

間質性肺疾患（肺線維症）の病態解明および治療戦略に関する研究

1979年 巽が千葉大学医学部を卒業して呼吸器内科に入局した理由を振り返り考えてみると、「呼吸器内科はわからないことだらけだ、やらなければならないことは山ほどあり、何をするかで困ることはない」という先輩の一言でもあった。2025年3月千葉大学を退任するにあたり再度立ち止まって考えると、医師人生46年経った時点でも、呼吸器内科を巡る諸問題は一部解決されたに過ぎなかった。進行性の間質性肺疾患は難治であり一般内科医からは避けられている。間質性肺疾患の病態解明および治療戦略に関する課題にどのように向き合ってきたかを総括する。

慢性線維化性間質性肺炎患者における6分間歩行試験中のSpO₂変化パターンは病態・予後と関連する

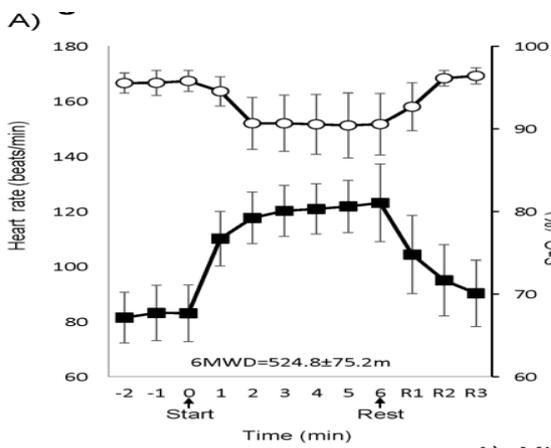
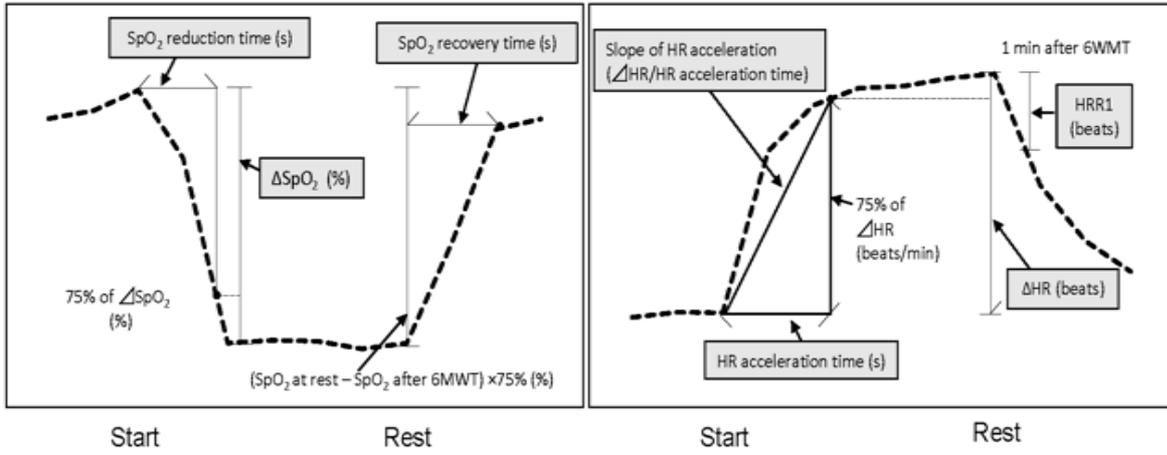
運動誘発性低酸素血症の程度は間質性肺炎の重症度と関係する：運動誘発性低酸素血症と運動耐容能の評価法として頻用されているのが6分間歩行試験（6MWT）であり、6分間歩行距離（6MWD）は特発性肺線維症（IPF）患者における主要な予後予測因子である。また、IPFにおける6MWDは努力性肺活量（FVC）と、6MWT中の ΔSpO_2 （安静時SpO₂–最低SpO₂）は肺活量（VC）および肺拡散能（D_{LCO}）と関連することが報告されている。6MWTのパラメータの中でもSpO₂低下・回復パターンは間質性肺炎の病態を反映し、 ΔSpO_2 およびSpO₂回復時間は急性増悪や生命予後とも関連しうることを明らかにした（Respir Care 2023;68:356-365）。

慢性線維化性間質性肺炎（CFIP）における運動誘発性低酸素血症や肺機能は予後規定因子である。その運動誘発性低酸素血症と運動耐容能の評価法として頻用されているのが6分間歩行試験（6MWT）であり、6分間歩行距離（6MWD）は特発性肺線維症（IPF）患者における主要な予後予測因子である。またIPFにおける6MWDは努力性肺活量（FVC）と、6MWT中の ΔSpO_2 （安静時SpO₂–最低SpO₂）は肺活量（VC）および肺拡散能（D_{LCO}）と関連することが報告されている。このように6MWTと肺機能は密接に関連しており、日常診療のみならず研究のアウトカムとしても重要視されている。さらに近年はCOPDやCTEPHにおける6MWT中のSpO₂、心拍数（HR）の変化パターンに着目した研究が散見され、SpO₂とHRの変化パターンは疾患重症度によって異なり、循環動態や肺機能と関連することが報告されている。しかしCFIP患者における6MWT中のSpO₂およびHRの変化パターンが、肺機能、急性増悪、生命予後と関連するかどうかは明らかにされていない。本研究ではCFIP患者における6MWT中のSpO₂とHRの変化を測定し、肺機能、急性増悪、生命予後から見た疾患重症度・病態を予測する因子になりうるかを検討した。

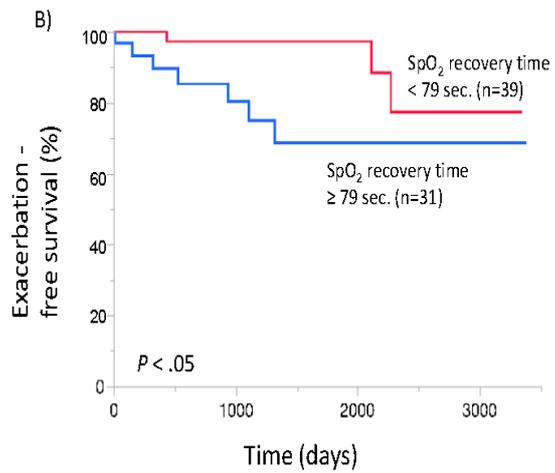
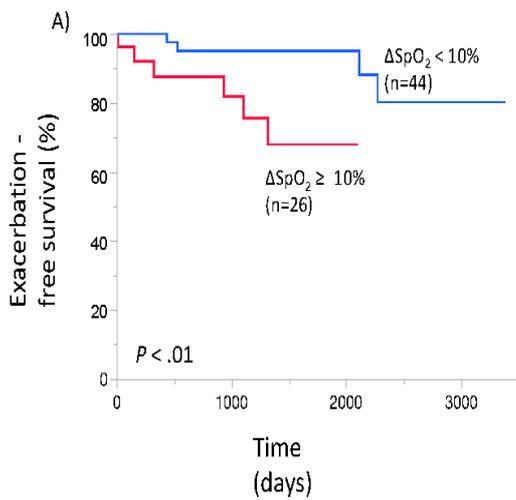
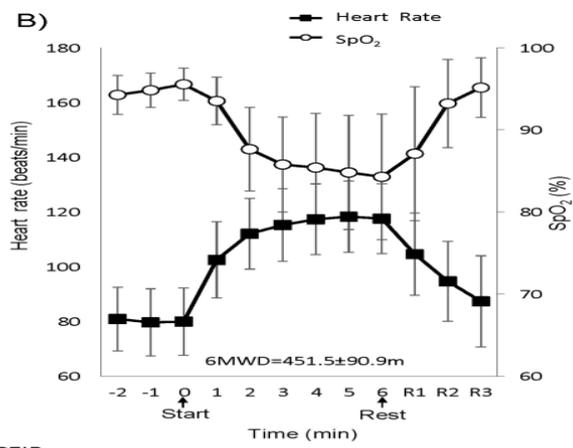
対象は2012年～2016年に千葉大学医学部附属病院にて6MWTと精密肺機能検査を同時期に施行されたCFIP患者119例のうち、後述する測定項目が確認できた63例で、肺機能の重症度により2群に分類した（軽症群：%FVC > 75%かつ%D_{LCO} > 55%、重症群：軽症群以外）。6MWT中の測定項目として ΔSpO_2 、SpO₂低下・回復に要した時間（SpO₂低下時間・SpO₂回復時間）、HRの上昇に要した時間（HR上昇時間）、HRの上昇の傾き（HR傾き：[最大HR – 安静時HR] / HR上昇時間）、6MWT終了後1分のHRの回復（HRR1）、6MWDを評価し、2群間の差を検討した。また6MWT中のパラメータと肺機能の関連はSpearmanの順位相関係数を確認の上、重回帰分析にて検討した。さらに各パラメータのCutoff値を算出し、Kaplan-Meier法にて急性増悪、生命予後との関連を検討した。

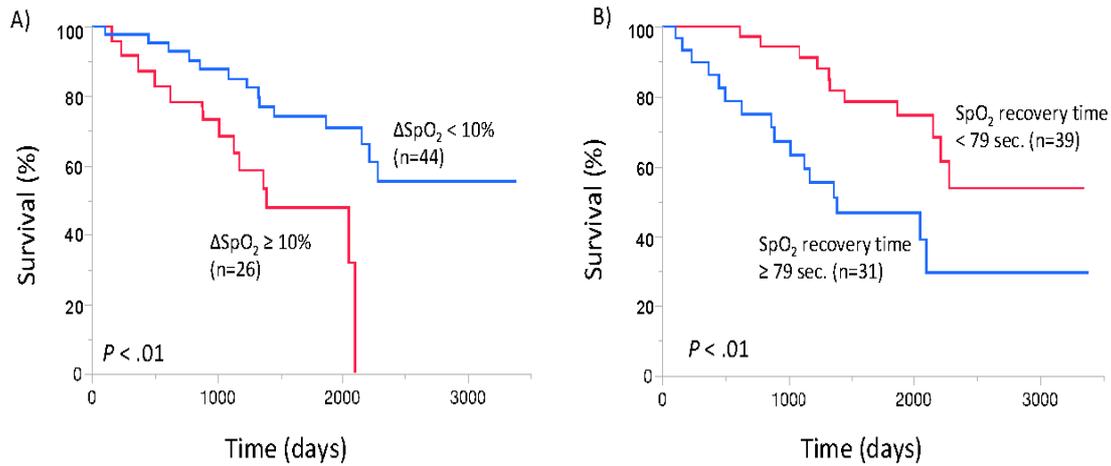
重症群は6MWT中の ΔSpO_2 が有意に大きく、SpO₂低下時間・回復時間が有意に長かった。また重症群ではHRR1が有意に低値だった。重回帰分析では、SpO₂低下時間と%VCが、 ΔSpO_2 およびSpO₂回復時間と%D_{LCO}が独立して関連を認めた。6MWT中のパラメータと急性増悪、生命予後の関連では、 ΔSpO_2 が10%以上の症例、SpO₂回復時間が79秒以上の症例は、そうでない症例と比較して急性増悪までの日数と生存期間が有意に短かった。

6MWTのパラメータの中でもSpO₂低下・回復パターンはCFIPの病態を反映し、 ΔSpO_2 およびSpO₂回復時間は急性増悪や生命予後とも関連しうることを示された（Respir Care. 2023;68:356-365）。



A) Mild CFIP
B) Severe CFIP

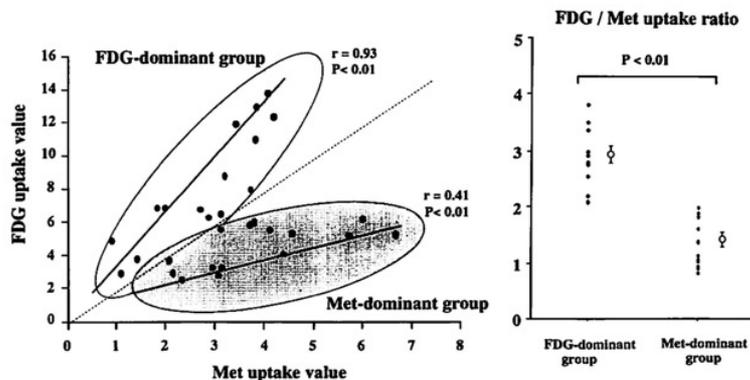




サルコイドーシスにおける病態進展と自然寛解

FDG-PET は悪性腫瘍の診断補助で使用されているように、糖代謝の亢進を反映している。炎症性疾患でも FDG の取り込みがみられており、マクロファージ、好中球、リンパ球などの炎症性細胞の活性化を表現していると考えられている。Methionine-PET はタンパク質を構成するアミノ酸であるメチオニンを RI で標識したトレーサーを用いた PET 画像診断検査である。細胞分裂が活発な腫瘍細胞に取り込まれるメチオニンの性質を利用して、特に脳腫瘍の診断に有用な検査法として知られている。FDG と Methionine の取り込みの違いが何を反映しているかは明らかでないが、サルコイドーシス肺門リンパ節腫脹に対して FDG が Methionine よりも優位に取り込まれる群の方が自然寛解が多かったことを認めた (J Nucl Med 1998;39:1160-1166)。

サルコイドーシス肺門リンパ節腫脹 FDG-dominant groupの方が寛解例が多い



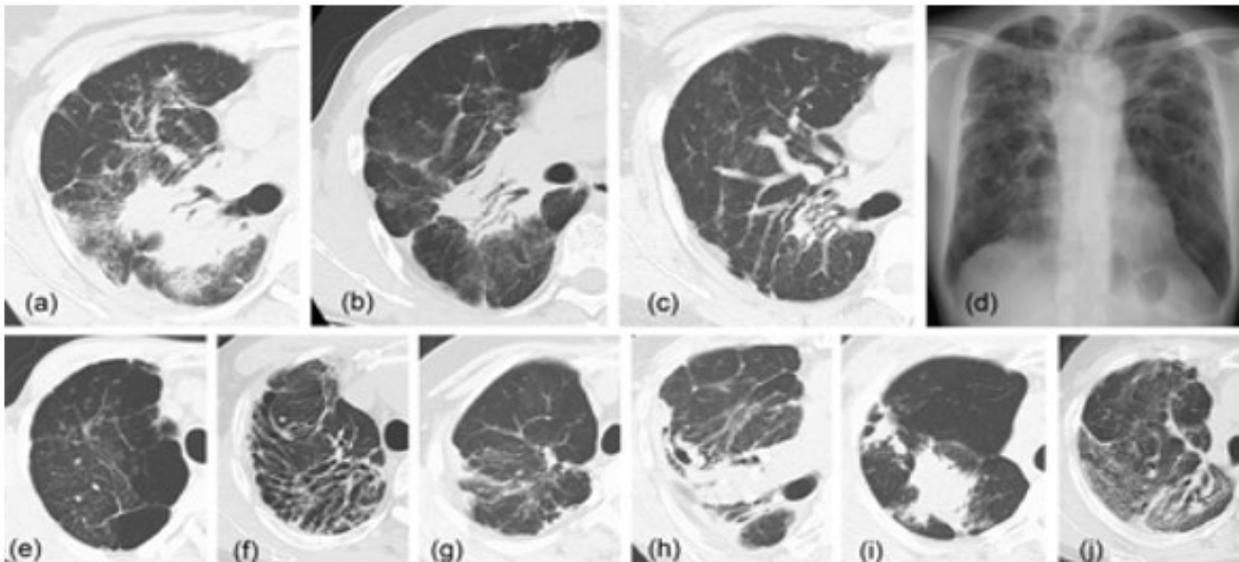
Yamada Y, et al. J Nucl Med 1998;39:1160-1166

サルコイドーシス画像における中枢気管支変形 (central bronchial deformity : CBD)

JR 東京病院 川述剛士先生の臨床研究である。肺野型サルコイドーシス患者の一部に上葉縮小 (shrinkage in the upper lobe : SUL) を伴う中枢気管支変形 CBD を認めることがある。胸部画像において、CBD とそれ以外の構造上の変化に関係があるのかどうかを検討した。BHL の患者は除外して、後方視的に 72 症例のコホート集団での解析を施行した。対象者を CBD の有無で 2 群に分類して、CBD の成立経過と上葉における SUL、嚢胞/気腫様の低吸収領域 (Cyst/LAA)、胸膜/胸膜下肥厚 (PT)、牽引性気管支拡張 (TrBE) の有無を検討した。また、CBD phenotype は呼吸機能障害を併存しているかを検討した。CBD は高率に SUL (82% vs. 9%)、Cyst/LAA (44% vs. 7%)、PT (59% vs. 4%) を併存していた。TrBE は高頻度で CBD を伴って (22% vs. 4%) おり、単変量解析でオッズ比は 6 であった。CBD phenotype は %FVC および %DLco の低値を呈していた。肺野型サルコイドーシスでは有意に肺野リモデリング (SUL、Cyst/LAA、TrBE、PT)

および呼吸機能障害を伴っていた。CBD は上葉の線維化性変化を同定しうる臨床的に重要な phenotype と考えられた (Acad Radiol. 2024;31:1160-1167)。

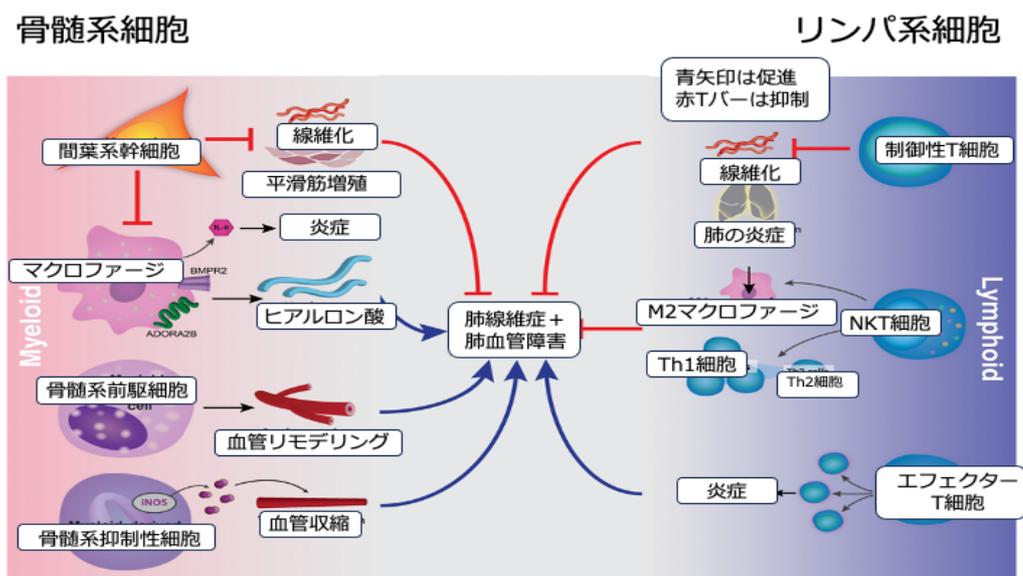
肺野型サルコイドーシスの胸部 CT 所見



a. 肉芽腫性炎症性変化を反映する中枢部 consolidation を伴う CBD、b. 肉芽腫性炎症性変化と線維化の混合性変化を反映する中枢部線維化性 consolidation を伴う CBD、c. 線維化病変が主と考えられる中枢部 consolidation を伴わない CBD、d. 上葉縮小 (SUL)、e. 嚢胞/気腫様の低吸収領域 (Cyst/LAA)、f. 牽引性気管支拡張 (TrBE)、g. 胸膜/胸膜下肥厚 (PT)、h. 中枢末梢 band、i. 大結節様 consolidation、j. すりガラス状陰影

骨髄系細胞は肺に到達する前に何らかの遺伝情報を有しているのか？

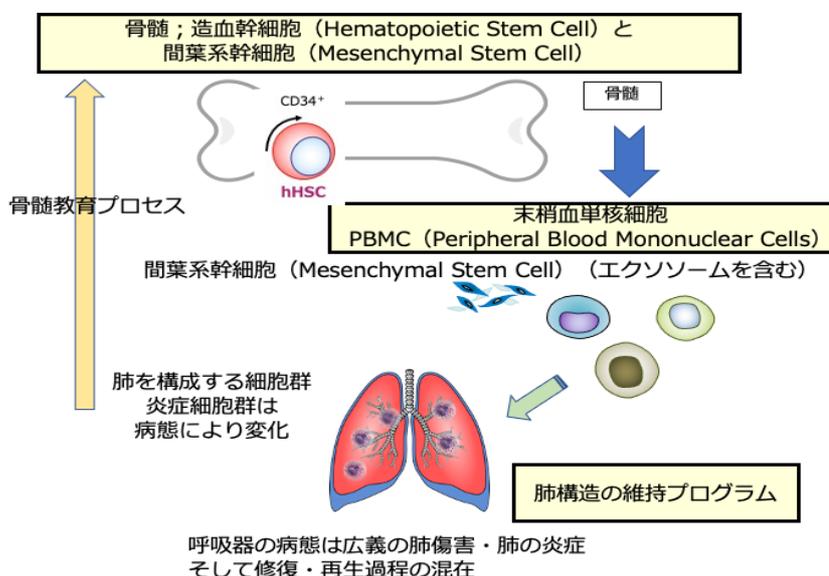
～サルコイドーシス肉芽腫性病変の成立機序～



Br J Pharmacol. 2021;178:172より引用改変

肺の線維化には骨髄由来細胞とリンパ系細胞の双方が関与する
 肺の線維化病態には、プライミングを受けた骨髄由来細胞、また免疫記憶を有しているリンパ系細胞が、病態促進的ないしは抑制的に作用している。

骨髄から臓器に到達する炎症系細胞およびリンパ系組織から臓器に到達するリンパ系細胞が、肺における線維化に関与していると想定される。「骨髄系細胞は傷害のある臓器からの情報を受けとりプライミングを受けている。骨髄からの炎症性細胞は病態特異的な遺伝子情報を有している？」に関して、特発性肺線維症を含めて各種呼吸器疾患にて解析中である。肺の肉芽腫形成から肺の線維化に至るサルコイドーシスに関して骨髄系細胞である末梢血単核球 (PBMCs) のトランスクリプトーム解析を行った。

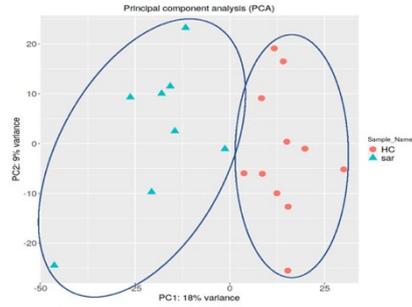


骨髄系細胞は傷害のある臓器からの情報を受けとりプライミングを受けている。骨髄からの炎症性細胞は病態特異的な遺伝子情報を有している。末梢血単核細胞 (PBMC) は骨髄由来細胞とリンパ系細胞双方の情報が含まれていると想定される。サルコイドーシス患者 PBMC が肉芽腫形成病態へ進行するプライミングを受けているかどうかを検討した。

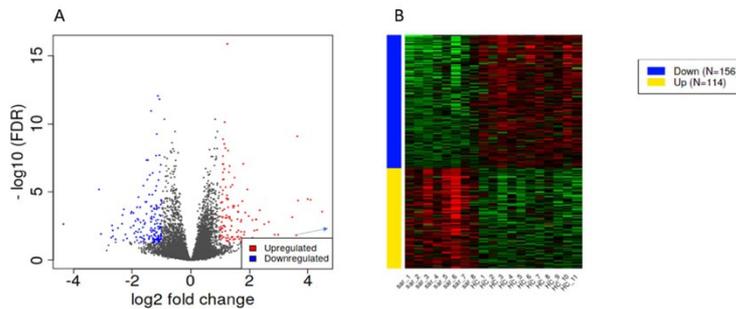
肉芽腫性の全身疾患であるサルコイドーシスの病因は不明である。肺組織および縦隔リンパ節におけるマクロファージ、リンパ球などの単核球は肉芽腫形成に於いて重要な役割を果たしていると考えられる。末梢血単核球 (PBMCs) は免疫担当細胞集団であり、サルコイドーシスの発症に関係していると考えられるが、どのような影響を与えているかは不明である。

PBMC の RNA sequencing による transcriptional signature をサルコイドーシス患者と健常人とで比較検討した。PCA 解析では 270 の遺伝子群が両群比較に於いて異なる発現をしていた。Gene ontology の enrichment 解析では、サルコイドーシスの病因と関係しうる反応として、生物学的反応 biological process 反応に関係する遺伝子群の解析で、interleukin (IL)-1 と IFN- γ に対する細胞反応、IL-6 産生調節、IL-8 分泌、単核球遊走制御、LPS に対する反応性が異なっていた。KEGG pathway の enrichment 解析では、サルコイドーシスの病因と関係しうる反応として、tumor necrosis factor (TNF)、toll-like receptor signaling、IL-17 signaling pathways、phagosomes、ribosomes の関与が示唆された。TNF、IL-17 シグナル経路、Phagosome 関係の遺伝子は upregulation が掛かっており、ribosomes 関係遺伝子には downregulation が掛かっていた。

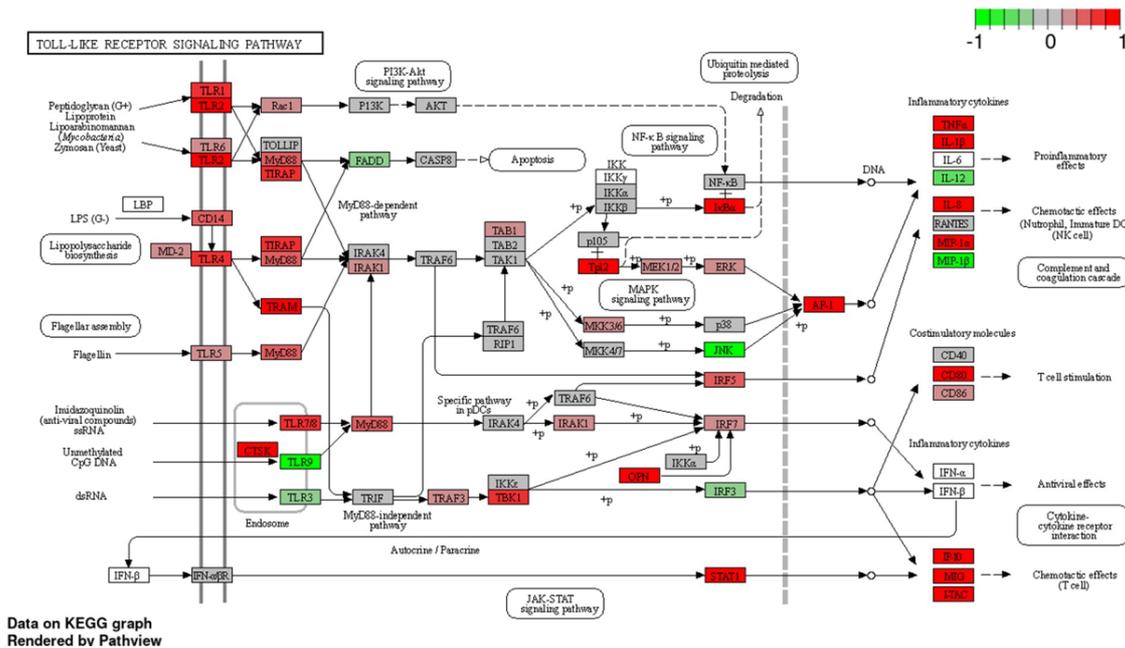
Bulk PBMC RNA レベルでの遺伝子発現はサルコイドーシス肉芽腫形成の機序を一部反映していると推測された。例えば単核球の toll-like receptor signaling は upregulation しており、LPS を含む刺激に対してより強く反応し、炎症性サイトカイン発現、T 細胞刺激などが亢進していると考えられる。サルコイドーシス PBMC 単核球は肺血管から組織に侵入すると骨髄由来マクロファージに形質転換する、肺の炎症細胞としての役割を発揮する前から骨髄からプライミングされた単核球が肺に届き病態形成に関与していると推定された (Front Med (Lausanne). 2022;9:822094.)。



サルコイドーシスと健常人のPBMC トランスクリプトーム解析 principal component analysis (PCA) で明らかな差を呈していた



サルコイドーシスと健常人の PBMC トランスクリプトーム解析は volcano plot, heat map 解析にて、upregulation された遺伝子、downregulation された遺伝子に関して明らかな差を呈していた。サルコイドーシス患者 PBMC では Toll-like receptor signaling pathway の下記赤字分子が upregulation されていた。

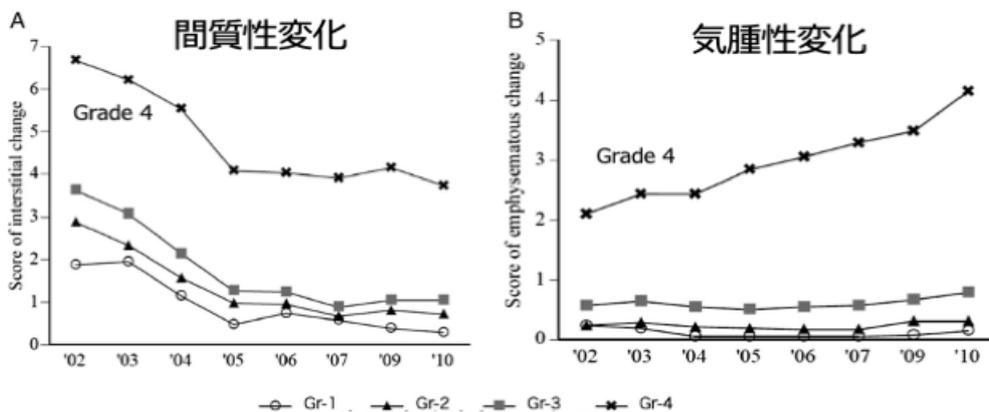


インジウム肺における線維化と気腫病変の発症

線維化刺激除去は間質性肺炎改善につながる：肺の線維化を惹起する刺激に関して、過敏性肺炎、薬剤性肺障害では特定可能な場合があるが、ほとんどの間質性肺炎では不明である。また、刺激物質が判明していても、どのような機序で肺の線維化が生じるかは明らかになっていない。何らかの遺伝的素因の上に肺に線維化を起こす刺激が加わった時に生じる生体反応が急性肺傷害であり、それは慢性肺傷害である肺の線維化

につながりうる。インジウム (In) 刺激を軽減すると、肺の線維化は改善しうる可能性が示されたが、成立した気腫病変 (肺胞構造の破壊) は非可逆的であることが示された。

液晶パネルの材料として用いられるインジウム (In) の生産量は 1990 年代以降急増し、その吸入により肺障害 (間質性変化・気腫化) が生じる。In 作業者を対象にした呼吸器検診の結果を解析し In による肺障害の経年推移の特徴並びに作業環境改善の効果を明らかにした。9 年間で In 加工室の作業環境濃度は 1/100 以下になり、血清 In、KL-6 は低下し、HRCT 上間質性変化も改善したが、血清 In の最も高い群では気腫性変化が経年的に進行し、高曝露群では不可逆性の気腫化が生じることが示唆された。喫煙歴との関連は認められなかった。sIn の半減期は長く In の肺胞からクリアランスには長期間を要すると推察される。作業環境改善により、血清 In、間質性肺炎マーカーは低下し間質性陰影は部分的に改善するが、高度曝露群では気腫化の進行を招くことを認めた (Thorax 2015;70:1040-1046)。気腫合併肺線維症の進展機序に通じる部分がある可能性がある。



インジウムの高度曝露群において、インジウム曝露を避けると肺の線維化は改善するが、気腫化は進行した、間質性肺炎は刺激を回避すると改善しうる可能性が示唆された。

間質性肺炎 (肺線維化) の治療

間質性肺疾患の病態解明を新規治療戦略につなげることが理想である。病態規定因子の解明、バイオマーカーの同定が治療戦略に役立てば社会実装につながる。病態理解は (1) 進行性間質性肺炎 (線維症) を臨床的にどのように診断するか? (2) 線維化の進行を規定している因子は? (3) 可逆的線維化と非可逆的線維化を分けている要因は何か? に集約される。

間質性肺炎に対する特異的治療はなく、それゆえに最も強力な抗炎症薬であるステロイドが難治性間質性肺炎に用いられてきた。しかし肺線維症に対する抗炎症治療であるステロイドの役割が限定的であることから、ステロイドとは異なる作用機序の抗線維化薬の開発が展開されている。抗線維化薬は、肺線維症の進行に関係する炎症経路、炎症性シグナルに介入することにより、間質性肺炎形成過程の上流を抑制しうる。線維化が進行する機序は単一でないのは明らかであり、現段階で使用されているピルフェニドン、ニンテダニブは進行性線維化を部分的に抑制している。しかし臨床効果は限定的であり、新たな作用機序を有する抗線維化薬の開発が望まれている。

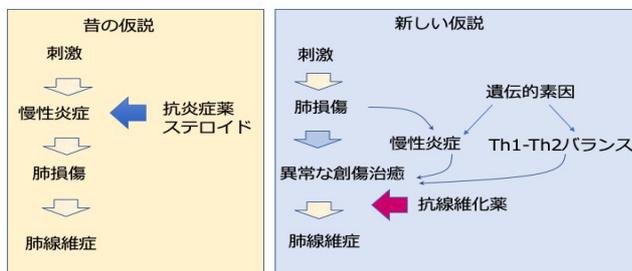
肺線維症に対する抗線維化薬の登場

特発性肺線維症を含む特発性間質性肺炎に対しては、臨床画像病理の総合判断の上で病態把握がされてきた。しかし BOOP (COP) に対するステロイド治療など一部有効な治療は確認されてきたが、大多数の IIPs に対する治療方法は確立されていない。従来ステロイド治療のみであったのが、抗線維化薬が登場してパラダイムシフトが起こった。肺線維症は肺損傷に対する異常な創傷治癒過程と考えられる、抗線維化薬はこの創傷治癒過程に作用しうるとも考えられる。2020 年の時点で、認可されている抗線維化薬はピルフェニドンとニンテダニブである。これらの抗線維化薬は今後開発される別の作用機序の薬剤との併用という報告に向かうと予測される。千葉大学病院は IPF の早期 (stage I) よりも進行例 (stage III, IV) の患者の方が多

く、進行例を中心とした抗線維化治療は、IPF の自然歴を観察した 2014 年の Hokkaido cohort study の生存曲線を上回ることはなさそうである。今後の治療展開に期待したい。

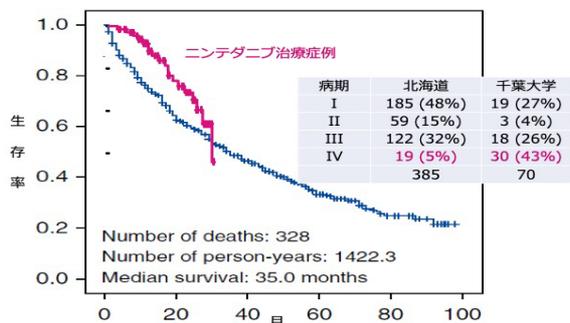
特発性肺線維症 (IPF) 治療のパラダイムシフト

ステロイド → 抗線維化薬



N Engl J Med 2001;345:517

IPF患者の生存曲線 (千葉大学病院ニンテダニブ)



Number of deaths: 328
Number of person-years: 1422.3
Median survival: 35.0 months

Natsuzaka M et al. Am J Respir Crit Care Med 2014;190:773
Abe M. Department of Respiriology, Graduate School of Medicine, Chiba University

特発性肺線維症の末梢血単核球トランスクリプトームへの抗線維化薬の影響

肺の線維化は肺を構成している種々の細胞（上皮細胞、線維芽細胞、肺血管内皮細胞）のみでなく、骨髓系細胞（間葉系幹細胞、単核球などの炎症性細胞）、リンパ系細胞などとの相互作用の結果生じている。骨髓系細胞は肺に到達する前に何らかの遺伝情報を有しているのかを、まずサルコイドーシス症例を対象に明らかにした (*Front Med (Lausanne)*. 2022;9:822094)。さらに特発性肺線維症 (IPF) では健常者とは異なる末梢血単核球 (PBMC) トランスクリプトームを呈し、抗線維化薬であるピルフェニドン (PFD)、ニンテダニブ (NTD) の治療の影響がトランスクリプトームに反映されることを明らかにした (*Int J Mol Sci* 2024;25:3750)。

IPF の治療には PFD と NTD の 2 種類の抗線維化薬がある。PBMC は免疫担当細胞であり IPF 病態に関連する細胞間相互作用を制御していると想定される。そこで PBMC の RNA シーケンシングを用いて、IPF 患者のバルク PBMC におけるトランスクリプトームについて健常者 (HC) との比較、および抗線維化薬の効果について検討した。「IPF 患者と健常対照者」、「抗線維化薬治療前後」の発現変動遺伝子 (DEGs) を解析した。エンリッチメント解析の結果、NTD による治療は脂肪酸伸長酵素 *ELOVL6* の発現を上昇させることから、脂肪酸伸長は TGF- β /Smad シグナル伝達と酸化ストレスの産生を抑制することが示唆された。活性化された単球由来のマクロファージは組織損傷時にコラーゲン I 型 alpha1 鎖の産生に関与するが、PFD による治療は創傷治癒コラーゲンを生成する *COL1A1* の発現を低下させる。Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は、プラスミンを介したマトリックスメタロプロテアーゼの活性化を阻害することにより創傷治癒を制御し、PAI-1 活性の阻害は肺線維症を軽減しうる。DEG 解析により PFD と NTD の双方が PAI-1 活性を制御する *SERPINE1* の発現を上昇させることが示唆された。この研究は RNA シーケンシングを用いて特発性肺線維症患者の PBMC を調べるといった新しいアプローチを取り入れており、治療の標的となり得る全身的なバイオマーカーまたは経路を明らかにできる可能性が示唆された。

1. 研究の背景

IPF は進行性線維化を特徴としている。IPF の病態には、反復的な上皮細胞傷害、傷害を受けた肺胞のその後の異常修復、活性化した線維芽細胞 (筋線維芽細胞) による細胞外マトリックス (ECM) の広範な沈着が関与している可能性がある。現在、2 種類の抗線維化薬、PFD と NTD が肺線維症の進行を遅らせるために使用されている。PFD は、TGF- β 1 などの線維化促進因子や、TNF- α 、IL-1 β 、IL-13 などの炎症性サイトカインの発現を低下させる。NTD は、血管内皮増殖因子 (VEGF) 受容体 1、2、3、血小板由来増殖因子 (PDGF) 受容体 α 、 β 、線維芽細胞増殖因子 (FGF) 受容体 1、2、3 を標的とするチロシナーゼ阻害剤である。しかし進行性線維症におけるこれら薬剤の作用機序は明らかになっていない。

PBMC は主に単球とリンパ球で構成されている。最近の多施設コホート研究で、単球数の多さは IPF を含む線維性疾患における予後不良のバイオマーカーであることが報告されている。リンパ球機能の低下は、IPF

における呼吸機能障害と関連している。これら研究は、PBMC 機能と IPF との密接な関連を示唆している。上皮細胞と線維芽細胞間のクロストークなど、細胞間相互作用の調整において、免疫細胞は重要な役割を果たしているはずであるが、PBMC と IPF 病態との関係は明らかにされていない。そこでバルク RNA シーケンシング解析を用いて、IPF 患者における PBMC トランスクリプトームについて HC との比較、および抗線維化薬の効果について探索した。

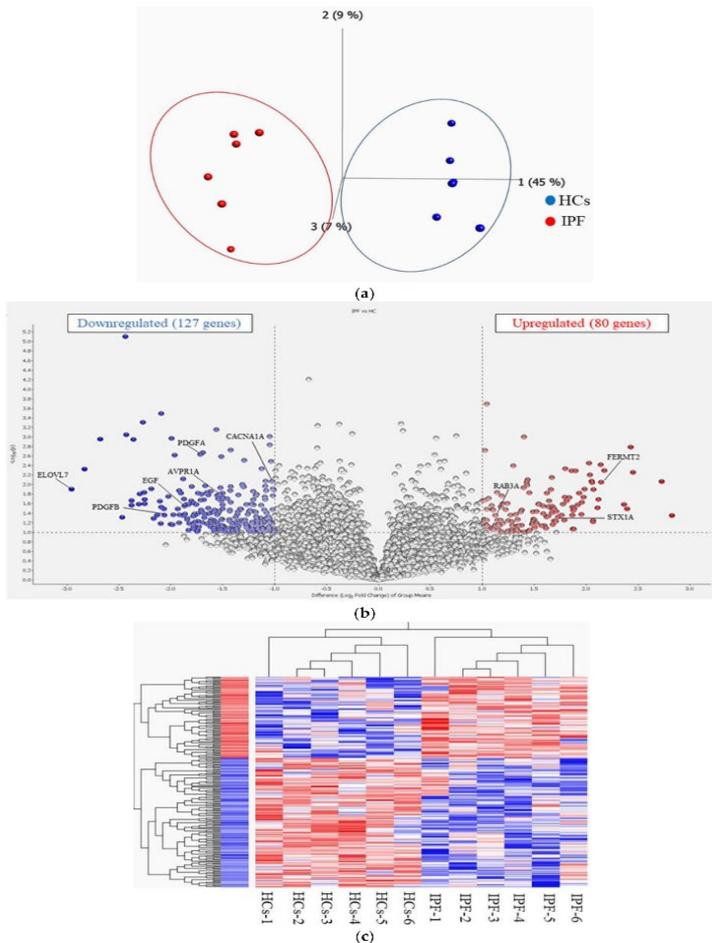
2.1. IPF と HC の PBMC におけるトランスクリプトームの比較

IPF 患者における PBMC のトランスクリプトームの特徴を探索した。抗線維化療法を受けていない IPF 患者と HC の遺伝子発現レベルを主成分分析 (PCA) により比較すると、2 群間の違いが明らかになった。12,347 遺伝子の \log_2 -fold change と p -value の分布をボルケーノプロットで示し、207 の DEGs (発現変動 > 2 または < 0.5 倍) を色でハイライトした。HC と比較した IPF 患者の PBMC における 127 の発現低下遺伝子と 80 の発現上昇遺伝子を持つ 207 の DEGs のヒートマップは、2 群間のトランスクリプトームの違いを示している (図)。

HC と比較した IPF 患者の PBMC におけるトランスクリプトームをさらに探索するために、DEGs を用いてエンリッチメント解析を行いました。遺伝子オントロジー (GO) 解析の結果、様々な生物学的プロセスと分子機能が関与していることが推測された。また KEGG pathway 解析の結果、「Synaptic vesicle cycle (DEGs ; *RAB3A* and *STX1A*) 」および「Insulin secretion (DEGs ; *RAB3A* and *STX1A*) 」を含む複数のパスウェイが上昇し、「Calcium signaling pathway (DEGs : *EGF*, *TNNC2*, *PDGFB*, *CACNA1A*, *PDGFA* and *AVPR1A*) 」、および「Fatty acid elongation (DEGs ; *ACOT7* and *ELOVL7*) 」は低下していた。

2.2. PFD 投与前後の PBMC におけるトランスクリプトームシグネチャーの比較

IPF 患者の PBMC のトランスクリプトームに対する PFD 治療の潜在的な影響を調べるため、PFD 投与前後で解析を施行した。遺伝子発現レベルを PCA により比較した結果、PFD 投与前後 2 群間の違いが明らかであり、ボルケーノプロットで示された 170 の DEGs のヒートマップは、PFD 投与前と比較して、PFD 投与後の PBMC で 98 の発現低下遺伝子と 72 の発現上昇遺伝子を示し、PFD 治療によるトランスクリプトームの変化を検出した。潜在的な PFD 作用メカニズムに関連する既知の分子である TGF- β 1、TNF- α 、IL-1 β の遺伝子発現レベルを評価したが、PFD 投与前後で有意差は認められなかった。PFD 治療後の PBMC のトランスクリプトーム GO 解析の結果、様々な生物学的プロセスと分子機能が浮かび上がってきた。KEGG pathway 解析の結果、「p53 signaling pathway (DEGs ; *CCNE1* and *SERPINE1*) 」は上昇し、「*COL1A1*、*GNAL* and *C8G*」は低下していた。



(a) 主成分分析 (PCA)。特発性肺線維症 (IPF) と健常コントロール (HC) が大きな 2 つのグループに分けられた。(b) 発現差のある遺伝子 (DEGs) のボルケーノプロット。12,347 遺伝子の log2-fold change と p -value の分布を示すボルケーノプロット。色のついた点は IPF と HC の間の 207 の DEGs を表す。赤い点は高発現、青い点は低発現を示す。(c). IPF と HC の DEGs のヒートマップ。赤い棒は高発現、青い棒は低発現を示す。

2.3. NTD 投与前後の PBMC におけるトランスクリプトームシグネチャーの比較

IPF 患者の PBMC のトランスクリプトームに対する抗線維化薬 NTD の潜在的効果を探るために、上記と同様に NTD 投与前後で解析を行った。NTD 投与前後の PBMC のトランスクリプトームは PCA を行った結果、2 つのグループに明らかに違いがあり、ボルケーノプロットで示された 198 個の DEGs のヒートマップは、NTD 投与前の遺伝子と比較して、NTD 投与後の PBMC で 103 個の発現低下遺伝子と 95 個の発現上昇遺伝子を示し、NTD 投与によるトランスクリプトームの変化を検出した。潜在的な NTD メカニズムに関連する分子として知られる VEGFR、PDGFR、FGFR のトランスクリプトームレベルを評価したところ、NTD 投与前後で有意差は認められなかった。NTD 治療後に PBMC で調節されたトランスクリプトームをさらに探索するため、DEGs を用いたエンリッチメント解析を行った。GO 解析の結果、様々な生物学的プロセスと分子機能が観測できた。KEGG pathway 解析の結果、「Fatty acid elongation (DEGs ; *ACOT7*, *ELOVL6* and *PPT2*) 」および「p53 signaling pathway (DEGs ; *CCNB2*, *SERPINE1* and *CDK1*) 」を含むパスウェイが上昇し、「Insulin secretion (DEGs ; *KCNN3* and *CACNA1F*) 」が低下していた。

3. まとめ

本研究は PBMC のバルク遺伝子発現パターンが IPF 患者と HC で異なり、IPF の抗線維化治療によって影響を受けることを示唆している。PBMC の遺伝子発現パターンの変化は、IPF 病態と 2 種類の抗線維化薬の薬理効果を反映していた。PFD および NTD による抗線維化治療が PBMC のトランスクリプトームに影響を及ぼし、これら 2 つの抗線維化薬の機能における作用機序の違いが示唆された。これらの新たな知見は、IPF の病態の理解を深め、IPF の潜在的な治療標的を同定することにつながり、新しい治療法の開発に寄与することが期待された。

間質性肺疾患の治療を考える時、どこを治療ターゲットとするか？

間質性肺疾患に対する新規治療戦略を構築するために以下の観点を明らかにしてきた。

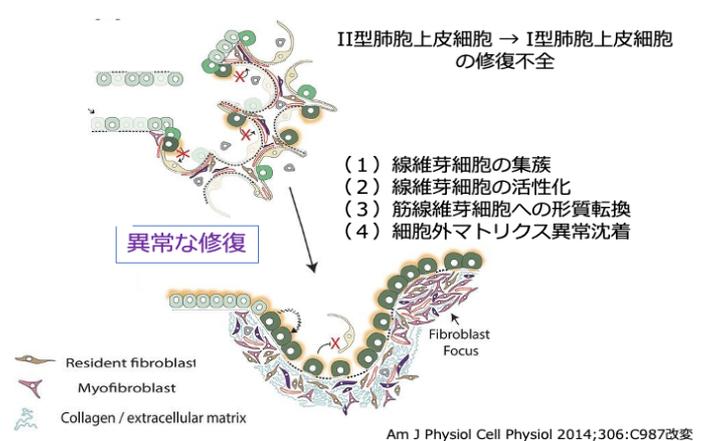
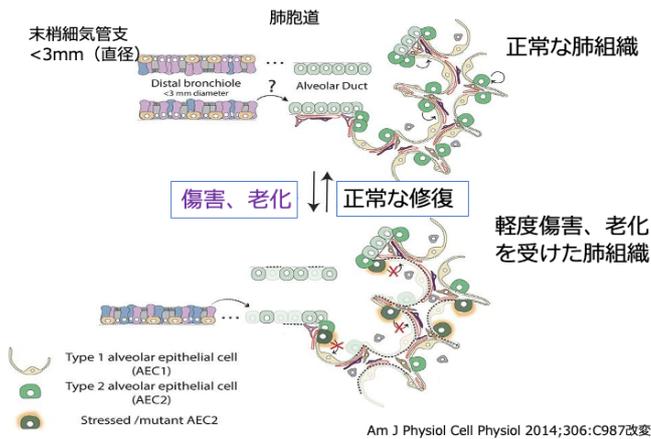
1. 肺の炎症機転制御は間質性肺炎制御につながるか：間質性肺炎に対するステロイド治療の効果は限定的であるが、病態により臨床的效果が認められる。強力な抗炎症薬であるステロイドの作用標的となる炎症細胞／分子に対する抗炎症療法の可能性は残されている。線維化に関係する炎症機転に参与する細胞は、肺構成細胞群（上皮細胞、線維芽細胞、肺血管内皮細胞）、骨髄系細胞（間葉系幹細胞、単核球などの炎症性細胞）、リンパ系細胞である。間質性肺炎モデルにおいて、好中球機能の一つとして Neutrophil extracellular traps (NETs) を制御する PAD4 が治療標的となりうることを示した。また II 型肺胞上皮細胞における p38MAPK の活性亢進は、ヒト肺線維症でも生じていることをトランスクリプトーム解析にて示した (*Am J Respir Cell Mol Biol.* 2020;63:806-818、*Int J Mol Sci.* 2020;21:E6746)。
2. 新規治療戦略として筋線維芽細胞の脱分化：従来、線維芽細胞の TGF- β 活性化抑制が一つの治療戦略であった。サイクロスポリン A および HIF-1 inhibitor はこの経路を抑制しうることを、ヒト線維芽細胞において示した (*FASEB J* 2017;31:3359-3371)。線維化の最終過程は線維芽細胞の活性化／筋線維芽細胞への形質転換である。エピジェネティック関連ライブラリーから選択した Bromodomain 阻害薬 UNC0379 および JQ-1 が、肺移植検体から分離したヒト筋線維芽細胞の脱分化を誘導しうることを、トランスクリプトーム解析などで示した (*Front Mol Biosci.* 2020;7:192) (*Mol Med Rep.* 2020;22:1518-1526)。
3. 筋線維芽細胞における細胞外マトリクス (ECM) を産生の抑制：筋線維芽細胞による過剰な細胞外マトリクス (ECM) 産生は肺線維化の要因となっている。Transforming growth factor- β (TGF- β) /Smad 系シグナルは筋線維芽細胞による ECM 産生の中心的役割を果たしていると考えられており、その経路の抑制は IPF 治療の有用な治療戦略になりうる。ゴーシェ病 1 型の治療に用いられている別のグルコシルセラミド合成酵素 (glucosylceramide synthase; GCS) 阻害薬エリグルスタットは線維化マーカーである TGF- β 1 により誘導される α -smooth muscle actin の発現を抑制したことより、新規の IPF 治療戦略の開発に寄与することが期待された (*Eur J Pharmacol.* 2024;966:176366)。
4. 肺線維症に対する骨髄由来細胞を含む細胞治療：健常マウス肺から分離・培養した易浮遊性細胞群 (mixed culture-derived epithelial cells : LMDEC) が肺の線維化抑制に有用であることを示した。LMDEC は、II 型肺胞上皮細胞、気道肺胞幹細胞、骨髄由来細胞を含む細胞群であった、線維化抑制には、線維化に関係している複数の経路を同時抑制する方がより効果的な可能性が高い。線維化に対する細胞治療が可能であれば、細胞間相互作用を含めて病態抑制が可能かもしれない。間質性肺炎の制御には骨髄由来細胞による肺傷害の修復／再生の関与が必要である (*Lab Invest* 2014;94:1247)。

正常な修復と異常な修復

新規抗線維化薬の開発には線維化機転の理解が必要になる。線維化成立においてより下流のシグナルを抑制するという発想は、肺線維症の成立機転である「異常な修復機転」と密接に結びついている。健常肺が維持可能であるのは、軽度の傷害に対して常に「正常な修復 (再生)」が起きているためと考えられる。一方、肺の線維化には「異常な修復機転」が生じており、progenitor cell である II 型肺胞上皮細胞の I 型上皮細胞への分化機転が不十分である、線維芽細胞が異常に活性化しており筋線維芽細胞への形質転換が進行している、細胞外マトリクスの異常沈着が生じているなどの機転が考えられる。肺障害に対する正常な修復と異常な修復 (肺の線維化) を病態の特徴とする間質性肺炎においては、II 型肺胞上皮細胞と線維芽細胞が病態形成の主要な役割となっている。

健常肺では軽度の傷害に対しては修復（再生）が起こる

間質性肺疾患（肺の線維化）は異常な修復機転



間質性肺炎の悪化に好中球機能 NETs が関与しているか？

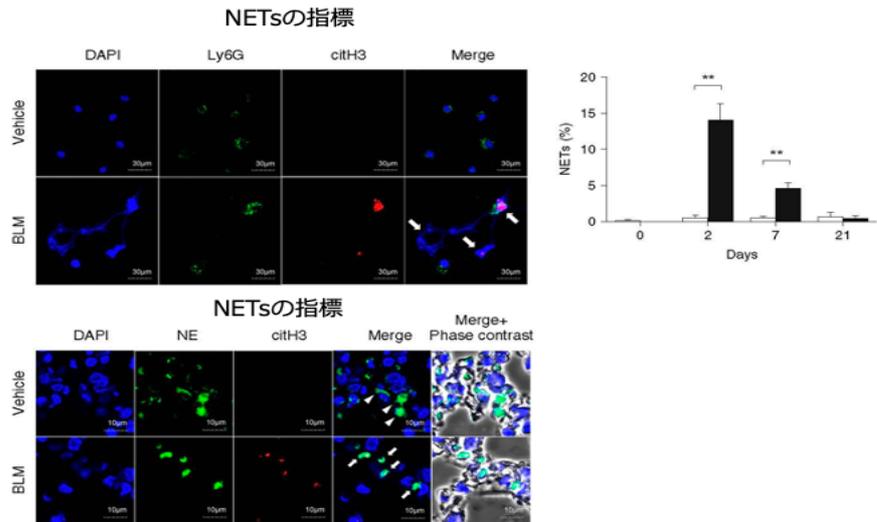
肺線維症に対する抗炎症作用を有する分子研究

特発性肺線維症 IPF は不可逆進行性の肺線維化を特徴としている。肺線維化機序には免疫細胞、とくに好中球が関与することが知られており、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の好中球増多は予後不良因子であることが認められている。好中球機能の一つとして Neutrophil extracellular traps (NETs) の役割が一つの課題となっている。NETs は DNA と細胞内蛋白の混合物を細胞外へ放出する現象で、Peptidylarginine deiminase-4 (PAD4) 酵素は NETs 発現に重要な役割を持つ。生理的には NETs は感染防御機能を担うが、過剰な NETs は急性肺障害や臓器線維化に関与する。しかし NETs の肺線維化における役割は不明であり、ブレオマイシン (BLM) 誘導マウス肺線維症モデルを用いて、肺線維化における NETs の役割を検証した。

野生型 (WT) マウスに BLM を投与し、投与後 day 2、7、21 の BALF・肺組織中の NETs 発現を評価した。同発現が PAD 阻害剤により改善するか評価した。WT マウス好中球を BLM で刺激し、PAD 阻害剤存在・非存在下で NETs の発現を評価した。次に、WT および Padi4 遺伝子欠損 (PAD4-KO) マウスを用いて、BLM 気管内投与後の BALF・肺組織中の NETs の発現、肺構成細胞プロファイル、肺線維化を評価した。また、Padi4 遺伝子は全身臓器に微量に発現しており、血球系細胞に発現する PAD4 の肺線維化への寄与を評価するため、PAD4-KO 血球系細胞置換マウスを作成し、BLM 投与後の肺線維化を評価した。

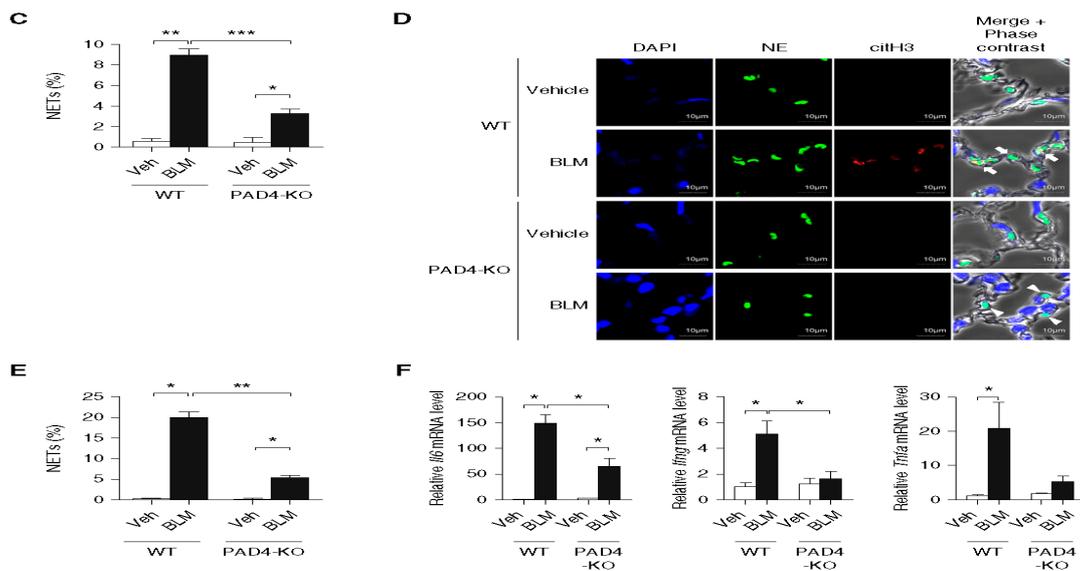
BLM 投与後、WT マウスでは BALF・肺組織中 NETs は day 2 に発現が亢進し、day 7・21 にかけて減少した。In vitro で WT マウス好中球を BLM で刺激すると NETs が誘導され、PAD 阻害薬によって、in vivo、in vitro で BLM 誘導 NETs は抑制され、BLM 誘導 NETs の発現に PAD の関与が示唆された。BLM 投与 PAD4-KO マウスでは、WT マウスに比し day 2 の BALF・肺組織中の NETs 発現は減少し、また day 14 の肺胞上皮・血管内皮細胞の減少、筋線維芽細胞の増加は抑制された。Day 21 の肺線維化スコア・コラーゲン蓄積は顕著に改善した。PAD4-KO 血球系細胞置換マウスではコントロール群に比較して、BLM 気管内投与後の肺線維化は改善した。以上から、PAD4 阻害は BLM 誘導性 NETs と肺線維化を抑制し、肺線維化抑制には血球系細胞に存在する PAD4 が重要であると考えられた。

PAD4 依存性 NETs は BLM 誘導性肺線維症を促進、PAD4 阻害は BLM 誘導性 NETs と肺線維化を抑制し、肺線維化抑制には血球系細胞に存在する PAD4 が重要であることが示された。PAD4 を介する NETs の制御は、肺線維症に対する新たな治療戦略になる可能性がある (Am J Respir Cell Mol Biol. 2020;63:806-818.)。



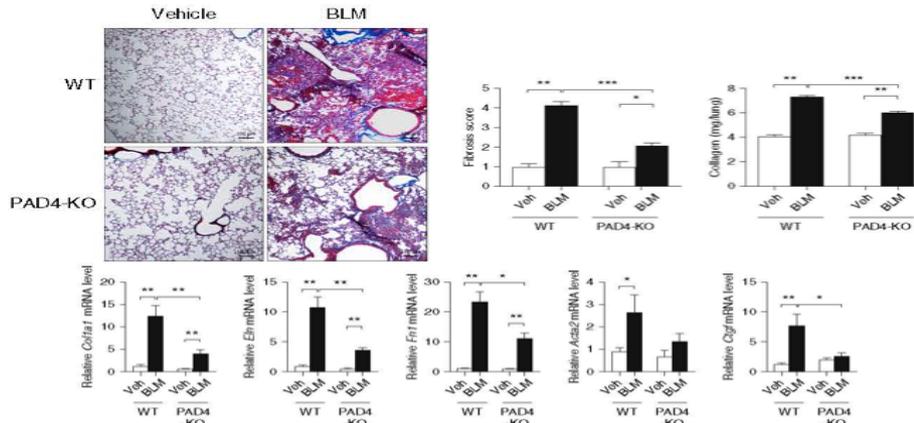
Am J Respir Cell Mol Biol. 2020;63:806.引用改変

細胞核 (DAPI)、好中球マーカー (Ly6G)、NETs 形成過程に必要なヒストンシトルリン化 (cit-H3) は、BLM 肺障害で染色された。BALF 好中球における NETs は Day2 に高値、Day7 では低下することが示された。好中球エラスターゼ (NE) と cit-H3 で重複染色された雲状の核構造は矢印で示した。NE による核断片化は arrowhead で示した。



PAD4 KO マウスでは BLM 障害肺における NETs 形成の低下 (上段は BALF 好中球における NETs 割合、下段は肺間質好中球における NETs 割合) が認められた。肺における炎症関係の mRNA (*Il6*, *Ifng*, *Tnfa*) 発現は PAD4 KO マウスで低値を示した。(Am J Respir Cell Mol Biol. 2020;63:806-818.引用)

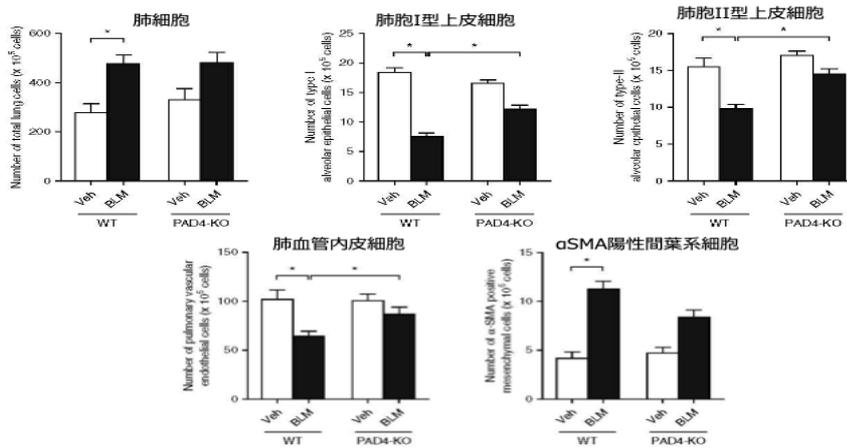
**PAD4 KOマウスではBLM誘導性肺線維症の軽減
線維化関係遺伝子発現の低下を認めた**



Am J Respir Cell Mol Biol. 2020;63:806.引用改変

BLM 投与 PAD4 KO マウスでは、Day 21 で線維化スコア、コラーゲン量の低下を認め、qPCR において *Col1a1* (collagen type 1 chain)、*Eln* (elastin)、*Fn1* (fibronectin 1)、*Acta2* (actin alpha 2)、*Ctgf* (connective tissue growth factor) の発現量低下を認めた。

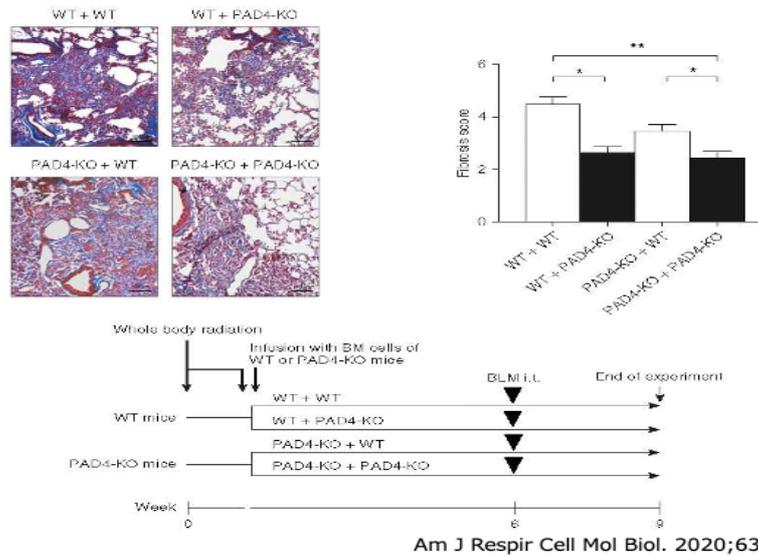
**PAD4 KOマウスではBLM誘導性
肺上皮細胞、肺血管内皮細胞の減少を抑制した**



Am J Respir Cell Mol Biol. 2020;63:806.引用改変

BLM 投与 PAD4 KO マウスでは、肺構成細胞（肺胞 I 型および II 型上皮細胞、肺血管内皮細胞）の減少が抑制された。 α SMA 陽性間葉系細胞が減少しなかったのは、内皮間葉転換・上皮間葉転換などの肺修復プログラムが動いたためとも推測された。

PAD4 KO骨髄移植GFPキメラマウスを作成した、BLM肺線維症の軽減が得られた。
骨髄造血幹細胞のPAD4発現は肺線維症の成立に関与していることが示された



PAD4 KO 骨髄移植 GFP キメラマウスを作成して BLM 肺障害モデルを作成した。PAD4 KO 骨髄移植 GFP キメラマウスでは BLM 肺線維症の軽減が得られ、骨髄造血幹細胞の PAD4 発現亢進は肺線維症の成立に関与していることが示された。

II 型肺胞上皮細胞 (AEC II) 細胞内転写因子 p38 MAPK は肺線維化進行と関係するか？

BLM 肺線維症モデルと IPF 患者肺の共通遺伝子に関するトランスクリプトーム解析

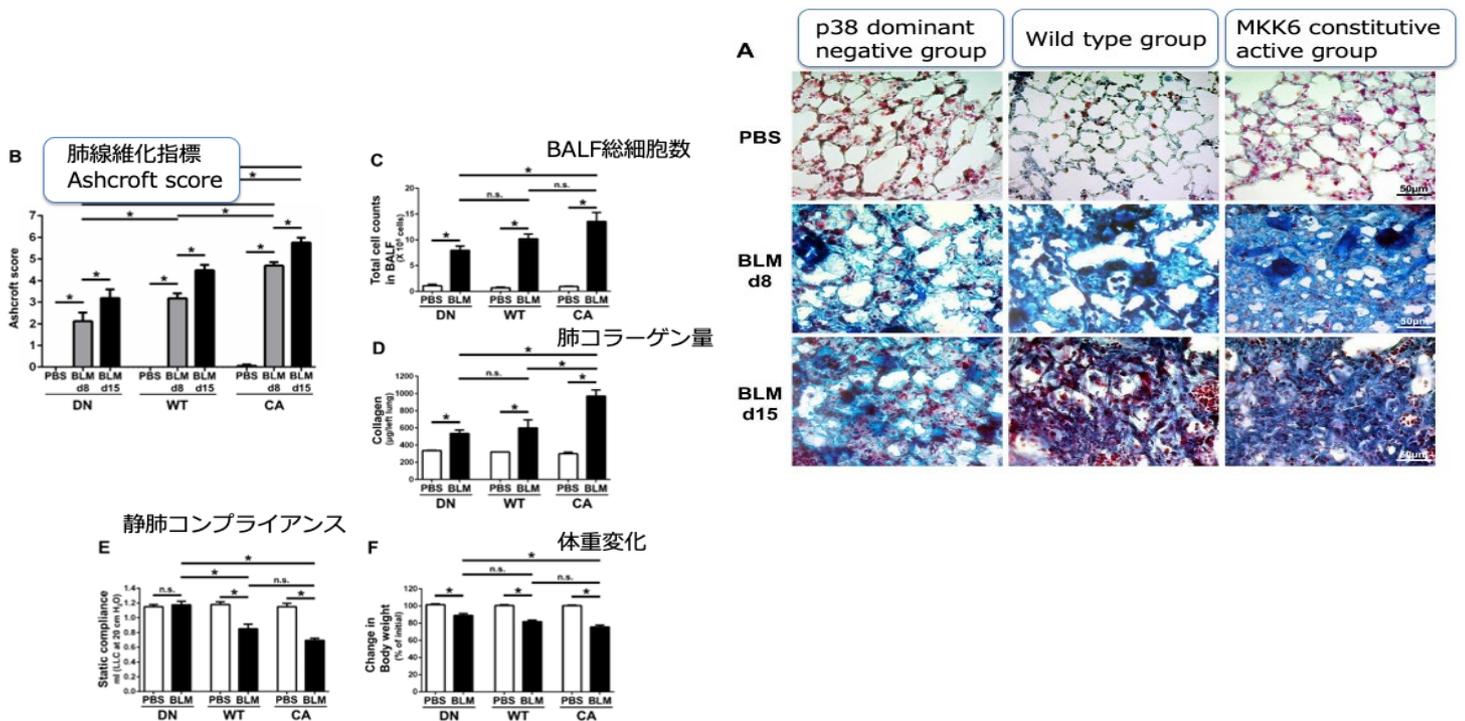
p38MAPK と肺線維化

特発性肺線維症 (IPF) では II 型肺胞上皮細胞 (AEC II) の活性化が進行性の肺線維化に関与しているが、その機序は不明である。p38 は細胞外刺激を核内転写制御機構につなぐ mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路のシグナル分子であり、免疫応答や肺線維化への関与が報告されている。本研究では、AEC II の p38 内因活性の段階的な違いが、ブレオマイシン (BLM) 誘導肺線維症の進展に関与するかを検証し、そのトランスクリプトーム解析により IPF 進行に関わる因子を検討した。

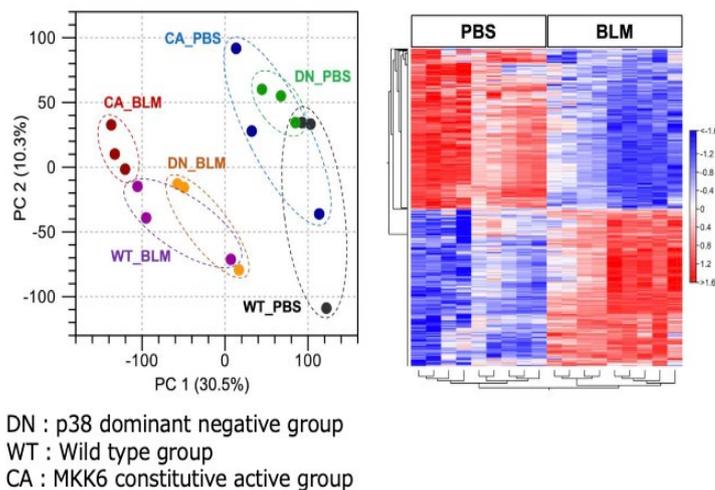
AEC II 特異的に p38 内因活性を改変した、MKK6 constitutive active トランスジェニック (TG) マウス (p38 活性上昇) と p38 dominant negative TG マウス (p38 活性低下)、および野生型マウスに対して BLM を気管内投与し、8 日目の線維化促進期に肺線維化の重症度を評価した。同時に、その肺組織を RNA シーケンスに供してトランスクリプトーム解析を行い、さらに公開されている IPF 患者肺のデータセットと比較解析を実施した。

p38 活性上昇に相関して、BLM 誘導肺線維症の組織所見は悪化し、肺コンプライアンスは低下、肺コラゲン量は増加した。トランスクリプトーム解析では、p38 活性上昇と一致して、BLM 投与肺で発現変動遺伝子が段階的に増加したのに加え、p38 MAPK 経路関連遺伝子が発現上昇した。さらに、発現変動遺伝子の機能解析により、小胞体機能、細胞外マトリクス、免疫応答に関連する遺伝子が変動していた。また BLM 投与肺で発現上昇した p38 活性に関係する遺伝子のうち、IPF 患者肺で発現上昇が認められた 4 つの遺伝子 (*EPHA3*, *POU2AF1*, *EDA2R*, *SAMSN1*) は免疫システムと関連していた。*EPHA3* は CCR-10 と共に上皮細胞のリプログラミングに関係、*POU2AF1* は B 細胞成熟と液性免疫に関係、*EDA2R* は肺の老化さらには p53 シグナル活性による上皮細胞のアポトーシス促進に関係、*SAMSN1* は B 細胞活性化に関係すると報告されている。これら遺伝子は p38 活性上昇に伴い、上皮細胞と免疫担当細胞の相互作用を介して肺の線維化促進に関与していることが示唆されている。BLM 誘導肺線維症に伴う p38 活性化は、ヒト IPF 患者肺でも同様に認められており、p38 活性化はヒト肺でも肺の線維化に関与していることが示された。AEC II の p38 内因活性上昇に伴う BLM 誘導肺線維症の重症化を実証した。BLM 肺線維症モデルのトランスクリプ

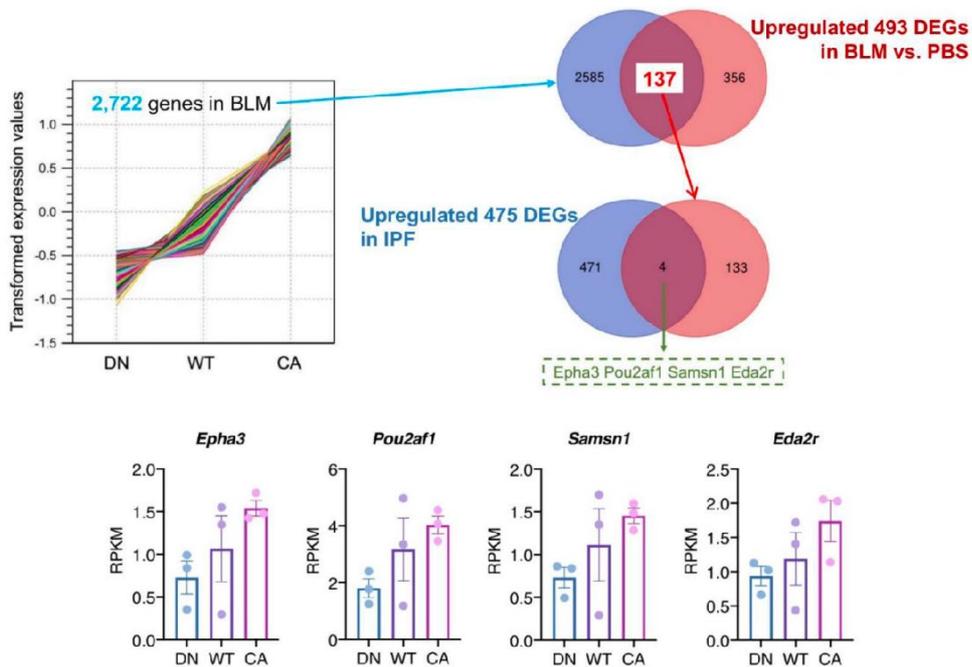
トーム解析により、ヒト IPF における p38MAPK 経路と関連した肺線維化進行に重要な因子を明らかにした (Int J Mol Sci. 2020;21:E6746.)。



WT : Wild type group、DN : p38 dominant negative group、CA : MKK6 constitutive active group の 3 群における BLM 投与後の肺病理組織像および各群における病態生理学的、病理学的指標



WT : Wild type group、DN : p38 dominant negative group、CA : MKK6 constitutive active group の 3 群トランスクリプトーム解析の PCA 解析および heat map
PCA 解析で BLM 処理群マウスは PBS control 群と比較して異なるクラスターを形成することがわかる、また p38 の dominant negative (DN) と MKK6 constitutive active (CA) 群で異なるクラスター形成をしていることがわかる。



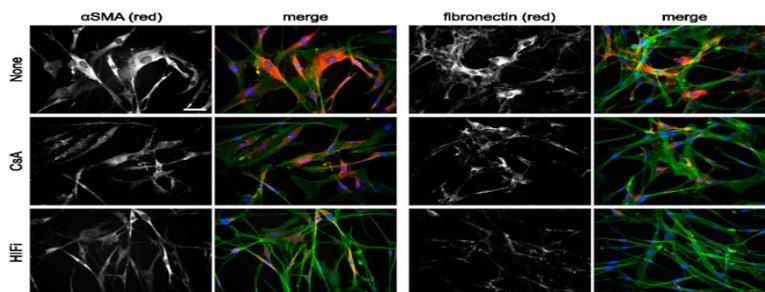
マウス BLM 肺線維症とヒト IPF 肺で p38 に関係して動いている遺伝子 (RNA) p38 dominant negative group で発現低下、MKK6 constitutive active group で発現亢進パターンがマウスとヒトで共通して動いている遺伝子を探った。4 つの遺伝子 (*EPHA3*、*POU2AF1*、*EDA2R*、*SAMSN1*)

線維化の抑制でなく、筋線維芽細胞の脱分化という新しい治療戦略
肺移植検体を使用した筋線維芽細胞脱分化に関する研究

肺の線維化として TGF- β 経路の関与が広く知られている。最大限の内科治療が及ばず肺移植に至った患者肺は、線維化の終末像を呈していると想定される。肺移植に至った患者肺検体から線維芽細胞/筋線維芽細胞を分離/培養、in vitro の系においてサイクロスポリン A および HIF-1 inhibitor は α SMA および fibronectin の発現を抑制した。

この発現抑制が TGF- β 系が活性化しているマウス BLM 肺線維症でも効果があるのかどうか検討した。その結果、BLM 肺線維症モデルでも同様な抑制効果を認めた。TGF- β 1 は線維芽細胞→筋線維芽細胞の分化を促進する。ヒト線維化肺でもマウス BLM モデルでも、シクロスポリン A (CsA) は HIF-1 の抑制経路を介して筋線維芽細胞への分化を抑制しうることを認めた (引用論文 6. FASEB J 2017;31:3359-3371)。

シクロスポリンAおよびHIF-1 inhibitorは
 α SMA, fibronectinの発現を抑制

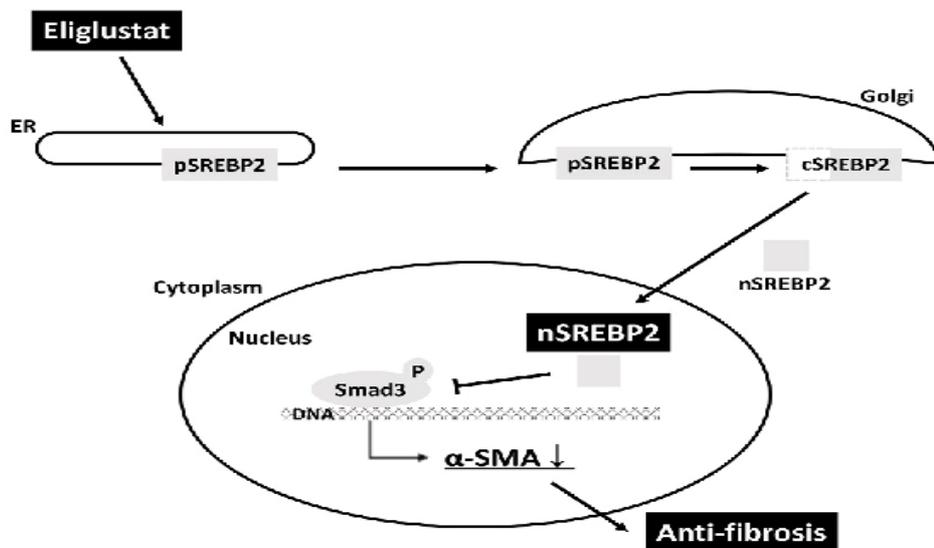


肺線維症患者からの筋線維芽細胞様細胞の初代培養

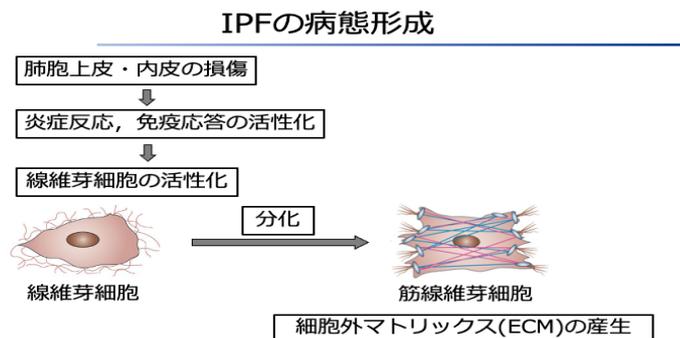
肺傷害を抑制しうることが示された。この作用は BLM 肺線維症マウスモデルにおけるピルフェニドン、ニンテダニブの作用と同様であり、ミグルスタットは特発性肺線維症の治療薬として有用であることが示唆された (Biomed Pharmacother. 2023;160:114405)。

IPF の病態形成において筋線維芽細胞は ECM を産生し組織再生に関与している一方、過剰な ECM 産生は肺線維化の要因となっている。TGF- β /Smad 系シグナルは筋線維芽細胞による ECM 産生の中心的役割を果たしていると考えられており、その経路の抑制は IPF 治療の有用な治療戦略になりうる。ニーマン・ピック病 C 型の治療に用いられているミグルスタットは、スフィンゴ糖脂質の生合成経路の最初の段階を触媒するグルコシルセラミド合成酵素 (glucosylceramide synthase; GCS) を阻害し、二次的にガングリオシドの生合成を抑制する。上記に記載したように 2023 年にミグルスタットは核転座因子 Smad2/3 を抑制することにより、肺の線維化を促進することを報告している。

ゴーシェ病 1 型の治療に用いられている別の GCS 阻害薬エリグルスタットが、肺移植を受けた IPF 患者から抽出したヒト由来筋線維芽細胞を用いて、抗線維化作用を有するかどうかを検討した。エリグルスタットは GCS 抑制作用とは関係なく抗線維化作用を発揮することを認めた。エリグルスタットは、Smad2/3 のリン酸化および核転座を抑制することなく、線維化マーカーである TGF- β 1 により誘導される α -SMA の発現を抑制した。エリグルスタット処理したヒト肺線維芽細胞の RNA sequencing 解析により、sterol regulatory element-binding protein 2 (SREBP2) の活性化を認めた。SREBP2 の一過性発現亢進は、ヒト肺線維芽細胞における TGF- β 1 により誘導される Smad 標的遺伝子の発現増加を抑制した。また肺線維芽細胞における SREBP2 の knockdown は、TGF- β 1 により誘導される α -SMA の発現抑制機序を有するエリグルスタットの抑制効果を無効にした。エリグルスタットは SREBP2 活性を介して抗線維化作用を発揮しうることが示唆され、新規の IPF 治療戦略の開発に寄与することが期待された。



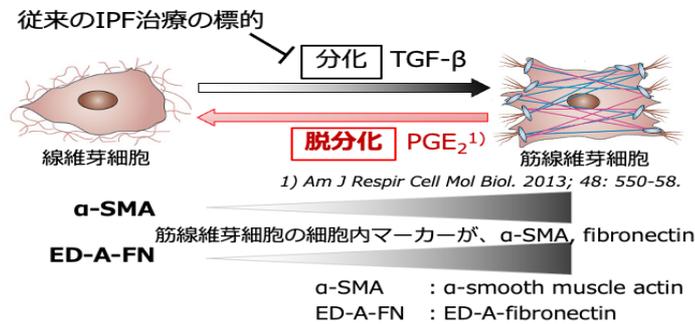
筋線維芽細胞脱分化に関する研究の背景



筋線維芽細胞の過剰な増殖によって、進行性の線維化が起こる。

肺線維症は肺胞上皮ないしは血管内皮細胞障害から始まると想定されるが、炎症反応、免疫細胞の活性化を介して、線維芽細胞の活性化（分化）が生じ、筋線維芽細胞への形質転換が生じる、筋線維芽細胞は細胞外マトリクス産生に強く関与する

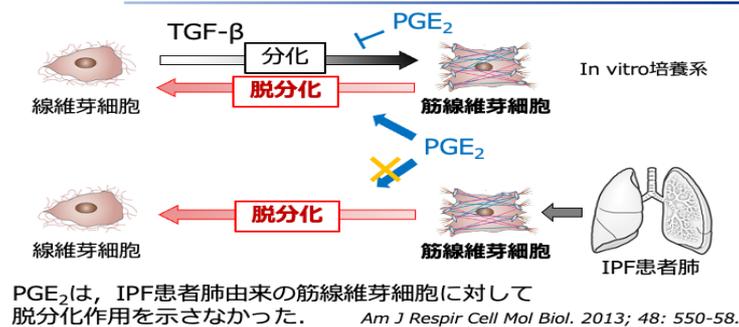
筋線維芽細胞の脱分化



IPF患者の診断時には、肺内に過剰な筋線維芽細胞が存在する。
Am J Respir Crit Care Med. 2001; 164: 1025-1032.

肺線維症患者肺には過剰な筋線維芽細胞が存在する、現時点での抗線維化薬の標的は線維芽細胞の活性化抑制である。In vitroでの筋線維芽細胞への分化は細胞へのTGF-β添加で起こる。筋線維芽細胞は形質転換して、α-SMAおよびfibronectinを発現する。

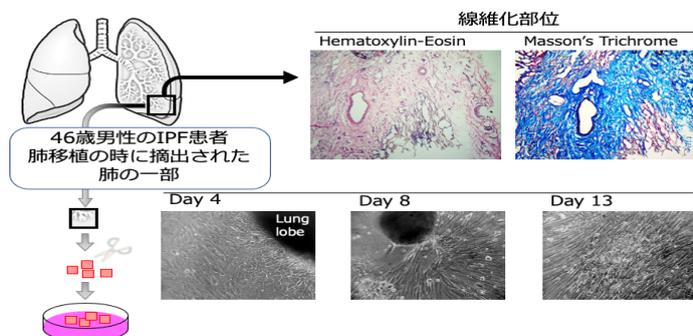
筋線維芽細胞



TGF-β刺激によって得られた筋線維芽細胞は、IPF患者肺の病的な筋線維芽細胞と必ずしも一致しない。

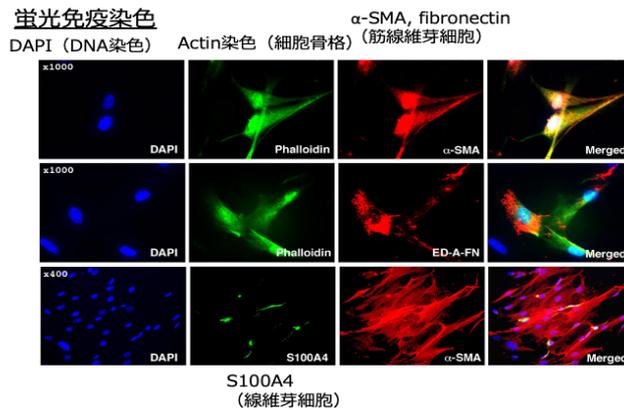
In vitroで筋線維芽細胞への分化はPGE2が抑制しうる、さらにPGE2は筋線維芽細胞から線維芽細胞への脱分化にも関与しうることで期待されていた。しかし、ヒト肺から分離した筋線維芽細胞の脱分化は起こさず、in vitro培養系との相違が示されていた。

IPF患者の摘出肺から筋線維芽細胞を分離・培養した



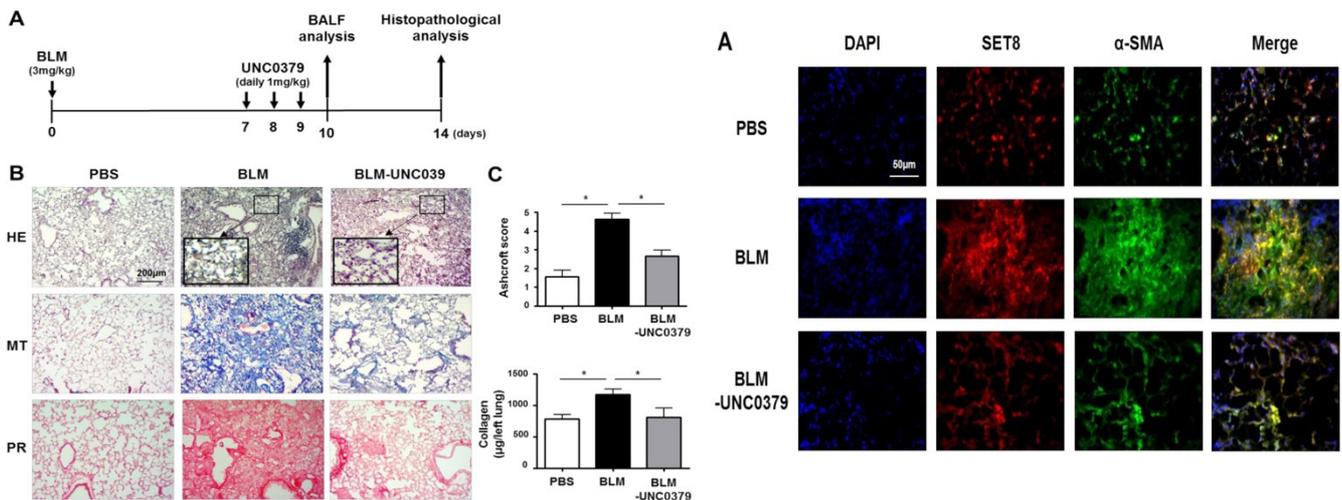
肺移植認定施設である千葉大学においてIPF患者肺から筋線維芽細胞を分離・培養した。

IPF患者肺から分離・培養した筋線維芽細胞



IPF 患者肺から分離／培養した筋線維芽細胞においてα-SMA および fibronectin の発現を確認した。

細胞外基質 (ECM) 産生の主細胞である筋線維芽細胞の活性化は肺の線維化に重要である。線維芽細胞の活性型である筋線維芽細胞の脱分化 (線維芽細胞への転換) は特発性肺線維症 (IPF) の新しい治療戦略である。IPF 患者から分離した筋線維芽細胞を脱分化しうる物質を、エピジェネティック関連ライブラリーから選び、UNC0379 をその候補として選び出した。UNC0379 は、SET8 (a histone H4 lysine 20 (H4K20) monomethyltransferase) の抑制効果を示した。BLM 肺線維症では SET8 は α-SMA 陽性細胞に存在していた。SET8 の抑制は筋線維芽細胞の脱分化をもたらし、炎症過程に関与せずに肺線維症を抑制しうることを示された (Front Mol Biosci. 2020;7:192.)。



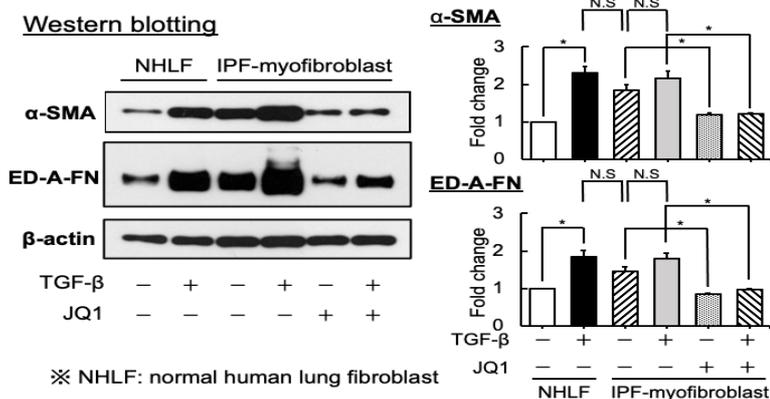
マウス BLM 肺線維症モデルに対する Bromodomain 阻害薬 UNC0379 の投与は肺線維化を抑制した、また筋線維芽細胞に発現した SET8 は UNC0379 投与により減弱していた

間質性肺炎の線維化において、コラーゲンを含む細胞外マトリクス (ECM) の蓄積といった線維化の中心的な役割を担うのが、線維芽細胞からの分化や上皮細胞からの形質転換によって生ずる筋線維芽細胞 (Myofibroblast; MyoF) である。近年 MyoF が脱分化しうるということが報告され、IPF 治療の新しい治療ターゲットとして期待される。しかし脱分化の分子機序については依然として不明である。本研究では MyoF の脱分化を誘導する因子の探索とその脱分化誘導機構の一部を解明した。移植手術の対象となった IPF 患者肺より MyoF-like cells/MyoLC (S100A4-, α-SMA^{high}, ED-A-fibronectin+) を調製し、これをアッセイ系として chemical compound library を供して、α-SMA と ED-A-fibronectin の発現低下を脱分化の指標とした。

選定した脱分化誘導化合物による遺伝子の変動を、RNA-seq/transcriptome 解析によって検討した。MyoLC の脱分化を強力に誘導する化合物の 1 つとして、Bromodomain 阻害薬である JQ-1 を同定した。JQ-1 は Bleomycin による肺線維症モデルマウスにおいて肺の線維化に対して抑制的に作用することが既に報告されている。しかし JQ-1 による MyoF の脱分化誘導効果は不明であり、その分子機構も判明していな

いため、MyoLC に JQ-1 を適用し RNA-seq/Transcriptome 解析を行った。JQ-1 で下方制御される発現遺伝子群の Reactome pathway 解析の結果、top10 リストの 8 項目が collagen、elastic fiber などの ECM 構築に関わる遺伝子群であることが判明した。JQ-1 は筋線維芽細胞の強力な脱分化誘導因子として、ECM 形成能の低下作用を示すことが明らかとなった。使用したアッセイ系が IPF 治療候補薬の選定に有力なツールになることが示された (Mol Med Rep. 2020;22:1518-1526.)。

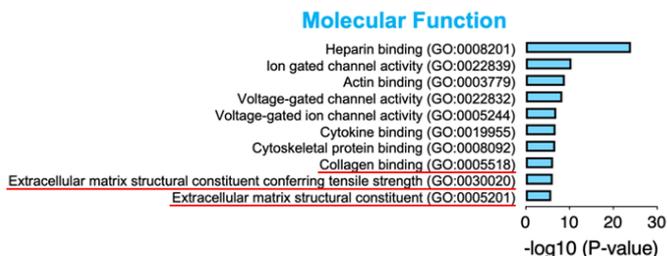
BRD4阻害薬JQ1は、 IPF患者肺由来の筋線維芽細胞の脱分化を誘導



Bromodomain 阻害薬である JQ-1 を肺線維症患者肺由来の筋線維芽細胞に投与、SMA と ED-A-fibronectin の発現低下を認め脱分化が誘導されていることが示された。

JQ1によって発現が低下した遺伝子

遺伝子オントロジー(GO)解析のtop10リスト

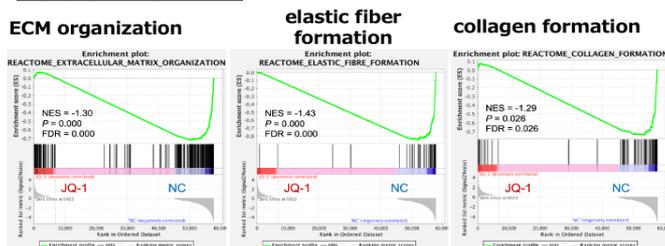


JQ1によって発現が低下した遺伝子には、ECMに関する遺伝子が多く含まれていた。

IPF 患者肺より確立した MyoF-like cells/MyoLC 系細胞に JQ1 を投与して RNA-seq/transcriptome 解析を施行した。Gene ontology 解析の molecular function に関して、JQ-1 投与により発現が低下した遺伝子群として ECM に関する遺伝子群の発現低下が示された。

JQ1による発現変動遺伝子

Reactome pathwayを用いた エンリッチメント解析



Reactome pathway :
elastic fiber formation、
ていた。

JQ1によって、線維化に関するpathway遺伝子群が
下方制御された。

り ECM organization、
遺伝子群が下方に制御され

肺線維症に対する細胞治療は可能か？

LMDEC (II 型肺胞上皮、BASC、骨髄由来細胞を含む細胞群) を使用した細胞治療

肺の線維化に対する治療としてこれまで多くの試みがなされてきたが、残念ながら臨床応用までたどり着いた薬剤は抗線維化薬の二剤のみである。肺の線維化には複数の細胞内経路が関与しており、さらに炎症過程と線維化過程・修復過程が混在しているため、単一分子(サイトカイン、ケモカイン)を標的としても困難であることが予想される。そこで細胞治療という考え方が登場する。

マウス肺組織では、多くの幹細胞/前駆細胞集団が存在することが知られている(Mol Ther 2012;20:1116)。クララ細胞分泌蛋白(Clara cell secretory protein: CCSP/CC10)およびサーファクタント蛋白C(SP-C)を同時に発現する気道肺胞幹細胞(bronchioalveolar stem cells: BASCs)は、傷害を受けた後の修復過程として、気道および肺胞上皮細胞に分化しうる能力を有していることが知られている。肺胞II型上皮細胞(alveolar epithelial cell: AEC II)はSP-Cを発現し、肺胞I型上皮細胞(AEC I)への前駆細胞として知られており、ブレオマイシン(BLM)肺線維症モデルにおいて再生能力を有している。しかし、AEC IIのみの分離効率が悪く、in vitroにおいて前駆細胞能力は維持しうるが細胞増殖が困難であることが知られている。すなわち、既存の幹/前駆細胞の調整は煩雑かつ必ずしも効率的でない。そこで肺傷害に対して治療効果を有する肺由来細胞の簡便かつ高回収率な調整法を確立し、収集し得た細胞の特性を解析した。

3-4週令のC57BL/6Jマウスを脱血後、肺を酵素処理により消化し細胞懸濁液を播種・培養(mixed culture)、spheroid様細胞塊を含む易浮遊性細胞(mixed culture-derived epithelial cells: LMDEC)を回収した。そしてLMDECの特性をFACSや免疫染色等を用いて解析すると共に、BLM傷害肺に対してLMDECを気管内投与しその効果を検討した。LMDECは安定して回収され、多くは免疫染色にてSP-Cを発現しており、さらにAEC Iへの分化能をin vitro、in vivoで示した。LMDECの84%は、SP-C陽性であると共にCD44+CD45+(CD45は成熟血球細胞マーカー)の特性を示す細胞群であり、既存の報告にない新たな細胞集団であると考えられた。ただしLMDECの一部(2.4%)は既報の幹細胞であるBASCsに一致する表面抗原発現パターンを示すなど、heterogeneousな細胞集団であることが判明した。

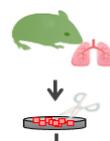
BLM傷害肺に対して投与されたLMDECは線維化抑制効果を有することが組織解析にて確認された、すなわちLMDECは細胞治療効果を発揮した。BLM負荷急性炎症期には通常AEC IIの細胞死が増加するが、LMDECは逆に、その数を増加させた。LMDECには、ケモカインの一つであるCXCL12の受容体であるCXCR4が高頻度に発現しており、CXCL12に応答して、細胞移動能を上昇すること、さらには、CXCL12刺激に応答して、LMDECのAEC Iへの分化能が上昇することが確認された。BLM傷害肺では、CXCL12の発現が上昇し、間様系幹細胞から派生したprofibrocyteをリクルートすることが確認されている。CXCL12機構を介して、LMDEC細胞群の一部はprofibrocyteに代わり障害部へ移動し、そこで分化することで肺の線維化を抑えるものと考えられる。

肺固有前駆細胞と認識されているAEC IIにはCD44が発現している。このCD44にて選別したLMDECは選別しないLMDECと同等の効果を示す一方、幹細胞マーカーの一つとされるSca1にて選別したLMDECは、傷害を軽減したものの肺への好中球浸潤を増悪させるなど、亜集団ごとに異なる効果を示した。

本研究から、肺傷害軽減効果を有する肺胞上皮前駆細胞の、簡便かつ効率的な初代培養増幅が可能となり、今後の治療選択肢として発展性を有すると思われた。またその主たる亜集団は既報にない細胞集団であり、新たな傷害肺修復機構の解明に有用である可能性が示唆された(引用論文9. Lab Invest 2014;94:1247)。

Lung Mixed culture-Derived Epithelial Cells (LMDEC)

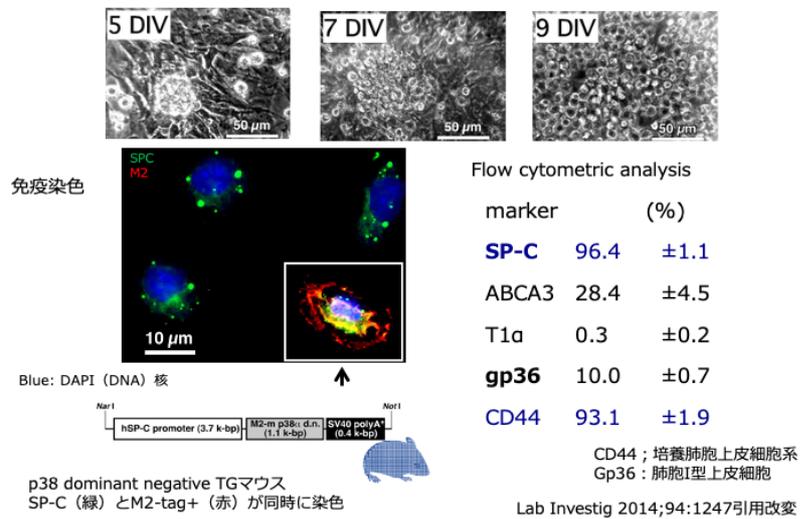
3-4週令のC57BL/6Jマウスを脱血後、肺を酵素処理により消化し細胞懸濁液を播種・培養(mixed culture)、spheroid様細胞塊を含む易浮遊性細胞(mixed culture-derived epithelial cells: LMDEC)を回収



- Plating in a culture dish
---incubation in CO₂ incubator for 2days---

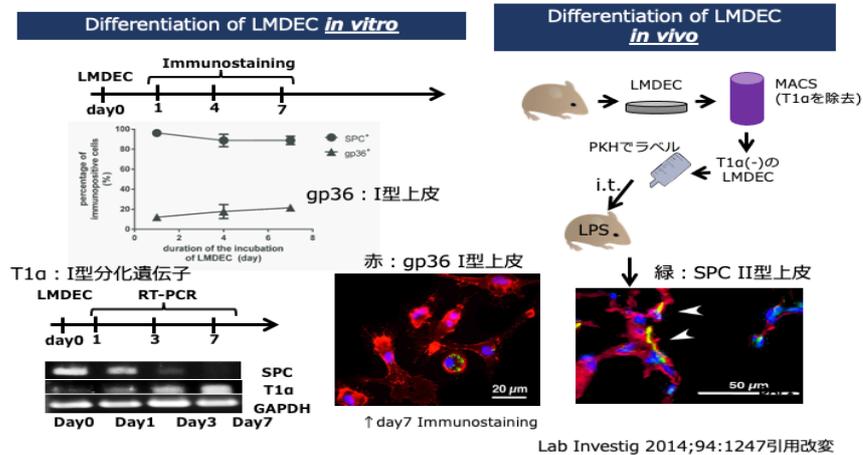
健常マウスから易浮遊性細胞 (mixed culture-derived epithelial cells : LMDEC) の回収

Lung Mixed culture-Derived Epithelial Cellsの培養



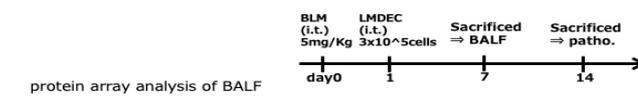
LMDEC の培養で培養期間により形態変化が生じている、Day 9 でのフローサイトメトリーにて SP-C 陽性の II 型肺胞上皮、gp36 陽性の I 型肺胞上皮、CD44 陽性の肺胞上皮系が主であることが示された。

LMDECはin vitroでもin vivoでもprogenitor cellとしてII型からI型肺胞上皮へ分化した



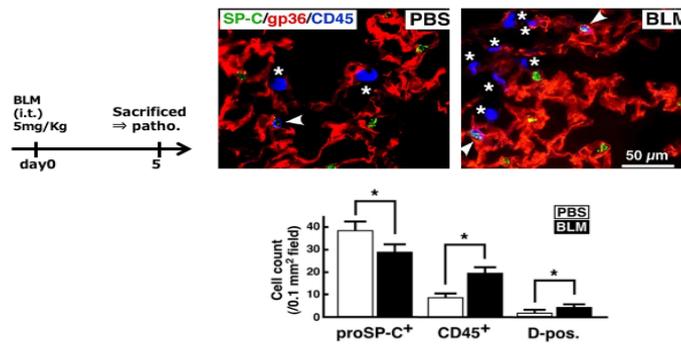
LMDEC の II 型肺胞上皮細胞は in vitro でも in vivo でも I 型肺胞上皮細胞に分化、progenitor cell としての性格を有することが示された。

LMDEC の投与はBLM肺線維症を抑制



BLM 肺線維症モデルに対する LMDEC の投与は SDF-1/CXCR4 系を介して線維化を抑制した

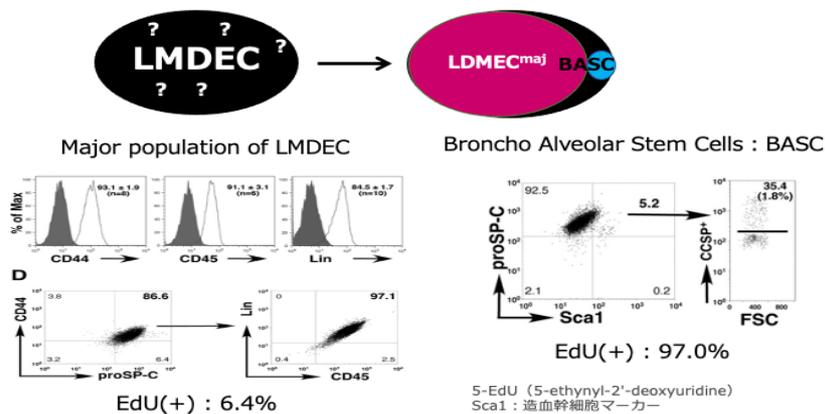
BLM肺障害に対してLMDECの投与により、SP-C、CD45 Double positive細胞群の増加 → 肺障害の修復に関与



Lab Investig 2014;94:1247引用改変

BLM 肺線維症モデルにおいて、SP-C 陽性の II 型肺胞上皮細胞は傷害を受けるが、CD45 陽性の骨髄系細胞、SP-C および CD45 double positive に形質転換したと推測される細胞が増加、これら CD45 陽性細胞群が肺障害の修復に寄与したと推定された。

LMDECは肺胞II型上皮細胞の特徴を有するが、さらに BASCも一部混入、CD45陽性の血球系マーカー陽性も含む



LMDEC は SP-C 陽性の骨髄由来血球

EdU(+) : 6.4%

5-EdU (5-ethynyl-2'-deoxyuridine)
Sca1 : 造血幹細胞マーカー

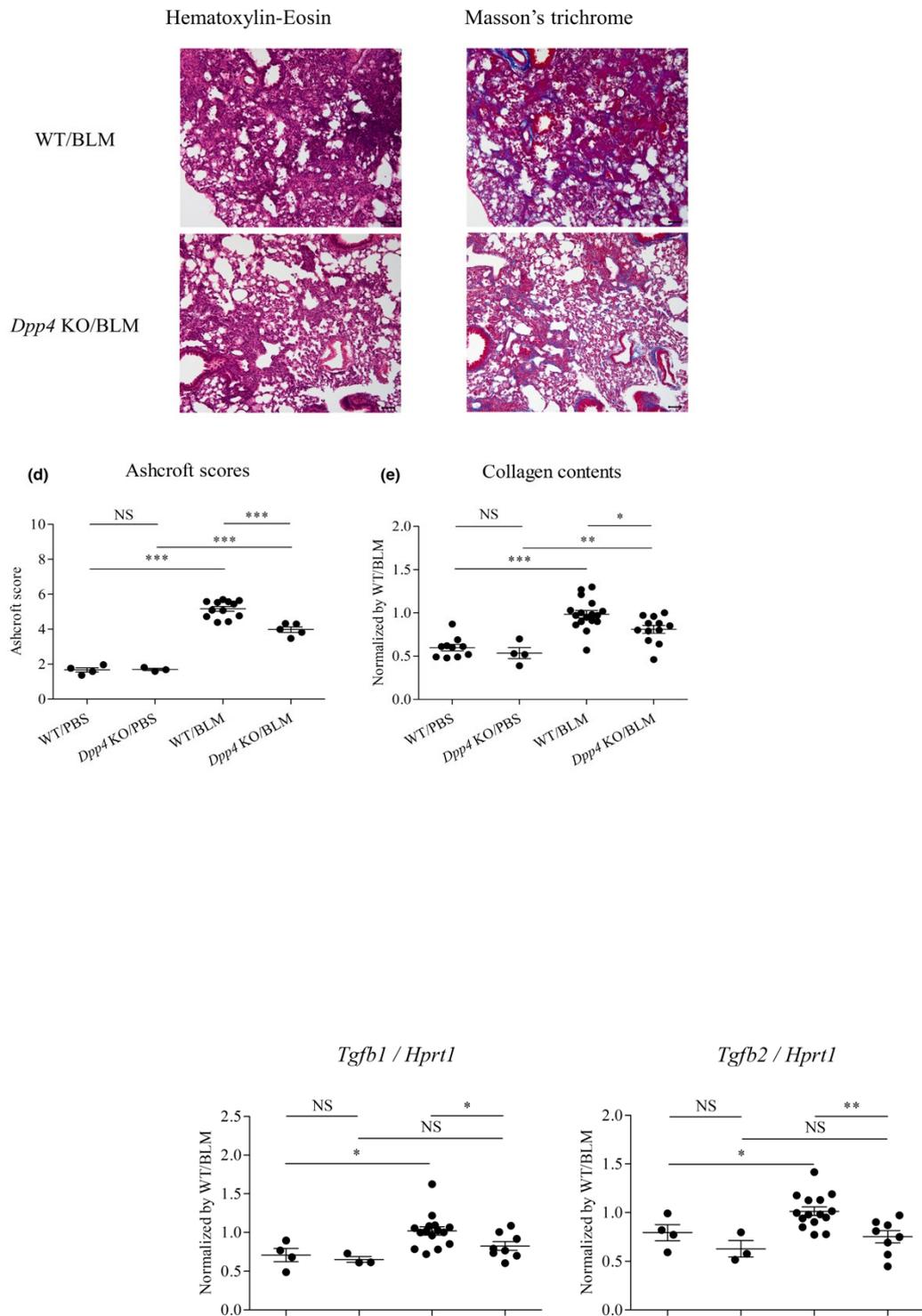
CD45 陽性、Lin 陽性 broncho alveolar

Lab Investig 2014;94:1247引用改変

stem cells (BASC) が混在しており、肺修復能力を有していると考えられた。

肺線維症成立過程における CD26/DPP4 の役割

CD26/dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) は、酵素活性を有する膜型/可溶性タンパクであり、全身の臓器に広く分布し多面的作用を有する。CD26/DPP4 阻害薬は 2 型糖尿病の治療薬であるが、抗腫瘍効果、抗炎症作用に加え、肺線維化抑制作用を有している。CD26/DPP4 が肺線維芽細胞の活性化に関与しているかどうかをヒト肺線維芽細胞 (Human lung fibroblast: HLF) を用いて検討した。Dpp4 KO マウスの肺は、組織学的に肺線維化が軽度であり、肺組織におけるコラーゲン量も少なかった。また、Vimentin⁺CD45⁻CD31⁻CD326⁻肺線維芽細胞数および SMA⁺CD45⁻CD31⁻CD326⁻で標識される筋線維芽細胞数は少なかった。BLM 投与後の肺における Tgfb1 および Tgfb2 mRNA レベルの上昇は、Dpp4 KO マウスでは WT マウスに比べ少なかった。BLM 投与後の Dpp4 KO マウス肺における Tgfb1 および Tgfb2 mRNA レベルの上昇は抑制されていた。DPP4 small interfering RNA (siRNA) 処理した培養 HLF の増殖能は抑制され、コラーゲン沈着関連遺伝子である COL1A1 の mRNA レベルも抑制された。Dpp4 KO マウス肺では、線維芽細胞数、筋線維芽細胞数の減少傾向を認めていることから、線維芽細胞の活性化においては CD26/DPP4 は促進的関与をしており、細胞内シグナルとして TGF- β 発現の調節にも関係していると考えられた (Physiol Rep 2023;11(6):e15645)。



【びまん性肺疾患 原著論文】

1. Tatsumi K, Kimura H, Kunitomo F, Kuriyama T, Honda Y. Arterial oxygen desaturation during sleep in interstitial pulmonary disease. Correlation with chemical control of breathing during wakefulness. *Chest* 1989;95:962-967.
2. Kurosu K, Yumoto N, Rom WN, Takiguchi Y, Jaishree J, Nakata K, Tatsumi K, Mikata A, Kuriyama T, Weiden MD. Oligoclonal T cell expansions in pulmonary lymphoproliferative disorders. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:254-259.
3. Chiyo M, Sekine Y, Iwata T, Tatsumi K, Yasufuku K, Iyoda A, Otsuji M, Yoshida S, Shibuya K, Iizasa T, Saitoh Y, Fujisawa T. Impact of interstitial lung disease on surgical morbidity and mortality for lung cancer: Analyses of short and long-term outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:1141-1146.
4. Kurosu K, Weiden MD, Takiguchi Y, Rom WN, Yumoto N, Jaishree J, Nakata K, Kasahara Y, Tanabe N, Tatsumi K, Mikata A, Kuriyama T. BCL-6 mutations in pulmonary lymphoproliferative disorders: Demonstration of an aberrant immunological reaction in HIV-related lymphoid interstitial pneumonia. *J Immunol* 2004;172:7116-7122.
5. Yamada Y, Tatsumi K, Kono C, Yamaguchi T, Amano H, Kawabata Y, Kuriyama T. Clinical features of respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease. *J Bronchology* 2004;11:160-168.
6. Kurosu K, Takiguchi Y, Okada O, Yumoto N, Sakao S, Tada Y, Kasahara Y, Tanabe N, Tatsumi K, Weiden M, Rom WN, Kuriyama T. Identification of annexin 1 as a novel autoantigen in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *J Immunol* 2008;181:756-67.
7. Taniguchi H, Ebina M, Kondoh Y, Ogura T, Azuma A, Suga M, Taguchi Y, Takahashi H, Nakata K, Sato A, Takeuchi M, Raghu G, Kudoh S, Nukiwa T, Pirfenidone Clinical Study Group in Japan (Miyazawa Y and Tatsumi K in Chiba Univ.). Pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2010;35:821-829.
8. Yamauchi K, Kasuya Y, Kuroda F, Tanaka K, Tsuyusaki J, Ishizaki S, Matsunaga H, Iwamura C, Nakayama T, Tatsumi K. Attenuation of lung inflammation and fibrosis in CD69-deficient mice after intratracheal bleomycin. *Respir Res* 2011;12:131-140.
9. Tsuyusaki J, Kuroda F, Kasuya Y, Ishizaki S, Yamauchi K, Sugimoto H, Kono T, Iwamura C, Nakayama T, Tatsumi K. Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation is attenuated in CD69-deficient mice. *J Recept Signal Transduct Res* 2011;31:434-439.
10. Kono C, Yamaguchi T, Yamada Y, Uchiyama H, Kono M, Takeuchi M, Sugiyama Y, Azuma A, Kudo S, Sakurai T, Tatsumi K. Historical changes in epidemiology of diffuse panbronchiolitis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2012;29:16-25.
11. Kawabata Y, Takemura T, Hebisawa A, Sugita Y, Ogura T, Nagai S, Sakai F, Kanauchi T, Colby TV, Desquamative Interstitial Pneumonia Study Group (Tatsumi K, et al). Desquamative interstitial pneumonia may progress to lung fibrosis as characterized radiologically. *Respirology* 2012;17:1214-1221.
12. Yamada Y, Terada J, Tatsumi K, Kono C, Tanno M, Takemura T, Yamaguchi Y. Respiratory bronchiolitis and lung carcinoma. *Respir Investig* 2013;51:184-190.

13. Isshiki T, Yamaguchi T, Yamada Y, Maenuma K, Makita K, Takeshima H, Hirasawa Y, Yamaguchi Y, Hosoki K, Suzuki M, Kono C, Terada J, Tatsumi K. Usefulness of low-dose methotrexate monotherapy for treating sarcoidosis. *Intern Med* 2013;52:2727-2732.
14. Tanaka K, Fujita T, Umezawa H, Namiki K, Yoshioka K, Hagihara M, Sudo T, Kimura S, Tatsumi K, Kasuya Y. Therapeutic effect of lung mixed culture-derived epithelial cells on lung fibrosis. *Lab Invest* 2014;94:1247-59.
15. Kobayashi T, Tanaka K, Fujita T, Umezawa H, Amano H, Yoshioka K, Naito Y, Hatano M, Kimura S, Tatsumi K, Kasuya Y. Bidirectional role of IL-6 signal in pathogenesis of lung fibrosis. *Respir Res* 2015;16:99.
16. Amata A, Chonan T, Omae K, Nodera H, Terada J, Tatsumi K. High levels of indium exposure relate to progressive emphysematous changes: a 9-year longitudinal surveillance of indium workers. *Thorax* 2015;70:1040-1046.
17. Yamagata M, Ikeda K, Tsushima K, Iesato K, Abe M, Ito T, Kashiwakura D, Kagami S, Iwamoto I, Nakagomi D, Sugiyama T, Maruyama Y, Furuta S, Jayne D, Uno T, Tatsumi K, Nakajima H. Prevalence and responsiveness to treatment of lung abnormalities on chest computed tomography in patients with microscopic polyangiitis: A multicenter, longitudinal, retrospective study of one hundred fifty consecutive hospital-based Japanese patients. *Arthritis Rheumatol* 2016;68:713-723.
18. Ichimura Y, Tsushima K, Matsumura T, Yamagishi K, Abe M, Ikari J, Terada J, Tatsumi K. Predictive factors for the effect of pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2017;34;290-299.
19. Yamazaki R, Kasuya Y, Fujita T, Umezawa H, Yanagihara M, Nakamura H, Yoshino I, Tatsumi K, Murayama T. Antifibrotic effects of cyclosporine A on TGF- β 1-treated lung fibroblasts and lungs from bleomycin-treated mice: role of hypoxia-inducible factor-1 α . *FASEB J* 2017;31:3359-3371.
20. Nakajima M, Yamamoto N, Hayashi K, Karube M, Ebner D K, Takahashi W, Anzai M, Tsushima K, Tada Y, Tatsumi K, Miyamoto T, Tsuji H, Fujisawa T, Kamada T. Carbon-ion radiotherapy for non-small cell lung cancer with interstitial lung disease: a retrospective analysis. *Radiat Oncol* 2017;12:144.
21. Abe M, Tsushima K, Sakayori M, Suzuki K, Ikari J, Terada J, Tatsumi K. Utility of nintedanib for severe idiopathic pulmonary fibrosis: a single-center retrospective study. *Drug Des Devel Ther* 2018;12:3369-3375.
22. Matsumura T, Tsushima K, Abe M, Suzuki K, Yamagishi K, Matsumura A, Ichimura Y, Ikari J, Terada J, Tatsumi K. The effects of pirfenidone in patients with an acute exacerbation of interstitial pneumonia. *Clin Respir J* 2018;12:1550-1558.
23. Abe M, Tsushima K, Tatsumi K. Utility of nintedanib for severe idiopathic pulmonary fibrosis: a single-center retrospective study [Response to letter]. *Drug Des Devel Ther* 2019;13:1687-1688.
24. Sakayori M, Terada J, Abe M, Hirasawa Y, Suzuki K, Yoshioka K, Tsushima K, Tatsumi K. Differences in tolerability of pirfenidone between elderly and younger patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Drug Des Devel Ther* 2019;13:2295-2303.
25. Tanaka N, Ikari J, Anazawa R, Suzuki M, Katsumata Y, Shimada A, Suzuki E, Matsuura Y, Kawata N, Tada Y, Tatsumi K. S100A12 inhibits fibroblast migration via the receptor for advanced glycation end products and p38 MAPK signaling. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2019;55:656-664.
26. Abe M, Tsushima K, Yoshioka K, Sakayori M, Suzuki K, Hirasawa Y, Kawasaki T, Ikari J, Terada J, Tatsumi K. The Gender-Age-Physiology system as a prognostic model in patients with idiopathic pulmonary fibrosis treated with nintedanib: a longitudinal cohort study. *Adv Respir Med.* 2020;88:369-376.
27. Hirasawa Y, Abe M, Terada J, Sakayori M, Suzuki K, Yoshioka K, Kawasaki T, Tsushima K, Tatsumi K. Tolerability of nintedanib-related diarrhea in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther.* 2020;62:101917.

28. Ugai K, Matsuda S, Mikami H, Shimada A, Misawa T, Nakamura H, Tatsumi K, Hatano M, Murayama T, Kasuya Y. Inhibition of the SET8 pathway ameliorates lung fibrosis even through fibroblast dedifferentiation. *Front Mol Biosci.* 2020;7:192.
29. Suzuki K, Kim JD, Ugai K, Matsuda S, Mikami H, Yoshioka K, Ikari J, Hatano M, Fukamizu A, Tatsumi K, Kasuya Y. Transcriptomic changes involved in the dedifferentiation of myofibroblasts derived from the lung of a patient with idiopathic pulmonary fibrosis. *Mol Med Rep.* 2020;22:1518-1526.
30. Suzuki M, Ikari J, Anazawa R, Tanaka N, Katsumata Y, Shimada A, Suzuki E, Tatsumi K. PAD4 deficiency improves bleomycin-induced neutrophil extracellular traps and fibrosis in mouse lung. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2020;63:806-818.
31. Matsuda S, Kim JD, Sugiyama F, Matsuo Y, Ishida J, Murata K, Nakamura K, Namiki K, Sudo T, Kuwaki T, Hatano M, Tatsumi K, Fukamizu A, Kasuya Y. Transcriptomic evaluation of pulmonary fibrosis-related genes: Utilization of transgenic mice with modifying p38 signal in the lungs. *Int J Mol Sci.* 2020;21:E6746.
32. Abe M, Tsushima K, Ishii D, Shikano K, Yoshioka K, Sakayori M, Suzuki M, Hirasawa Y, Ishiwata T, Kawasaki T, Ikari J, Terada J, Tatsumi K. Risk factors for acute exacerbation following bronchoalveolar lavage in patients with suspected idiopathic pulmonary fibrosis: A retrospective cohort study. *Adv Respir Med.* 2021;89:101-109.
33. Nakamura H, Zhou Y, Sakamoto Y, Yamazaki A, Kurumiya E, Yamazaki R, Hayashi K, Kasuya Y, Watanabe K, Kasahara J, Takabatake M, Tatsumi K, Yoshino I, Honda T, Toshihiko Murayama T. N-butyldeoxynojirimycin (miglustat) ameliorates pulmonary fibrosis through inhibition of nuclear translocation of Smad2/3. *Biomed Pharmacother.* 2023;160:114405.
34. Kurumiya E, Iwata M, Kasuya Y, Tatsumi K, Honda T, Murayama T, Nakamura H. Eliglustat exerts anti-fibrotic effects by activating SREBP2 in TGF- β 1-treated myofibroblasts derived from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur J Pharmacol.* 2024 Mar 5;966:176366.
35. Koyanagi Y, Kawasaki T, Kasuya Y, Hatano R, Takahashi Y, Sato S, Ohnuma K, Morimoto C, Tatsumi K, Suzuki T. CD26/DPP4 and fibroblast activation in mouse bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Physiol Rep.* 2023;11(6):e15645.
36. Ishii D, Kawasaki T, Sato H, Tatsumi K, Imamoto T, Yoshioka K, Abe M, Hasegawa Y, Ohara O, Suzuki T. Effects of anti-fibrotic drugs on transcriptome of peripheral blood mononuclear cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *Int J Mol Sci.* 2024 Mar 28;25(7):3750.

【びまん性肺疾患 症例報告】

1. Suzuki T, Tada Y, Tsushima K, Terada J, Sakurai T, Watanabe A, Kasahara Y, Tanabe N, Tatsumi K. Pneumocystis pneumonia in everolimus therapy: An indistinguishable case from drug induced interstitial lung disease. *Respir Med Case Rep.* 2013;10:27-30.
2. Fujita T, Terada J, Kitagawa M, Tatsumi K. Lipoid pneumonia with partial anomalous pulmonary venous return. *Intern Med.* 2016;55:1399-1400.
3. Ishiwata T, Tanabe N, Shigeta A, Yokota H, Tsushima K, Terada J, Sakao S, Morisaki H, Morisaki T, Tatsumi K. Moyamoya disease and artery tortuosity as rare phenotypes in a patient with an elastin mutation. *Am J Med Genet.* 2016;170:1924-1927.
4. Hata A, Nakajima T, Yoshida S, Kinoshita T, Terada J, Tatsumi K, Matsumiya G, Date H, Yoshino I. Living donor lung transplantation for pleuroparenchymal fibroelastosis. *Ann Thorac Surg.* 2016;101:1970-1972.
5. Sugimoto S, Terada J, Naito A, Nishimura R, Tsushima K, Tatsumi K. Long-term clinical course of idiopathic pulmonary haemosiderosis with rheumatoid arthritis. *Respirol Case Rep* 2016;4:e00174.
6. Kasai H, Terada J, Hoshi H, Urushibara T, Tatsumi K. Repeated diffuse alveolar hemorrhage with hemophilia B. *Intern Med.* 2017;56:425-428

7. Ishiwata T, Ebata T, Iwasawa S, Matsushima J, Ota S, Nakatani Y, Tsushima K, Tada Y, Tatsumi K, Takiguchi Y. Nivolumab-induced acute fibrinous and organizing pneumonia (AFOP) . Intern Med. 2017;56:2311-2315
8. Shimada A, Terada J, Tsushima K, Tateishi Y, Abe R, Oda S, Kobayashi M, Yamane M, Oto T, Tatsumi K. Venovenous extracorporeal membrane oxygenation bridged living-donor lung transplantation for rapid progressive respiratory failure with pleuroparenchymal fibroelastosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Respir Investig. 2018;56:258-262.
9. Katsumata Y, Ikari J, Tanaka N, Abe M, Tsushima K, Yonemori Y, Tatsumi K. Tocilizumab-effective multicentric Castleman's disease with infiltration of eosinophil and IgG4-positive plasma cells: A case report. Respir Med Case Rep. 2018;25:25-29.
10. Tsubosaka A, Matsushima J, Ota M, Suzuki M, Yonemori Y, Ota S, Yoshino I, Tsushima K, Tatsumi K, Nakatani Y. Whole-lung pathology of pleuroparenchymal fibroelastosis (PPFE) in an explanted lung: Significance of elastic fiber-rich, non-specific interstitial pneumonia-like change in chemotherapy-related PPFE. Pathol Int. 2019;69:547-555.

【サルコイドーシス 原著論文】

1. Yamada Y, Uchida Y, Tatsumi K, Yamaguchi T, Kimura H, Kitahara S, Kuriyama T. Fluorine-18-fluorodeoxyglucose and carbon-11-methionine evaluation of lymphadenopathy in sarcoidosis. J Nucl Med 1998;39:1160-1166.
2. Yamada Y, Yamaguchi T, Tatsumi K, Kuriyama T, Mikami R. Influence of stressful life events on the onset of sarcoidosis. Respirology 2003;8:186-191.
3. Nishiwaki T, Yoneyama H, Eishi Y, Matsuo N, Tatsumi K, Kimura H, Kuriyama T, Matsushima K. Indigenous pulmonary Propionibacterium acnes primes the host in the development of sarcoid-like pulmonary granulomatous in mice. Am J Pathol 2004;165:631-639.
4. Suzuki T, Tsushima K, Kawata N, Matsumura T, Matsuura Y, Ichimura Y, Terada J, Sakao S, Tada Y, Tanabe N, Tatsumi K. Estimation using the impulse oscillation system in patients with pulmonary sarcoidosis. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis 2015;32:144-150.
5. Saito H, Yamaguchi T, Adachi Y, Yamashita T, Wakai Y, Saito K, Shinohara Y, Suzuki K, Yagihashi S, Terada J, Tatsumi K. Neurological symptoms of sarcoidosis-induced small fiber neuropathy effectively relieved with high-dose steroid pulse therapy. Intern Med 2015;54:1281-1286.

【サルコイドーシス 症例報告】

1. Takiguchi Y, Matsuno D, Kurosu K, Okada O, Tatsumi K, Ohta S, Ichikawa T, Kuriyama T. Impaired spermatogenesis by testicular sarcoidosis. Respirology. 2008;13:1082-4.
2. Saito H, Yamaguchi T, Adachi Y, Yamashita T, Wakai Y, Saito K, Shinohara Y, Suzuki K, Yagihashi S, Terada J, Tatsumi K. Neurological symptoms of sarcoidosis-induced small fiber neuropathy effectively relieved with high-dose steroid pulse therapy: A case report. Intern Med. 2015;54:1281-6.

(2024.9.24 巽浩一郎)

