

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860642

研究課題名(和文)特発性肺線維症急性増悪におけるマイクロRNA

研究課題名(英文)Micro-RNA in acute exacerbations of idiopathic pulmonary fibrosis

研究代表者

谷澤 公伸(Tanizawa, Kiminobu)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20639140

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：(1)抗アミノアシルtRNA合成酵素(ARS)抗体陽性間質性肺炎(ARS-ILD)の長期予後は、筋炎の有無によらず、抗ARS抗体陰性の特発性肺線維症(IPF)に比べて、有意に良好であった。
(2)IPF、ARS-ILDの肺組織、気管支肺胞洗浄液における遺伝子発現の網羅的解析を行った。気管支肺胞洗浄液において、IPFでは細胞増殖に関連した遺伝子群、ARS-ILDではTリンパ球に関連した遺伝子群の発現が亢進していた。
(3)IPFを含む特発性間質性肺炎の急性増悪における予後因子を検討したところ、診断時のすりガラス影およびコンソリデーションの広がりによって左右で非対称性が見られた場合、有意に予後良好であった。

研究成果の概要(英文)：(1)The long-term prognosis of interstitial lung disease with anti-aminoacyl tRNA synthetase (ARS) antibodies (ARS-ILD), whether having myositis or not, was significantly better than that of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) without anti-ARS antibodies.
(2)Comprehensive microarray analyses of gene expressions in lung tissues and bronchoalveolar lavage fluids (BALFs) from patients with IPF and ARS-ILD revealed that the genes associated with cellular proliferation and those with T-lymphocytes were up-regulated in BALFs from IPF and ARS-ILD patients, respectively.
(3)In acute exacerbations of idiopathic interstitial pneumonia including IPF, the asymmetrical distribution of ground-glass attenuation and/or consolidation was a significant predictor of better outcome.

研究分野：臨床呼吸器学

キーワード：臨床呼吸器学 特発性肺線維症 マイクロRNA 急性増悪

1. 研究開始当初の背景

(1) 特発性肺線維症 idiopathic pulmonary fibrosis (IPF)は、正常な肺胞構造の不可逆的な改変を伴う、進行性の線維化を特徴とする原因不明の慢性呼吸器疾患である。診断後の平均余命が2.5~3.5年であり、5年生存率が40%と予後不良である。IPFの進行抑制または生命予後の改善に関して、有効な薬物治療は確立されていない。

(2) IPFの経過は、線維化による呼吸機能障害の慢性進行とともに、「急性増悪」と呼ばれる急激な悪化によって特徴付けられる。IPFの急性増悪は、5-15%/年と高頻度で発症し、その致死率は40-90%と高く、IPF患者の主たる死因のひとつである。急性増悪の発症を有意に抑制する、もしくは発症後の生命予後を改善する治療は確立されていない。

(3) IPFの急性増悪は病理学的には急性呼吸促迫症候群 acute respiratory distress syndrome (ARDS)に類似したびまん性肺胞障害 diffuse alveolar damage (DAD)を呈するが、その病態は十分には解明されていない。生検肺標本のマイクロアレイ解析は、急性増悪が慢性期の線維化と連続した病態であることを示唆しているが、急性増悪と慢性期の臨床像には著しい乖離があり、急性増悪に特異的な病態の解明には至っていない。例えば、慢性期の線維化においては慢性炎症とは異なる線維化経路の重要性が強調されているが、急性増悪期にはしばしば好中球を主体とする炎症反応の著しい亢進が認められ、ARDS同様に炎症反応の果たす役割は大きいものと考えられる。

(4) マイクロRNAは遺伝子発現を翻訳レベルで調節する non-coding RNA であり、全ゲノムの約1/3はマイクロRNAによって発現を調節されている。近年、IPFにおいて miR-let7d、miR-155、miR-21といったマイクロRNAが HMGA2、KGF、SMAD7などの遺伝子発現を介して、上皮間葉転移・相互作用や TGF- β 1による線維化といった病態に関与することが示唆されている。また急性肺障害においても mi-126Rを介した VEGF発現調節といった細胞増殖に関わる病態のほか、免疫機構にもマイクロRNAが関与しているものと考えられている。これらの既報からは、IPF急性増悪においてもマイクロRNAが種々の遺伝子発現に関与し、難治性の病態形成と深く関わっているものと推測された。

2. 研究の目的

(1) 既存の肺組織および気管支肺胞洗浄液 (BALF)を用いて網羅的なマイクロRNA解析を行い、IPFに疾患特異的なマイクロRNA

を同定する。

(2) 急性増悪患者の血液検体、BALF検体を前向きに集積し、急性増悪に特異的なマイクロRNAを同定する。

3. 研究の方法

(1) IPFに疾患特異的なマイクロRNAを同定するに先立ち、IPFと異なる治療反応性および予後を示す間質性肺疾患として、抗ARS抗体症候群に着目した。所属施設および関連施設で診断された抗ARS抗体陰性のIPF、および抗ARS抗体症候群に関連した間質性肺疾患(ARS-ILD、筋炎の有無を問わない)の連続患者を対象に後向き研究を行い、その長期予後を比較検討した。

(2) (1)の結果に基づき、既存の慢性間質性肺炎の肺組織、BALF検体のうち、IPFとARS-ILDを対象にメッセンジャーRNAレベルでの遺伝子発現の網羅的な解析を行った。

(3) IPFを含む特発性間質性肺炎の急性増悪に関して、所属施設の連続患者を対象に後向き研究を行い、予後因子を検討した。

4. 研究成果

(1) 新規に診断された特発性間質性肺炎の連続患者237例および筋炎関連間質性肺疾患の連続患者51例から、抗ARS抗体陰性のIPF患者102例、筋炎発症のないARS-ILD16例、筋炎を伴うARS-ILD20例を抽出した。IPF(抗ARS抗体陰性)102例とARS-ILD(筋炎の有無を問わない)36例を比較したが、診断時の呼吸機能に有意差はなかった。ARS-ILDのうち、筋炎合併例と非合併例でも呼吸機能に有意差はなかった。生命予後を比較すると、ARS-ILDはIPFに比べて有意に予後が良好であった(図1)。ARS-ILDのうち、筋炎の有無で生命予後を比較したが有意差はなかった(図2)。

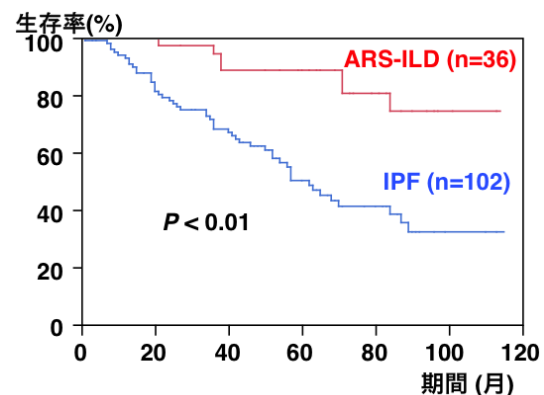


図1. IPFとARS-ILDの長期予後の比較

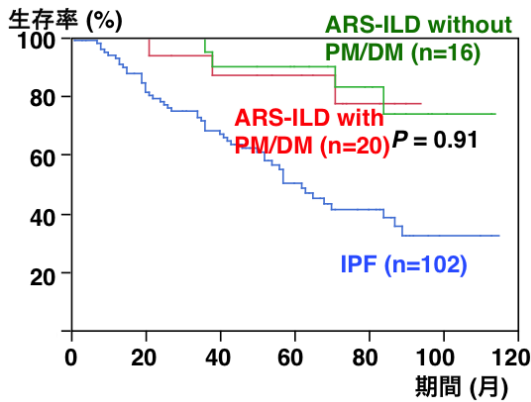


図 2. IPF と筋炎のある ARS-ILD および筋炎のない ARS-ILD の長期予後の比較

(2) IPF と筋炎のない ARS-ILD の肺組織、BALF 検体を用いて、メッセンジャーRNA レベルでの遺伝子発現の網羅的解析を行った。肺組織検体を用いた検討では、2 群間で発現に有意な差を認める遺伝子を同定できなかった。BALF 検体を用いた検討では、IPF では細胞増殖に関連した遺伝子群、ARS-ILD では T リンパ球に関連した遺伝子群の発現が亢進しており、これらの結果はクラスター解析、GO 解析など複数の解析法を用いても同様であった(図 3)。

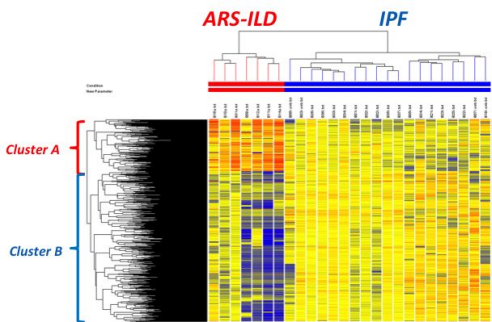


図 3. IPF と ARS-ILD の BALF 検体によるクラスター解析

ARS-ILD において発現が亢進していた遺伝子として LRRN3、CXCL13、TNFSF4(OX40L)などが同定された。

(3) IPF30 例を含む特発性間質性肺炎の急性増悪 acute exacerbation (AE) の連続患者 56 例において、診断時の予後因子を後ろ向きに解析した。180 日間での死亡率は 56.8%であった。診断時の HRCT 画像において、すりガラス影およびコンソリデーション、網状影および蜂巣肺の広がりスコアリングし、すりガラス影およびコンソリデーションの広がり左右比が 0.5 以下または 2.0 以上となる症例を非対称性急性増悪 asymmetrical AE、それ以外を symmetrical AE と定義した。180 日以内の死亡に関する多変量解析の結果、asymmetrical AE は予後良好因子であり (HR0.311、 $P=0.048$)、LDH 高値は予後不良因子であった (HR1.026、 $P=0.031$) (図 4)。

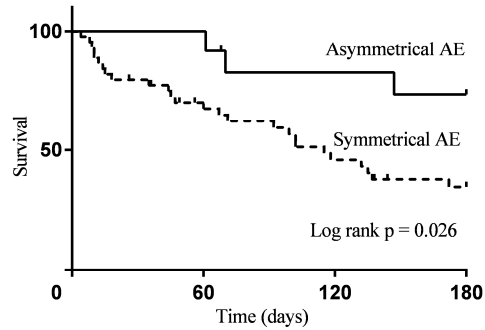


図 4. 特発性間質性肺炎急性増悪における非対称性/対称性分布病変分布と予後

Asymmetrical AE は IPF の急性増悪患者の単変量解析でも、予後良好因子であった(図 5)。

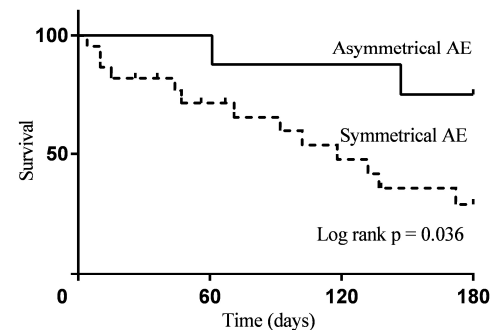


図 5. IPF 急性増悪における非対称性/対称性分布病変分布と予後

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 4 件、全て査読あり)

1. Ikezoe K, Handa T, Tanizawa K, Kubo T, Ito I, Sokai A, Nakatsuka Y, Nagai S, Izumi T, Mishima M. A toll-like receptor 3 single nucleotide polymorphism in Japanese patients with sarcoidosis. *Tissue Antigens*. 2015;85:204-8.
2. Nakatsuka Y, Handa T, Nakamoto Y, Nobashi T, Yoshihujii H, Tanizawa K, Ikezoe K, Sokai A, Kubo T, Hirai T, Chin K, Togashi K, Mimori T, Mishima M. Total lesion glycolysis as an IgG4-related disease activity marker. *Mod Rheumatol*. 2014. [Epub ahead of print]
3. Ikezoe K, Handa T, Mori K, Watanabe K, Tanizawa K, Aihara K, Tsuruyama T, Miyagawa-Hayashino A, Sokai A, Kubo T, Muro S, Nagai S, Hirai T, Chin K, Mishima M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2014;43:1807-9.
4. Aihara K, Handa T, Oga T, Watanabe K, Tanizawa K, Ikezoe K, Taguchi Y, Sato H,

Chin K, Nagai S, Narumiya S, Wells AU, Mishima M. Clinical relevance of plasma prostaglandin F2 metabolite concentrations in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. PLoS One. 2013;8:e66017.

〔学会発表〕(計9件、全て査読あり)

1. Tanizawa K, Handa T, Nakashima R, Kubo T, Hosono Y, Watanabe K, Aihara K, Ikezoe K, Sokai A, Nakatsuka Y, Taguchi Y, Hatta K, Oga T, Chin K, Nagai S, Mimori T, Mishima M: The long-term outcome of interstitial lung disease with anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibodies. 2015 American Thoracic Society International Conference. Denver, USA, 2015.5.17.
2. 谷澤公伸, 半田知宏, 中嶋蘭, 細野祐司, 田口善夫, 八田和夫, 長井苑子, 陳和夫, 三森経世, 三嶋理晃: 抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体陽性間質性肺炎の長期予後 第112回日本内科学会学術講演会 2015年4月10日~12日 京都、日本
3. 池添浩平, 半田知宏, 谷澤公伸, 祖開暁彦, 中塚賀也, 久保武, 田口善夫, 長井苑子, 陳和夫, 三嶋理晃: 特発性肺線維症患者における血清尿酸値の検討 第112回日本内科学会学術講演会 2015年4月10日~12日 京都、日本
4. 中塚賀也, 半田知宏, 谷澤公伸, 祖開暁彦, 池添浩平, 渡邊創, 相原顕作, 久保武, 田口善夫, 平井豊博, 長井苑子, 陳和夫, 三嶋理晃: 特発性肺線維症患者における体重減少の意義についての検討 第55回日本呼吸器学会学術講演会 2015年4月17日~19日 東京、日本
5. 祖開暁彦, 半田知宏, 谷澤公伸, 小賀徹, 宇野賀津子, 池添浩平, 中塚賀也, 久保武, 平井豊博, 長井苑子, 陳和夫, 三嶋理晃: 特発性肺線維症患者におけるマトリックスメタロプロテインナーゼのバイオマーカーとしての有用性の検討 第55回日本呼吸器学会学術講演会 2015年4月17日~19日 東京、日本
6. 祖開暁彦, 半田知宏, 陳豊史, 谷澤公伸, 志熊啓, 大畑恵資, 久保武, 池添浩平, 中塚賀也, 小熊毅, 平井豊博, 長井苑子, 陳和夫, 伊達洋至, 三嶋理晃: 間質性肺炎に対する脳死片肺移植後残存肺の換気/血流の経時変化 第55回日本呼吸器学会学術講演会 2015年4月17日~19日 東京、日本
7. Sokai A, Tanizawa K, Handa T, Kubo T, Ikezoe K, Nakatsuka Y, Aihara K, Nagai S, Hirai T, Chin K, Mishima M: Prognostic significance of asymmetrical distribution in acute exacerbation of interstitial pneumonia. 2014 European Respiratory Society. Munich, German, 2014.9.6.-10.
8. Nakatsuka Y, Handa T, Nakashima R, Kubo T, Hosono Y, Sokai A, Ikezoe K, Taguchi Y,

Hatta K, Tanizawa K, Oga T, Chin K, Nagai S, Mimori T, Mishima M: Serum prostaglandin F2 metabolite concentration in interstitial lung disease associated with polymyositis/dermatomyositis. 2014 American Thoracic Society International Conference. San Diego, USA, 2014.5.16.-21. 9. 中塚賀也, 半田知宏, 祖開暁彦, 池添浩平, 平井豊博, 三嶋理晃, 谷澤公伸, 小賀徹, 陳和夫, 細野祐司, 中嶋蘭, 三森経世, 久保武, 田口善夫, 八田和夫: Serum prostaglandin F2 metabolite concentration in patients with polymyositis/dermatomyositis associated interstitial lung disease. 第54回日本呼吸器学会学術講演会 2014年4月25日~27日 大阪、日本

〔図書〕(計2件、全て査読なし)

1. 谷澤公伸. 泉孝英編. 睡眠時無呼吸症候群. ガイドライン外来診療 2014. 444-7. 日経BP.
2. 谷澤公伸. 泉孝英編. サルコイドーシス. ガイドライン外来診療 2013. 483-7. 日経BP.

〔産業財産権〕

- 出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷澤 公伸 (Kiminobu Tanizawa)

京都大学・大学院医学研究科呼吸管理睡眠制御学講座・特定助教

研究者番号: 20639140