

令和 6 年 5 月 19 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K20864

研究課題名（和文）不完全な膠原病所見を有する間質性肺炎の肺組織遺伝子発現解析と診断マーカーの開発

研究課題名（英文）Development of diagnostic markers and analysis of gene profiles in interstitial pneumonia with autoimmune features

研究代表者

表 紀仁 (Omote, Norihito)

名古屋大学・医学系研究科・客員研究者

研究者番号：60901048

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：これまでに当院における間質性肺炎症例のデータベースを整理・作成した。外科的肺生検を実施しており、肺組織の凍結切片が保存されている特発性肺線維症症例と膠原病の間質性肺炎症例、Interstitial pneumonia with autoimmune features (IPAF) 症例を抽出し、またこれらとは別のコホートで肺癌症例の摘出肺において、正常部位から得られた肺組織の凍結切片も準備した。これら症例のうち特発性肺線維症症例の肺検体と正常肺検体からRNAを抽出した。肺検体より抽出したRNAをバイオアナライザーによりクオリティチェックを行った後に、RNA sequencingを行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

患者より同意を得て、特発性肺線維症症例と膠原病の間質性肺炎症例、Interstitial pneumonia with autoimmune features (IPAF) 症例、正常症例の肺組織のバイオバンクを作成することができた。一部はRNAを抽出し保存している。残念ながら遺伝子発現解析まで行うことができなかったが、今後RNA sequencingなどの網羅的遺伝子解析手法やqRT-PCRなどの遺伝子解析手法による非特定・特定の遺伝子発現の比較を行うことが可能となった。

研究成果の概要（英文）：We have developed a database of interstitial pneumonia cases at our hospital. We extracted cases of idiopathic pulmonary fibrosis, cases of interstitial pneumonia with connective tissue disease, and cases of interstitial pneumonia with autoimmune features (IPAF) in which surgical lung biopsies were performed and frozen sections of lung tissue were stored. We also prepared frozen sections of lung tissue obtained from normal sites in resected lungs of lung cancer cases in a separate cohort. Among these cases, RNA was extracted from lung specimens of idiopathic pulmonary fibrosis cases and normal lung specimens. After quality check of the RNA extracted from the lung specimens using a bioanalyzer, we plan to perform RNA sequencing.

研究分野：間質性肺炎

キーワード：間質性肺炎 膠原病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

間質性肺炎には様々な種類が存在するが、その中でも IPF は進行性に肺機能低下を来す予後不良の疾患である。一方で CTD-IP は、IPF と比較して予後良好の経過をたどり、ステロイドを含めた免疫抑制剤により肺機能や予後の改善が期待できる。しかしながら両疾患の鑑別は困難なことがあり、特に特異的自己抗体のみが陽性など不完全な臨床所見により、膠原病の確定診断が得られず暫定的に IPF や分類不能型と診断される症例が存在する。このような症例をどのように治療するかは臨床上の重要な問題であり、特に CTD-IP を正確に診断することでステロイド治療の恩恵を受け患者の予後を向上させることにつながる。また IPF ではステロイド治療が逆に予後を悪化させるため、鑑別マーカーの開発によりステロイド治療を避け、抗線維化薬など別の治療へのシフトが可能となる。このような臨床上の課題から国際学会による共同ステートメントが発表され、不完全な膠原病の臨床所見を有する間質性肺炎症例を、膠原病肺病変先行型の間質性肺炎と捉える疾患概念 IPAF が提唱された。これまでの申請者の研究では、この疾患概念の中には後に膠原病を発症する間質性肺炎症例を 13%に認め、IPF と同様の経過をたどる症例が 24%程度含まれていることを明らかにした。このデータからも IPAF はヘテロな症例の一群を見ている可能性が高いと考えられる。

本研究では今までの研究と異なり、患者の肺組織は予後やステロイドへの治療反応性などの臨床データと紐づけされている。これまでの研究では臨床情報での IPAF を分類・予後予測を行うことは困難であったが、今回の研究で肺組織の遺伝子発現プロファイルと併せて解析することで予後予測や診断の正確性向上が可能となると考えている。さらに膠原病の自己抗体スクリーニングや身体所見により診断された IPAF 症例を多数含む肺組織バンクはこれまでになく、その遺伝子発現プロファイルは全く分かっていない。そして網羅的遺伝子解析の結果から特定の遺伝子に注目し、PCR によりさらに多数の肺組織検体で validation を行うことで、このヘテロな疾患群の分類・予後予測に有用な新規マーカーの開発に発展すると考えている。

2. 研究の目的

本研究の目標は IPAF 患者の肺組織遺伝子発現プロファイルを明らかにし、その中に含まれる CTD-IP 症例や IPF 症例の診断に有用なマーカーや予後予測因子を見つけ出すことである。

3. 研究の方法

本研究では、a) RNA sequencing による IPAF 症例の肺組織の網羅的遺伝子解析、b) IPAF 症例に含まれる CTD-IP 症例や IPF 症例の診断・鑑別に有用なマーカーの探索、を行う。

a) RNA sequencing による IPAF 症例の肺組織の網羅的遺伝子解析

まず外科的肺生検により得られた患者の肺組織検体より RNA を抽出し、RNA-sequencing により遺伝子発現量を網羅的に調べる。具体的な研究の進め方は、

外科的肺生検より得られた凍結肺切片より RNA を抽出する。症例は IPAF:60 例、IPF:80 例、CTD-IP:40 例は準備可能である。

次世代シーケンサーを用いて、RNA 発現量を網羅的に解析する。

Heatmap や cluster 解析を用いて、IPAF 症例、

IPF 症例、CTD-IP 症例の遺伝子発現を比較する。予後やステロイドへの治療反応性などの臨床情報と遺伝子発現量の関連を調査する。

b) IPAF 症例に含まれる CTD-IP 症例や IPF 症例の診断・鑑別に有用なマーカーの探索

IPAF 遺伝子発現プロファイルの中で、IPF や CTD-IP と発現量の最も異なる特定の遺伝子を抽出し、臨床情報に紐づけされたより多数例での validation とその鑑別における有用性を検討する。これにはパラフィン包埋された肺組織検体を用いる。外科的肺生検により得られた肺組織は日常臨床ではパラフィン包埋され保存されており、これらの検体からも解析に耐えうるクオリティの RNA の抽出が可能である。これらの検体において定量 PCR を行うことで、先に得られた特定の遺伝子が日常臨床レベルで鑑別に有用となる可能性がある。

4. 研究成果

これまでに当院における間質性肺炎症例のデータベースを整理・作成した。外科的肺生検を実施しており、肺組織の凍結切片が保存されている特発性肺線維症症例と膠原病の間質性肺炎症例、

Interstitial pneumonia with autoimmune features (IPAF) 症例を抽出し、またこれらとは別のコホートで肺癌症例の摘出肺において、正常部位から得られた肺組織の凍結切片も準備した。これら症例のうち特発性肺線維症症例の肺検体と正常肺検体から RNA を抽出した。肺検体より抽出した RNA をバイオアナライザーによりクオリティーチェックを行った後に、RNA sequence を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------