hypersensitivity pneumonitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154:264-74.
- ④ Yasui M, Miyazaki Y, Mitaka K, Ishizuka M, et al. Epithelial-Mesenchymal Transition in Chronic Hypersensitivity Pneumonitis. *J Med Dent Sci* 2012;59:29-41.
- ⑤ Ishizuka M, Miyazaki Y, Tateishi T, Tsutsui T, Tsuchiya K, Inase N. Validation of inhalation provocation test in chronic hypersensitivity pneumonitis and new prediction score. *Ann Am Thorac Soc* 2015;12:167-73.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計8件)

- ① Nukui Yoshihisa, Miyazaki Yasunari, Masuo Masahiro, Okamoto Tsukasa, Furusawa Haruhiko, Tateishi Tomoya, Kishino Mitsuhiro, Tateishi Ukihide, Ono Junya, Ohta Shoichiro, Izuhara Kenji, Inase Naohiko, Periostin as a predictor of prognosis in chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis, *Allergology International*, 査読有、印刷中、2019
DOI: 10.1016/j.alit.2019.02.007
- ② Inoue Yukihiisa, Ishizuka Masahiro, Furusawa Haruhiko, Honda Takayuki, Kawahara Tatsuo, Tateishi Tomoya, Miyazaki Yasunari, Acute inflammatory and immunologic responses against antigen in chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis, *Allergology International*, 査読有、印刷中、2019
DOI: 10.1016/j.alit.2018.12.010
- ③ Hanzawa Satoshi, Tateishi Tomoya, Takemura Tamiko, Okada Yoshinori, Yamada Yoshihito, Noda Masafumi, Miyazaki Yasunari, Inase Naohiko, The Analysis of Surgical Lung Biopsy and Explanted Lung Specimens Sheds Light on the Pathological Progression of Chronic Bird-related Hypersensitivity Pneumonitis, *Internal Medicine*, 査読有、58巻、2019、1145~1150
DOI: 10.2169/internalmedicine.1142-18
- ④ Kolb Martin, Bondue Benjamin, Pesci Alberto, Miyazaki Yasunari, Song Jin Woo, Bhatt Nitin Y, Huggins John T., Oldham Justin M., Padilla Maria L., Roman Jesse, Shapera Shane, Acute exacerbations of progressive-fibrosing interstitial lung diseases, *European Respiratory Review*, 査読有、27巻、2018、180071
DOI: 10.1183/16000617.0071-2018
- ⑤ Sema M, Miyazaki Y, Tsutsui T, Tomita M, Eishi Y, Inase N, Environmental levels of avian antigen are relevant to progression of chronic hypersensitivity pneumonitis during antigen avoidance, *Immun Inflamm Dis*, 査読有、6巻、2018、154~162
DOI: 10.1002/iid3.202.
- ⑥ Ohno T, Zhang C, Kondo Y, Kang S, Furusawa E, Tsuchiya K, Miyazaki Y, Azuma M, The immune checkpoint molecule VISTA regulates allergen-specific Th2-mediated immune

responses、Int Immunol.、査読有、30巻、2018、3～11

DOI: 10.1093/intimm/dxx070.

- ⑦ Ochi J, Ohtani Y, Takemura T, Akashi T, Tateishi T, Miyazaki Y, Inase N, Yoshizawa Y.、Histological variability and consequences in chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis、Respirology、査読有、22巻、2017、1350～1356
DOI: 10.1111/resp.13070.

- ⑧ Shirai T, Furusawa H, Furukawa A, Ishige Y, Uchida K, Miyazaki Y, Eishi Y, Inase N.、Protein antigen of bird-related hypersensitivity pneumonitis in pigeon serum and dropping、Respiratory Research、査読有、18巻、2017、65～
DOI: 10.1186/s12931-017-0555-4.

[学会発表] (計4件)

- ① Inoue Y., Miyazaki Y., Nukui Y., Inase N.、Role of Lung Apolipoprotein A-I in Hypersensitivity Pneumonitis、American Thoracic Society (国際学会) 2018年
- ② Tateishi T., Fujie T., Saito H., Miyazaki Y., Inase N.、Serum Angiopoietin-2 Can Be A Biomarker In Acute Exacerbation Of Interstitial Pneumonia、American Thoracic Society (国際学会) 2017年
- ③ 井上幸久, 石塚聖洋, 古澤春彦, 白井剛, 増尾昌宏, 立石知也, 藤江俊秀, 玉岡明洋, 坂下博之, 稲瀬直彦, 宮崎泰成、鳥関連過敏性肺炎における抗原吸入前後のサイトカイン・ケモカインの検討、日本呼吸器学会学術集会、2018年
- ④ Ishizuka M., Miyazaki Y., Inase N.、Validation Of New Prediction Score In Inhalation Provocation Test For Chronic Hypersensitivity Pneumonitis、American Thoracic Society (国際学会) 2017年

[図書] (計13件)

- ① 惠島将 宮崎泰成 特集 肉芽腫形成と呼吸器疾患：診断と治療の最前線 原因不明の肉芽腫症 2) 過敏性肺炎 (夏型過敏性肺炎を中心に) 呼吸器内科 2019:114-123.
- ② 宮崎泰成 「大気環境関連疾患の予防と対策の手引き」(日本呼吸器学会大気環境関連疾患の予防と対策の手引き作成委員会 編集) メディカルレビュー社 2019:120-123.
- ③ 宮崎泰成 日本呼吸器内視鏡学会編 過敏性肺炎 サルコイドーシス Langerhans細胞組織球症 リンパ脈管筋腫症 気管支鏡テキスト第3版 2019
- ④ 井上幸久 宮崎泰成 稲瀬直彦 【薬物アレルギーをめぐる】薬物・化学物質による過敏性肺炎 アレルギー・免疫 2018:25;676-683.
- ⑤ 増尾昌宏 宮崎泰成 稲瀬直彦 【症例から考える難治性びまん性肺疾患-病態と最新治療戦略】特発性間質性肺炎 特発性肺線維症 慢性安定期 特発性肺線維症をどう考えるか 呼吸器ジャーナル 2018:66;214-223.
- ⑥ 惠島将 増尾昌宏 宮崎泰成 特集 リウマチ性の肺病変 関節リウマチの間質性肺炎 リウマチ科 2018:60;10-19.
- ⑦ 宮崎泰成 気管支鏡セミナーより 検体採取の基礎 (TBB/TBLB BAL) : 末梢病変検体採取法 気管支学 2018:40;386-389
- ⑧ 白井剛 宮崎泰成 【日本人が見つけた自己抗原・抗原】過敏性肺炎の原因抗原 夏型過敏性肺炎の原因抗原特定に至るまでの経緯と鳥関連過敏性肺炎の抗原同定の試み 呼吸臨床 2018:2;1-12.
- ⑨ 宮崎泰成 呼吸器疾患 診断治療アプローチ 間質性肺炎・肺線維症と類縁疾患 慢性過敏性肺炎 中山書店 2018:240-248.

- ⑩ 宮崎泰成 古澤春彦 間質性肺炎・肺線維症-難解な疾患が見えてくる- 治療/実地医家が知っておくべき治療のポイント ステロイド、免疫抑制薬の取り扱い Medical Practice 2017;34:633-637.
- ⑪ 宮崎泰成 稲瀬直彦 医学と医療の最前線 過敏性肺炎の病態と治療の最前線. 日本内科学会雑誌 2017; 106: 1212-1220.
- ⑫ 宮崎泰成 稲瀬直彦 特集 呼吸器系指定難病 特発性間質性肺炎 (指定難病 85) 呼吸器内科 科学評論社 2017;32:430-436.
- ⑬ 宮崎泰成 特集「免疫学の新展開と呼吸器疾患」 過敏性肺炎とマクロファージ THE LUNG perspectives 2017;4:391-395.

[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: 東京医科歯科大学呼吸器内科ホームページ

<http://www.tmd.ac.jp/med/pulm/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号 (8桁):

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 井上幸久

ローマ字氏名: (INOUE, Yukihiisa)

研究協力者氏名: 貫井義久

ローマ字氏名: (NUKUI, Yoshihiisa)

※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。