

DPBの診断指針改訂と重症度分類策定

中田絢一郎*

I. 「びまん性汎細気管支炎診断の手引き」改訂点について

昭和55年に「びまん性汎細気管支炎診断の手引き」として作成されたDPB診断基準は、わが国におけるDPBの治療と研究に大きな役割を果たしてきた。この間、本間日臣教授の内科学会宿題報告（昭和61年）で修正が加えられ、さらに厚生省研究班で蓄積された研究の成果を取入れて、平成7年に大巾な修正が行われた。その後、平成8年の日中合同調査、平成9年の日韓合同調査を通じて、東アジア諸国のDPB症例を集積し、共同研究を進めていく間に若干の修正が必要となり、今回改訂することになった。主な改訂点は以下の通り。

- ① 病理組織学的に重要な所見である泡沫細胞の集簇を記載した。
- ② 主要臨床所見を診断上の重要度によって必須項目と参考項目とに区別し、診断の判定を確実、ほぼ確実、可能性ありの3段階に分けた。また、鑑別診断上注意を要する疾患のうち、鑑別の容易な気管支喘息と肺気腫を削除し、線毛不動症候群、閉塞性細気管支炎、嚢胞性線維症を新たに追加した。
- ③ 日中合同調査および日韓合同調査の結果から、中国、韓国人症例ではHLA-B54の保有率が低く、韓国人症例でHLA-A11の保有率が高いことが判明したため、HLAに関する記述を修正した。

改訂の要点：(旧)は平成7年改訂の手引き、
(新)は平成10年改訂案

1. 概 念

- (旧)リンパ球、形質細胞など円形細胞浸潤がみられる。
→(新)リンパ球、形質細胞など円形細胞浸潤と泡沫細胞の集簇がみられる。
(旧)HLA-B54との相関
→(新)HLAとの相関

虎の門病院呼吸器科

* びまん性肺疾患分科会 分科会員

2. 主要臨床所見

(旧) (1)～(6)

→(新)

(1) 必須項目

- ① 臨床症状：持続性の咳・痰、および労作時息切れ
- ② 慢性副鼻腔炎の合併ないし既往^{#2}
- ③ 胸部X線またはCT所見：胸部X線；肺野びまん性散在性粒状影^{#3}または胸部CT；両肺野びまん性小葉中心性粒状病変^{#4}

(2) 参考項目

- ① 胸部聴診所見：断続性ラ音^{#5}
- ② 呼吸機能および血液ガス所見：1秒率低下(70%以下)および低酸素血症(80Torr以下)^{#6}
- ③ 血液所見：寒冷凝集素価高値^{#7}

3. 臨床診断

(旧)臨床的には上記主要臨床所見の(1)～(6)を満たすものである。鑑別診断上注意を要する疾患は、慢性気管支炎、気管支拡張症、気管支喘息、慢性肺気腫である。

→(新)

(1) 診断の判定

確 実：上記主要所見のうち必須項目①②③に加え、参考項目の2項目以上を満たすもの

ほぼ確実：必須項目①②③を満たすもの

可能性あり：必須項目のうち①②を満たすもの

(2) 鑑別診断

鑑別診断上注意を要する疾患は、慢性気管支炎、気管支拡張症、線毛不動症候群、閉塞性細気管支炎、嚢胞性線維症などである。

[付記]

#1：HLA

(旧)現時点では、人種的には日本人ないし日系人に高い頻度で出現している。

→(新)日本人症例ではHLA-B54、韓国人症例ではHLA-A11の保有率が高く現時点では、

東アジア地域に集積する人種依存性の高い疾患である。

2 : 慢性副鼻腔炎

(旧) できるだけ X 線写真で確認のこと

→ (新) X 線写真で確認のこと。

3 : CT 所見

(旧) 付記なし。

→ (新) しばしば細気管支の拡張や壁肥厚所見がみられる。

びまん性汎細気管支炎の診断の手引き
厚生省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班班会議

平成 10 年 12 月 12 日改訂

1. 概 念

びまん性汎細気管支炎 (diffusepanbronchiolitis, DPB) とは、両肺びまん性に存在する呼吸細気管支領域の慢性炎症を特徴とし、呼吸機能障害をきたす疾患である。病理組織学的には、呼吸細気管支を中心とした細気管支炎および細気管支周囲炎であり、リンパ球、形質細胞など円形細胞浸潤と泡沫細胞集簇がみられる。しばしばリンパ濾胞形成をとまない、肉芽組織や瘢痕巣により呼吸細気管支の閉塞をきたし、進行すると気管支拡張を生じる。

男女差はほとんどなく、発病年齢は 40~50 歳代をピークとし、若年者から高齢者まで各代届にわたる。慢性の咳、痰、労作時息切れを主症状とし、高率に慢性副鼻腔炎を合併または既往にもち、HLA 抗原との相関などから遺伝性素因の関与が示唆されている。^{#1} 従来、慢性気道感染の進行による呼吸不全のため不良の転帰をとることが多かったが、近年エリスロマイシン療法などによって予後改善がみられている。

2. 主要臨床所見

(1) 必須項目

- ① 臨床症状：持続性の咳・痰，および労作時息切れ
- ② 慢性副鼻腔炎の合併ないし既往^{#2}
- ③ 胸部 X 線または CT 所見：胸部 X 線；両肺野びまん性散在性粒状影^{#3} または胸部 CT；両肺野びまん性小葉中心性粒状病変^{#4}

(2) 参考項目

- ① 胸部聴診所見：断続性ラ音^{#5}
- ② 呼吸機能および血液ガス所見：1 秒率低下 (70% 以下) および低酸素血症 (80 Torr 以下)^{#6}

③ 血液所見：寒冷凝集素価高値^{#7}

3. 臨床診断

(1) 診断の判定

確 実：上記主要所見のうち必須項目①②③に加え、参考項目の 2 項目以上を満たすもの

ほぼ確実：必須項目①②③を満たすもの

可能性あり：必須項目のうち①②を満たすもの

(2) 鑑別診断

鑑別診断上注意を要する疾患は、慢性気管支炎、気管支拡張症、線毛不動症候群、閉塞性細気管支炎、嚢胞性線維症などである。病理組織学的検査は本症の確定診断上有用である。

[付記]

1 : 日本人症例では HLA-B54, 韓国人症例では HLA-A11 の保有率が高く現時点では、東アジア地域に集積する人種依存性の高い疾患である。

2 : X 線写真で確認のこと。

3 : しばしば過膨張所見を伴う。進行すると両下肺に気管支拡張所見がみられ、ときに巣状肺炎を伴う。

4 : しばしば細気管支の拡張や壁肥厚がみられる。

5 : 多くは水泡音 (coarse crackles)。ときに連続性ラ音 (wheezes, rhonchi) ないしスクウオーク (squawk) を伴う。

6 : 進行すると肺活量減少, 残気量 (率) 増加を伴う。肺拡散能力の低下はみられない。

7 : 人赤血球凝集法で 64 倍以上

II. びまん性汎細気管支炎の重症度分類

(1) 重症度分類の考え方

重症度分類の客観的指標として動脈血酸素分圧 PaO₂ を用い、PaO₂ 59 Torr 以下, 60~69 Torr, 70~79 Torr, 80 Torr 以上の 4 段階 (2~5 級) に分類し、さらに PaO₂ が 59 Torr 以下の症例で急性増悪を繰返す、もしくは右心不全を伴う最重症例を 1 級とした。また、咳、痰、労作時息切れなど本症

の主要症状と日常生活における障害の程度を重症度分類の補助指標として級別に併記した。

動脈血酸素分圧による5段階評価は特発性間質性肺炎の特定疾患の医療給付申請時に用いられている重症度分類とも整合性があり、評価方法として適当なものと考えられるが、問題点として、本症は治療、特にマクロライド療法によってその重症度が大きく変化することが挙げられる。例えば初診時に2級であってもマクロライド療法によって4級あるいは5級に改善することも稀ではない。従って治療開始後少なくとも年1回は重症度の再評価が必要である。

(2) DPBの重症度分類

級別	PaO ₂	症 状	日常生活における障害の程度
1 級	PaO ₂ 59 Torr 以下 急性増悪を繰り返す*、 もしくは右心不全症状を 伴う。	咳、痰が頻発し痰量50ml以上。H-J IV～Vの 呼吸困難。急性増悪を繰り返す、もしくは右心 不全症状を伴う。	呼吸器症状により身の 日常生活活動に著しく支 障がある。
2 級	PaO ₂ 59 Torr 以下	咳、痰が頻発し痰量は50ml以上。 H-J IV～Vの呼吸困難。	呼吸器症状により身の 日常生活活動に支障があ る。
3 級	PaO ₂ 60～69 Torr	咳、痰が中等度で痰量は10ml 以上50ml未満。H-J IV～Vの呼吸困難。	呼吸器症状により家庭内 での日常生活に支障があ る。
4 級	PaO ₂ 70～79 Torr	咳、痰は軽度で痰量は10ml以下。 H-J II～IIIの呼吸困難。	呼吸器症状により社会で の日常生活に支障がある。
5 級	PaO ₂ 80 Torr 以上	呼吸器症状なし。	日常生活活動に支障なし。

* 1年間に2回以上

DPB の治療指針策定とエリスロマイシン療法副作用調査

田口 善夫^{1*} 中田紘一郎^{2**} 工藤 翔二^{3***}

DPB にたいするエリスロマイシン (EM) 療法の治療指針を 1996 年に最初に報告したが、今回はアンケート調査の結果を踏まえて新たな治療指針を策定した。主な内容は、EM 療法は DPB にたいする基本療法であること、EM 投与量は 400mg/day ないし 600mg/day あること、最低 6 ヶ月投与して効果判定すること、症状が改善し安定した症例では 24 ヶ月投与して中止してもよいこと、症状持続する症例や気管支拡張などのある進行症例では継続投与すべきであること、またニューマクロライド剤は EM 無効症例では考慮してもよいこと、などである。また DPB にたいするマクロライド療法の副作用調査を 89 施設にたいし行った。回答は 48 施設 (53.9%) から得られ、副作用は 17 施設から報告され消化器症状 13 施設、皮疹 6 施設、肝障害 5 施設、過敏症 1 施設、その他 3 施設であった。いずれの副作用も軽微なもので中止によりいずれも消失しており、本療法は安全な治療と考えられた。また併用薬との副作用についても大きな問題はなく、注意して使用すれば問題ないものと思われる。悪性腫瘍との合併については 7 施設からの報告があり、内訳は ATL 5 例、AML 1 例、肺癌 2 例、胃癌 2 例、転移性肝腫瘍 1 例であったが、EM 療法との関連は明らかではなかった。

New guideline of erythromycin therapy and a report of the results of questionnaire about side effects of erythromycin therapy for diffuse panbronchiolitis.

Yoshio Taguchi¹, Koichiro Nakata², Shoji Kdoh³

1. Department of Respiratory Medicine, Tenri Hospital, Nara
2. Division of Respiratory Diseases, Toranomon Hospital, Tokyo
3. Fourth Department of Internal Medicine, Nihon Medical University, Tokyo, Japan

Although a guideline for the usage of EM for the therapy of DPB was reported first in 1996, we reported renewal of the guideline for more practical usage of EM. Initial and maintaining dosage of EM is between 400mg and 600mg a day. For the judgement of the efficacy of the therapy, at least 6 months are required as an observation period. When symptoms and laboratory data are improved and stable after the EM treatment for 24 months, the therapy can be ceased. However, for the patients with residual symptoms and progressive disease as bronchiectasis, the therapy should be continued. Recently new macrolides were available for the ineffective cases with EM. On the other hand, to confirm the safety of this therapy, questionnaires about side effects and concomitant malignancy of EM therapy were mailed to 89 facilities of the study club about DPB. Forty-eight facilities (53.9%) answered the questions. Side effects were seen in 17 facilities, including GI disturbance (13 facilities), skin eruption (6), hepatic disturbance (5), hypersensitivity (1), and others (3). On the other hand, malignant disease were seen in 7 facilities, including ATL (5 cases), AML (1), lung cancer (2), gastric cancer (2), and metastatic liver tumor (1). Side effects were observed infrequently than expected, maybe because of the low dose of EM in daily use. Although the incidence of the side effects was not so high, side effects of EM when used with other medicine should keep investigated. There were no evidence that EM induces malignant diseases on this study.

はじめに

びまん性汎細気管支炎（以下 DPB）は従来予後不良の致死的な疾患であると認識されていたが、1984 年工藤ら¹⁾により導入されたエリスロマイシン（以下 EM）少量療法の報告がなされた以後、その予後は一変し、現在では治癒することも可能である疾患となった。また 1991 年に厚生省班による二重盲検法の検討²⁾により EM の有効性が確立され、DPB の基本的治療として認識された。

しかしながら本療法では各施設が独自の EM 投与量、投与期間、中止の基準などを設けて行っているのが現状であり、治療指針作成が急がれていた。我々は 1996 年に治療指針の試案を作成³⁾し、翌 1997 年にはアンケート調査を施行して、全国でのマクロライド療法の実体を明らかにした⁴⁾。これらの報告を踏まえ厚生省班としての DPB にたいするマクロライド療法の治療指針を策定した。また EM 長期投与症例についての副作用についてアンケート調査を行い、その安全性について検討したので報告する。

対象と方法

DPB の治療指針の策定については、1996 年度に DPB のマクロライド療法の文献的考察を詳細に行い、試案（表 1）を作成³⁾した。この裏付けのため翌 1997 年度にはマクロライド療法のアンケート調査を行い、全国でのマクロライド療法についての報告⁴⁾を行った。これらの情報を元に、1998 年度には新たなマクロライド療法の治療指針を作成し、これをたたき台として 1998 年度の第一回班会議で詳細な検討を行い、より具体的な治療指針を作成した。

また DPB にたいするエリスロマイシン療法の副作用調査を行い、安全性の確認をするため DPB をめぐる研究会の名簿を参考にして、89 施設に対してエリスロマイシン（EM）についてのアンケート（表 2）による副作用調査を行った。EM の副作用のアンケート内容については、EM 剤の添付書を参考にして作成した。また併用薬との副作用発生状況や、悪性疾患との合併の有無についてもアンケート用紙に付記し、調査を行った。

- 1. 天理よろづ相談所病院呼吸器内科
- 2. 虎の門病院呼吸器科
- 3. 日本医科大学第四内科
- * びまん性肺疾患分科会 研究協力者
- ** 同 分科会員
- *** 同 分科会長

表 1 DPB に対するマクロライド少量療法指針³⁾

エリスロマイシン少量療法は DPB に対する基礎療法である。早期の症例でより臨床効果が高いことから速やかに EM 少量療法を導入する。

（投与量） 一日投与量は EM400 ないし 600mg

（治療期間）

1. 臨床効果は 2～3 ヶ月以内に認められることが多いが最低 6 ヶ月は投与してその臨床効果を確認する。
2. 早期例で自覚症状が消失し、臨床検査所見が安定した症例ではその後 6～12 ヶ月間投与し中止も可能である。
3. 症状残存例は可能な限り継続投与する。

表 2 エリスロマイシン少量長期投与における副作用アンケート調査

EM 長期投与例での副作用		あり	なし				
		ありの場合は下記についてお答えください					
A. 肝障害	症例数 () 例	内服中止例 () 例					
肝障害の程度		()					
副作用出現時期		2 週間以内	1 ヶ月以内	3 ヶ月以内	6 ヶ月以内	6 ヶ月以上	
B. 胃腸障害	症例数 () 例	内服中止例 () 例					
胃腸障害の内容と程度		()					
副作用出現時期		2 週間以内	1 ヶ月以内	3 ヶ月以内	6 ヶ月以内	6 ヶ月以上	
C. 皮疹	症例数 () 例	内服中止例 () 例					
皮疹の程度と内容		()					
副作用出現時期		2 週間以内	1 ヶ月以内	3 ヶ月以内	6 ヶ月以内	6 ヶ月以上	
				症例数	内服中止例		
D. 過敏症	症例数 () 例	内服中止例 () 例					
過敏症の程度と内容		()					
副作用出現時期		2 週間以内	1 ヶ月以内	3 ヶ月以内	6 ヶ月以内	6 ヶ月以上	
E. 腎障害	症例数 () 例	内服中止例 () 例					
腎障害の程度		()					
副作用出現時期		2 週間以内	1 ヶ月以内	3 ヶ月以内	6 ヶ月以内	6 ヶ月以上	
F. その他	症例数 () 例	内服中止例 () 例					
その他の内容		()					
副作用出現時期		2 週間以内	1 ヶ月以内	3 ヶ月以内	6 ヶ月以内	6 ヶ月以上	

結 果

新たな治療指針は表 3 に示す。

マクロライド副作用調査としてはまずエリスロマイシン療法での回収率は 53.9% (48/89) であった。このうち EM 治療歴なしの施設が 2 施設あった。残り 46 施設での副作用ありの回答は 37.0% (17/46) であった。(図 1) 副作用報告施設は胃腸障害 13 施設、皮疹 6 施設、肝障害 5 施設、過敏症、腓返り、心拡大、放屁が各 1 施設であった。(図 2)

この副作用の詳細は、胃腸障害では 13 施設のうち症例数は 1～20 症例と幅があり、いずれも嘔気、胃部不快

表3 DPBにたいするマクロライド治療指針

マクロライド少量療法はDPBにたいする基本療法であり、早期の症例で臨床効果がより高いことから診断後は速やかにマクロライド少量療法を開始すべきである。また、第一選択薬はエリスロマイシン (EM) である。

(投与量及び用法)

EM一日投与量は400または600mgを分2または分3で経口投与する。

(効果判定と治療期間)

- 1, 臨床効果は2～3ヶ月以内に認められることが多いが最低6ヶ月は投与してその臨床効果を確認する。
- 2, 長期投与により自覚症状、臨床検査所見(画像、肺機能など)が改善、安定し、重症度分類で4または5級付記1)程度となれば通算2年間の投与で中止する。
- 3, 中止後症状の再燃がみられれば再投与が必要である。
- 4, 広汎な気管支拡張や、呼吸不全を伴う進行症例では可能な限り継続投与する。

(付記)

- 1, 4級; 咳・痰軽度, 痰量10ml以下. 息切れの程度はH-J II～III, 安静時PaO₂は70～79 Torrで, 呼吸器症状により社会での日常生活活動に支障がある。
5級; 呼吸器症状なし. 安静時PaO₂は80Torr以上, 日常生活に支障なし。
- 2, 現時点ではニューマクロライドがEMより有効であるとの証拠は得られていないが, EMによる副作用や, 薬剤相互作用がある場合, あるいはEM無効症例ではニューマクロライド剤の投与を試みる。

投与例 1)クラリスロマイシン (CAM) 200または400mg
2)ロキシスロマイシン (RXM) 150または300mg

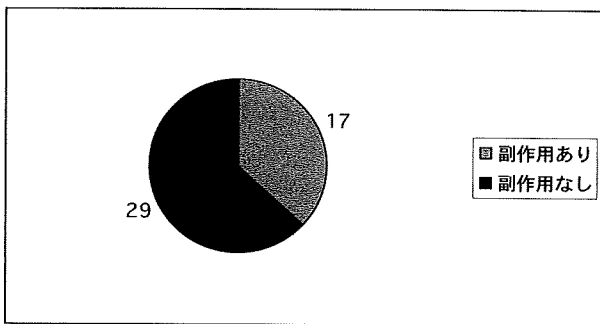


図1 副作用の有無 (46施設)

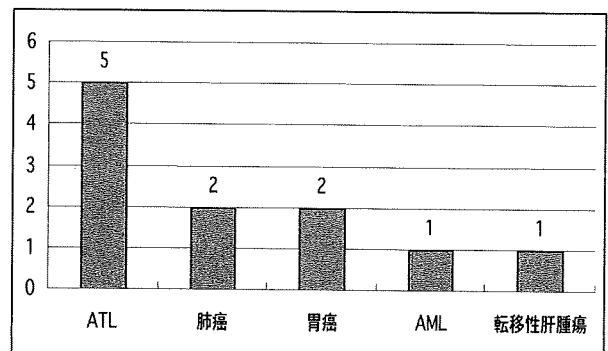


図3 EM療法時における悪性腫瘍合併例 (全7施設)

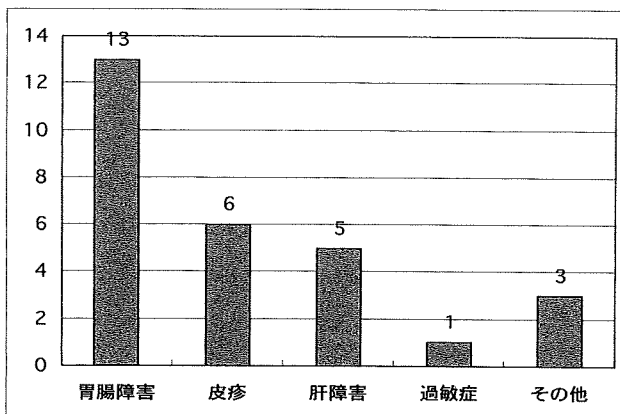


図2 副作用報告施設数 (重複あり)

感などの胃炎と考えられる症例であった。全記載症例数は44例でこのうち36例は胃腸障害のため継続中止となっていた。また症状出現時期は2週間以内がほとんどであった。皮疹は6施設8症例でありほとんどの症例は2週間以内に症状の出現をみていた。肝機能障害は5施設8例の記載があり、中止例は6例でそのほとんどはGOT, GPTが100以上となった症例であり、100以下の症例では継続投与されていた。発現時期は3から6ヶ月であった。過敏症はアナフィラキシー症例が1例であった。また、いずれの症例においてもEM中止により症状の改善をみており、重篤な副作用は認められなかった。

また悪性疾患の発症については7施設からの回答があり、その内容としてはATL 5例, AML 1例, 肺癌 2例,

胃癌 2 例，転移性肝腫瘍 1 例であった。(図 3) これらの疾患での EM 投与期間は最長でも 2 年程度であり，明らかな関連性は指摘できなかった。

考 案

今回 DPB にたいするマクロライド療法の治療指針を新たに策定した。この治療指針は平成 8 年度の文献的考察³⁾，平成 9 年度のアンケート調査^{4, 5)} を元に作成されたものであり，実際の臨床に即したものであると考える。今回の治療指針では臨床効果が明らかな症例で，病状が安定していれば治療を中止してもよいことを明確に記載した。またこの基準については新たに施行された DPB の重症度分類と連携し，より具体的な中止基準と治療目標を示した。

またアンケート調査⁵⁾ で明らかになったように，多くの症例では中止後再投与によっても臨床効果がみられることから，再発例にたいしての再投与の必要性を具体的に記載した。また今回の治療指針策定では，EM 無効例に対するニューマクロライド療法を具体的に記載したが，本療法の基本はあくまでも EM であることは，明確にしておかなければならない。今後本治療指針が，実地臨床上で使用され，その結果からまた新たに治療指針を改訂することも考慮されるべきと思われる。

さらに本年度は EM の副作用調査についても前年度より詳細な検討を加えた。しかしながら詳細なアンケートを作成したためか予想された頻度より低いものであった。実際平成 9 年度に行ったアンケート⁵⁾ では副作用の有無，種類についての簡単なものであったが，このときの頻度は 61.5% であった。このことから考えると，今回のアンケート内容が詳細であったため，軽微な副作用については報告されなかったものと思われる。しかし，いずれにしろ重篤な副作用が認められなかったことおよび薬剤中止により副作用が消失したことは事実であり，EM

療法は安全な治療法といえる。

また今回この副作用調査とともに，悪性疾患との関連についてもアンケート調査を行ったが，全体ではわずか 7 施設 (15%) でありなかでも ATL 症例との合併例が 5 例と最も多かった。また悪性疾患と EM 使用との関連性については今回の検討では言及できなかった。

今後の残された大きな課題としては EM 投与による耐性菌の問題と近年使用例が増加してきたニューマクロライド剤の副作用状況であり，今後の検討が必要と考えられる。

参考文献

- 1) 工藤翔二，木村 仁，植竹健司，平山雅清，久田哲哉，寺谷啓子，杉山幸比古，宮沢 博：びまん性汎細気管支炎に対するマクロライド系薬剤の少量長期投与の臨床効果。日胸疾会誌 (増) 22:254, 1984
- 2) 山本正彦：DPB に対するエリスロマイシンの治療効果—二重盲検による検討—。厚生省びまん性肺疾患調査研究班平成 2 年度報告書。p18-20, 1991
- 3) 田口善夫，種田和清，郡 義明，富井啓介，松村栄久，三野真里，郷間 徹，加藤晃史，森松嘉孝：びまん性汎細気管支炎に対するエリスロマイシン (EM) 治療指針の試案。厚生省平成 8 年度報告書 p77-81, 1997
- 4) 田口善夫，中田絃一郎，工藤翔二：DPB にたいする EM 少量長期投与にたいする全国アンケート調査報告。厚生省特定疾患呼吸器系疾患調査研究班びまん性肺疾患分科会平成 9 年度報告書 p16-19, 1998
- 5) 田口善夫：DPB にたいする EM 少量長期投与での再発と副作用に関するアンケート。厚生省特定疾患呼吸器系疾患調査研究班びまん性肺疾患分科会平成 9 年度報告書 p20-22, 1998

びまん性汎細気管支炎 (DPB) の人種特異性に関する 国際交流研究

工藤 翔二^{1*} 吾妻安良太¹ 安藤 正幸² 菅 守隆^{2**}
中田絃一郎^{3***} 坪井 永保³ 斎木 茂樹⁴ 土井 修⁴
慶長 直人^{5***}

びまん性汎細気管支炎 (DPB) の遺伝形式は未だ解明には至らないものの、東アジア諸国からの報告が見られることや、数少ない欧米からの報告例は、その多くが韓国人およびアジア系移民であることなどから、東アジアに集積する人種特性の高い疾患であることが従来より示唆されている。今回我々は近隣諸国；韓国、中国、台湾ならびに香港との研究交流を通して、さらに日本呼吸器学会総会（1998年、熊本）においてシンポジウム「アジアにおけるDPB」を開催し、DPBが東アジアに集積する人種依存性の高い疾患であることを確認した。

International Investigations of Genetic Predisposition in Diffuse Panbronchiolitis (DPB)

Shoji Kudoh¹, Arata Azuma¹, Masayuki Ando², Morio Suga²
Koichiro Nakata³, Eiyasu Tsuboi³, Shigeki Saiki⁴, Osamu Doi⁴
Naoto Keicho⁵

1. *The Fourth Department of Internal Medicine, Nippon Medical School*
2. *The First Department of Internal Medicine, Kumamoto University School of Medicine*
3. *Division of Respiratory Diseases, Toranomon Hospital*
4. *St Lukes' International Hospital, Department of Pathology*
5. *University of Tokyo, Department of Respiratory Medicine*

Based on several reports that DPB/sino bronchial syndrome (SBS) is common in East Asia as opposed to the West amongst the Caucasian population, diffuse panbronchiolitis (DPB) may be thought to be a disease entity prevalent in East Asia. We investigated the incidence of DPB in Japan, Korea, China, Taiwan and Hong Kong and we organized a symposium "DPB in East Asia" as part of the Japanese Respiratory Society in Kumamoto (1998. 3). The results of our study presented at the symposium confirmed that DPB is most prevalent in East Asia.

びまん性汎細気管支炎 diffuse panbronchiolitis, DPB は、わが国でその疾患概念と治療法 (EM療法) が確立した難治性の呼吸器疾患であるが、明確な遺伝形式は認められていない。しかしながら、本疾患は以下のような理由から、遺伝性要因の関与が従来から示唆されていた。すなわち、①家族発生がみられること (約 40% に慢性副鼻腔炎ないし副鼻腔気管支症候群が 2 親等以内に存在)、②常染色体劣性遺伝疾患である cystic fibrosis, 線毛不動症候群などと同様に副鼻腔気管支症候群であり、系統的な気道粘膜防御系障害が示唆されること、③症例対照研究で高度の家族性因子の寄与が認められること、④欧米からの報告例が少ないこと、⑤日本人症例で HLA-B54 との高度の相関が認められること¹⁾ などである。

われわれは厚生省研究班を中心として、過去 5 年間にわたって疾患の人種特異性及び遺伝性要因の解明に関する研究を進めてきた。以下は、その概要である。

I DPB の人種特異性について

本疾患が東アジア地域に集積する人種依存性疾患であることを、関係各国との研究交流を通じて明確にした。

すなわち、表 1 に示すように東アジア地域以外からの本疾患の症例報告は 9 編 (98.12 現在)、18 症例ときわめて少なく、うち 9 症例が日本人、韓国人及びアジア系移民であること、また、デンバーグループからの報告例²⁾ の 2 例の組織標本検討 (97 年 2 月、東京) では 1 例が他疾患、1 例は非定型例であり³⁾、さらに、肺移植後症例、潰瘍性大腸炎合併症例等が DPB として扱われていることなどが明らかとなった。

日本以外の東アジア地域からは韓国⁴⁾、台湾⁵⁾ 等から若干の報告例があるものの、欧米諸国との関連からみて確かではなく、また中国大陸における実態は全く明らかでなかった。そのため、東アジア地域の実態を明らかにするために、1993 年から調査活動を開始し (図 1)、中国事前調査 (北京、95 年)、日中合同 DPB 検討会 (北京、96 年)、韓国事前調査 (ソウル、97 年) を経て、シンポジウム “アジアにおける DPB” を開催した (98 年、熊本)⁶⁾。このシンポジウムでは、北京 10 例、ソウル 40 例、台北 20 例、香港 10 例など、これら諸都市における DPB の実態が報告され、その一部はすでに論文として報告されている^{7,8)} また、類似疾患である cystic fibrosis は、このシンポジウムに参加した諸都市では経験されてい

表 1 アジア以外から報告された DPB 症例における人種

		○ Asian	● White	⊗ Hispanic	● not described	
North America						
Canada		○	●	○	(Asian immigrant)	Randhara P : Am J Sur Path, 15: 43-7, 1991
U.S.A.			●	⊗		Homer R : Chest, 107: 1176-78, 1995
U.S.A.	○	●	●	⊗		Fitzgerald JF : Am J Respir Critic Care Med, 154: 497, 1996
U.S.A.		○	○		(Asian descendants)	Fisher MS : Arch Path Labo Med, 122: 156-60, 1998
Europe						
France		○			(Asian immigrant)	Brugiere O : Thorax, 51: 1065-7, 1996
Italy			●			Poletti V : Sarcoidosis, 9: 67-9, 1992
Germany			○		(Korean)	Costabel U : WASOG meeting, 1997
South America						
Brazil		○	○	○	(Japanese, Japanese descendants)	Souza R : ATS meeting, 1998
Oceania						
Australia		○				Dwyer Ng P : Australian Radiology, 42: 146-50, 1998

- 1 日本医科大学第四内科
- 2 熊本大学第一内科
- 3 虎の門病院呼吸器科
- 4 聖路加国際病院
- 5 東京大学呼吸器内科
- * びまん性肺疾患分科会 分科会長
- ** “ ” 分科会員
- *** “ ” 難病特別研究員

い。
図 2 は、以上の結果を DPB の世界分布として示したものである (本図における日本以外の東アジア地域の患者数は、全人口における有病率に基づくものではない)。

DPB の人種依存性に関わる今日まで明らかにされた実態は次のように総括できる。① DPB は、日本 (10 万対 11.0) のみならず、韓国、中国、台湾、香港に数多くみられる。② 一方、欧米からの報告例はきわめて少なく、その半数がアジア系人種であり、しかも報告された白人

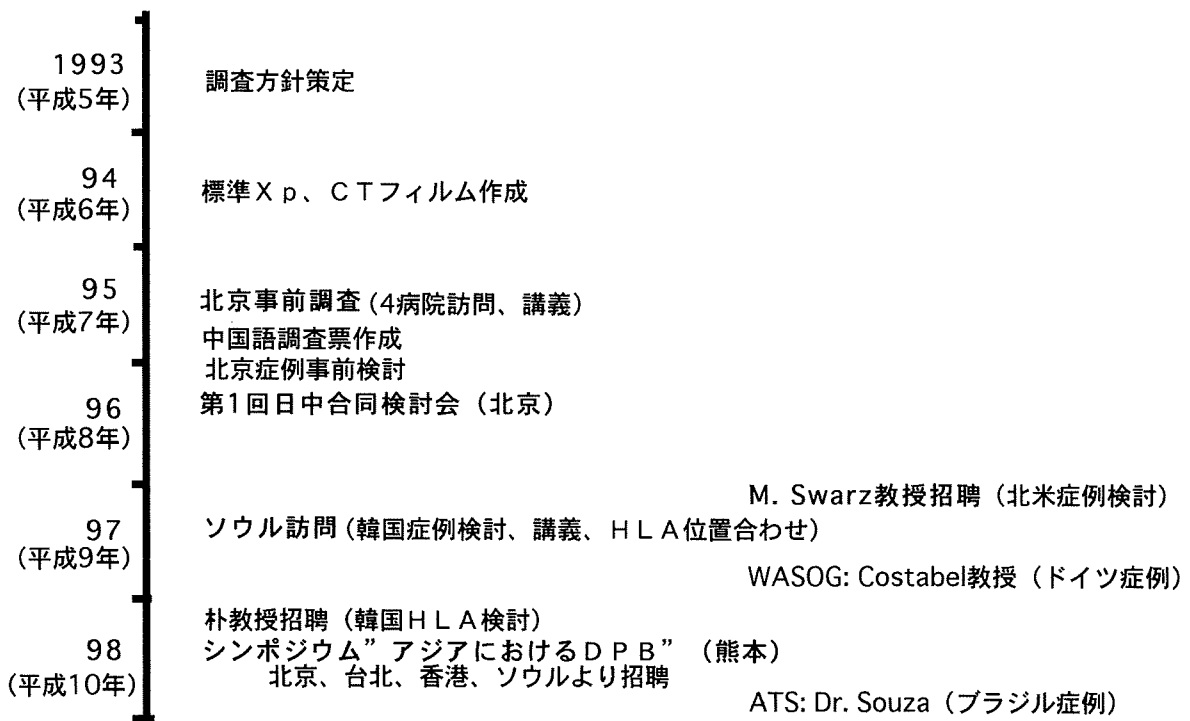


図1 東アジアにおけるDPB実態調査

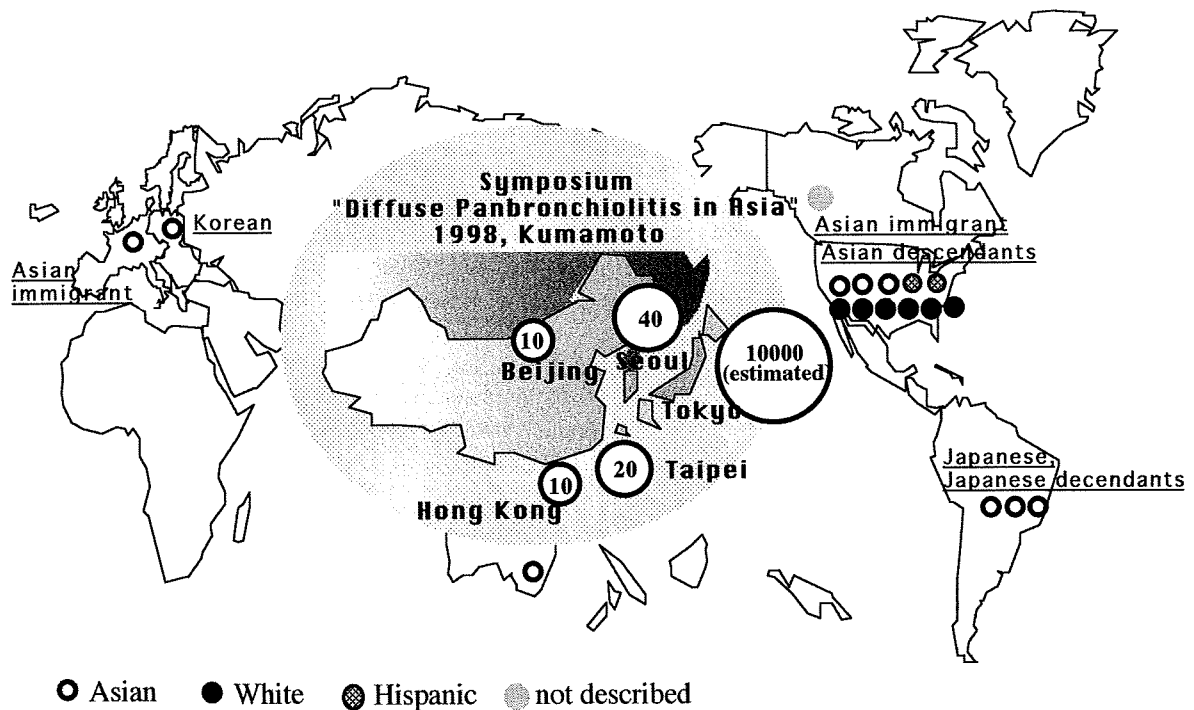


図2 DPBの世界分布(1998年)

症例の一部には他疾患が混在している可能性がある。

以上から、DPBは欧米(Caucasian)におけるcystic fibrosisに対応する東アジア(Mongoloid)に集積する人種依存性疾患とみなすべきであり、東アジア集積国との共同研究をさらに強化する必要がある。

文 献

1) Sugiyama Y, Kudoh S, Maeda H, Suzuki H, Takaku F.: Analysis of HLA antigens in patients with diffuse panbronchiolitis. American Review of

- Respiratory Disease, 141:1459-62, 1990
- 2) Fitzgerald JE. King TE Jr. Lynch DA. Tuder RM. Schwarz MI.: Diffuse panbronchiolitis in the United States, American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine. 154:497-503, 1996
 - 3) Schwarz MI: Non-smoking related affected lung disease in the USA, Therapeutic Research, 18:2480-82, 1997
 - 4) Kim YW. Han SK. Shim YS. Kim KY. Han YC. Seo JW. Im JG.: The first report of diffuse panbronchiolitis in Korea: five case reports., Internal Medicine, 31:695-701, 1992
 - 5) Chu YC. Yeh SZ. Chen CL. Chen CY. Chang CY. Chiang CD., Diffuse panbronchiolitis: report of a case. Journal of the Formosan Medical Association, 91:912-5, 1992
 - 6) Symposium "Diffuse Panbronchiolitis in Asia (President: Ando M, Chairpersons: Kudoh S, Zhu YJ)", 日本呼吸器学会雑誌, 36 (増), 103-108, 1998
 - 7) Hu H. Liu Y. Cai Z. Chen L.: A case of diffuse panbronchiolitis, Chinese Medical Journal. 109:949-52, 1996
 - 8) Tsang KW. Ooi CG. Ip MS. Lam WK. Ngan H. Chan EY. Hawkins B. Ho CS. Amitani R. Tanaka E. Itoh H.: Clinical profiles of Chinese patients with diffuse panbronchiolitis. Thorax. 53:274-80, 1998

HLA に関連したびまん性汎細気管支炎感受性遺伝子の探索

慶長 直人^{1*} 江見 充² 徳永 勝士³

びまん性汎細気管支炎 (DPB) の東アジア集積性から疾患感受性遺伝子の探索を進めてきたが, 日本では HLA-B54 が, 韓国では HLA-A11 が疾患と強く相関したことから, HLA-A, B 遺伝子座の間に候補遺伝子が存在する可能性がある. 今回, まず HLA-A, B 座のほぼ中間に位置する HLA-E 遺伝子の多型性を検討したが, DPB とは有意な関連性を示さなかった. そこで候補遺伝子の存在する範囲をより明確にする目的で, HLA-A, B 座間の 6 種のマイクロサテライトマーカーを用いたハプロタイプの解析と連鎖不平衡マッピングを試みた. その結果, DPB 患者に多く見られるハプロタイプはいずれも特定のマーカーの対立遺伝子を共有していた. 一方, 連鎖不平衡マッピングによっても同マーカーは疾患感受性遺伝子座と近い位置にあると示唆された. 今後このマーカー周辺の数 100 kb を詳細に検討し, 疾患感受性遺伝子の存在を明らかにする必要がある.

HLA-linked candidate genes involved in a susceptibility to diffuse panbronchiolitis

Naoto Keicho¹, Mitsuru Emi², Katsushi Tokunaga³

1. *University of Tokyo, Department of Respiratory Medicine*

2. *Nippon Medical School, Institute of Gerontology, Department of Molecular Biology*

3. *University of Tokyo, Department of Human Genetics*

Considering HLA types associated with diffuse panbronchiolitis in the Japanese and Korean populations, we have postulated that one of the disease susceptibility genes is located between HLA-A and -B loci. In this study, polymorphisms in the HLA-E gene of which locus is in the middle of the two loci were first analyzed, but no obvious association with the disease was observed. In order to estimate the locus of the putative susceptibility gene more accurately on the physical map of the HLA region, we analyzed alleles of 6 microsatellite markers which were located between HLA-A and -B loci. Frequencies of the haplotypes were estimated in 88 patients and in 93 controls respectively. A specific allele of a marker designated m2 was shared among haplotypes frequently found in the patient group. This estimation was confirmed by analysis of haplotypes directly determined by pedigree data. Linkage disequilibrium mapping was also directed and the m2 was suggested as a marker close to the susceptibility gene. We should focus on a region of a few hundred kilo base pairs around the m2 as a locus of the HLA-linked susceptibility gene.

はじめに

びまん性汎細気管支炎 (DPB) が日本で初めて報告されて以来 30 年, 最近では, DPB が東アジアに集積する慢性炎症性肺疾患であることが世界的に認知されるに至った¹⁻⁴⁾. このような地域集積性のメカニズムは, 環境の違いあるいはその地域に居住する集団の遺伝背景の違いによるものと推測される. 多くの疾患では, 発症にこの環境要因と遺伝要因がともに一定の関与をしているものと考えられ, DPB もその例外ではないものと想像される.

DPB 発症に関与する明確な外的要因は不明だが, 遺伝的要因に関しては 1990 年, 杉山らにより, HLA-B54 抗原との強い関連性が報告された⁵⁾. 本研究ではそのことを足がかりに DPB の主要感受性遺伝子の探索を試みてきた⁶⁾. 昨年, ソウル大学臨床病理, 朴明姫教授より, 韓国 DPB 症例は HLA-A11 と最も関連性が強く, HLA-B については B54 ではなく, B55 や B62 と弱い関連性を持つとのデータが提出された⁷⁾ (厚生省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班後援・第 24 回びまん性汎細気管支炎をめぐる研究会, 1988 東京). このことは, 日韓の人類遺伝学上の近縁性を考慮すると, 未知の DPB 感受性遺伝子が, HLA-A 座と B (C) 座の間に位置し, その感受性対立遺伝子 (◆) を含む B54-Cw1-◆-A11 という共通の祖先染色体が存在したと考えると理解しやすい⁸⁾. すなわち, 日本では B54-Cw1-◆-A24 など, A 座よりで主に組み換えが生じ, 固定し, 韓国では主に B 座よりで組み換えが生じ, B55-Cw1-◆-A11 や B62-Cw4-◆-A11 などが主となった可能性がある. 本年度は, この仮説をめぐって, まず HLA-A, B 座のほぼ中間に位置する非古典的 HLA として最近注目される HLA-E 遺伝子のプロモーター領域および exon3 の多型性を PCR-SSCP 法により検討した. さらに HLA-A, B 間のマイクロサテライトマーカーを用いたハプロタイプの解析と連鎖不平衡マッピングを試みた.

対象と方法

各施設の協力のもとに一昨年より登録を開始し, 本年度 (平成 10 年 12 月 1 日) までに寄せられた症例のうち, 1995 年厚生省班診断基準に基づき DPB と確認された 88 症例を疾患群とした. 一方, 一昨年度解析した健常者のうち HLA データ及びゲノム DNA がともに利用可能な

1. 東京大学医学部附属病院呼吸器内科
2. 日本医科大学老人病研究所分子生物学部門
3. 東京大学医学系人類遺伝学教室

* 難病特別研究員

93 例を対照群とした.

HLA-E の exon3 は既知のプライマーセット (Eg1.1, Eg2.2) を利用し⁹⁾, そのプロモーターについては新たにプライマーを設定し, いずれも PCR-SSCP 法により, 22 °C グリセロール (+/-), 6 °C グリセロール (-) の 3 条件で泳動し, 分離を検討した.

HLA-A, B 座間のマイクロサテライトマーカーの蛍光プライマーセット (m1~m5) は東海大学猪子英俊教授の研究室より供与を受けた. また A 座近傍の m6 は D6S265 として登録されているプライマーセットを使用した¹⁰⁾.

各マーカーの allele は, TAMRA-500 をサイズマーカーとして, ABI PRISM 377 DNA シークエンサーを利用し, GeneScan プログラムにより解析した. m6 のみ ³²P ラベルしたプライマーを用いてシークエンス用ゲルに泳動し解析した. いずれのマーカーもリピート数の最大の allele を #1 として, リピート数の減少にしたがって #2, 3... と命名した.

ハプロタイプの推定は第 11 回国際組織適合性ワークショップで報告された HLA 用ハプロタイプ推定プログラムを用いた¹¹⁾. HLA-B54 を保有する DPB 患者を中心に 10 症例は, 家系情報より直接ハプロタイプを決定し得た.

韓国の HLA-A11 陽性 DPB 患者 8 例の DNA サンプルはソウル大学朴明姫教授より供与を受け, 本邦症例同様に解析を行った.

結 果

1. HLA-E プロモーターおよび exon3 の多型性

HLA-E プロモーターは検索した限りにおいては多型性は見いだされなかった. exon3 は 2 種類の allele が認められ, それらは塩基配列上, 世界に広く分布している Gly/Arg-107 多型であることが明らかになった. そのいずれも DPB と関連性は見いだされなかった.

2. HLA-B, C, m1...m5, HLA-A のハプロタイプの推定 (表 1)

コンピュータ解析により 3% 以上の頻度で存在すると推定されるハプロタイプは健常群では 4 種類あり, その中には DPB に抵抗性が予想される HLA-B44, A33 を含むハプロタイプが含まれていた. 一方, DPB 群で 3% 以上見られるハプロタイプは 6 種類が推定され, B54 を含むハプロタイプが 3 種類含まれており, それらは HLA-B54-Cw1-m1#09-m2#15 を共有していたが, m3 以降, HLA-A 側では異なる allele に分かれ, 最終的に A11 と A24 を有するハプロタイプが形づくられているものと推測された. また DPB 群で頻度の高い 6 つのハプロタイ

プのうち、3つがm1#09, さらに5つがm2#15という allele を保有していた. ちなみに対照群ではB7を含むひとつのハプロタイプだけがこれらを保有していた.

3. 家系情報による直接的なハプロタイプの決定 (表2)

HLA-B54 陽性例を中心として家系情報により実際にハプロタイプを決定することのできた10名のDPB症例では、1.で推定されたように、m2を境としてHLA-A座側ではハプロタイプが分岐することが確認された.

4. 韓国HLA-A11陽性DPB患者のマイクロサテライト解析

HLA-A11陽性で、なおかつHLA-B54陽性(4例)および陰性(4例)の症例はいずれもm2#15を保有していた. m1#9は特にB54陰性例では1例しか保有していなかった(表省略).

5. HLA-B54-Cw1-A11のハプロタイプに見られる各マーカーの allele の連鎖不平衡の強さ (表3)

$ad-bc/d(a+b)$ で表される統計量 δ を用いると m2 に単一のピークが見いだされた. 異なる統計量である D' 値では、必ずしも明解な結果は得られなかった.

表1 対照およびDPB群で頻度の高いハプロタイプ (コンピューター推定3%以上)

Control (n=93)								
B	-C	-m1	-m2	-m3	-m4	-m5	-A	HF
B52-Cb1-#11-#08-#04-#03-#21-A24								12%
B44-Cb1-#01-#02-#09-#13-#05-A33								9%
B07-Cw7-#16-#15-#12-#13-#20-A24								4%
B46-Cw1-#09-#07-#06-#03-#19-A02								3%
DPB (n=88)								
B	-C	-m1	-m2	-m3	-m4	-m5	-A	HF
B52-Cb1-#11-#08-#04-#03-#21-A24								8%
B07-Cw7-#16-#15-#12-#13-#20-A24								6%
B54-Cw1-#09-#15-#04-#14-#19-A24								6%
B54-Cw1-#09-#15-#06-#03-#29-A11								5%
B54-Cw1-#09-#15-#04-#14-#29-A11								3%
B60-Cw3-#08-#15-#11-#03-#29-A11								3%

表2 本邦DPB10症例にみられたハプロタイプ (家系情報による直接決定)

	B	-C	-m1	-m2	-m3	-m4	-m5	-A
O.M.	B54-Cw1-#09-#15-#04-#14-#18-***							
S.K.	B54-Cw1-#09-#15-#04-#14-#02-A24							
Y.H.	B54-Cw1-#09-#15-#12-#14-#18-***							
I.S.	B54-Cw1-#09-#15-#04-#14-#29-A11							
F.T.	B54-Cw1-#09-#15-#06-#03-#29-A11							
M.M.	B54-Cw1-#08-#15-#06-#03-#01-A31							
K.T.	B54-Cw1-#09-#15-***-#03-#06-A33							
T.S.	B07-Cw7-#16-#15-***-#13-#20-A24							
K.E.	B07-Cw7-***-#15-#05-#03-#18-A24							

表3 DPBと各マーカーの連鎖不平衡値

locus allele	DRB1 *0405	HLA-B B54	HLA-C Cw1	m1 #09	m2 #15	m4 #14	m5 #29	(m6) #07	HLA-A A11
DPB (n=88)	27	32	42	40	77	40	30	30	35
positive%	36%	36%	48%	45%	88%	45%	34%	37%	40%
Ctrl.(n=93)	23	14	28	26	64	21	21	22	19
positive%	25%	15%	30%	28%	69%	23%	23%	24%	20%
χ^2	2.3	10.8	5.9	5.7	9.2	10.6	3.0	3.7	8.1
$P_{corrected}$	-	<0.02	-	-	<0.02	<0.01	-	-	<0.05
Odds ratio	1.7	3.2	2.1	2.1	3.2	2.9	1.7	1.9	2.5
δ	0.14	0.25	0.25	0.24	0.60	0.30	0.15	0.18	0.24
D'	0.20	0.43	0.23	0.24	0.41	0.35	0.21	0.24	0.33

考案・結論

本年度は日韓両国のHLA解析の結果から得られた仮説である、DPB感受性遺伝子のひとつがHLA-A, B両遺伝子座の間に存在する可能性をめぐって、初めにA-B間に存在し、NK細胞の抑制系レセプターのリガンドであることが知られているHLA-Eの多型性を検討したが、検索した範囲ではDPBと有意な関連性は見いだされなかった. そこでDPB感受性遺伝子座の絞り込みが可能か検討する意味で、HLA-A, B間の複数のマイクロサテライトマーカーを用いたハプロタイプ解析と連鎖不平衡マッピングを試みた. その結果、疾患感受性を有すると推定される複数のハプロタイプで共有され、しかも比較的正確に疾患遺伝子座を推定できると報告されている¹²⁾連鎖不平衡値(δ)のピークを示すマーカーm2が、HLA-EよりB座よりのHLA-A, B間に見いだされた. しかしm2#15は本邦健康人でも69%が保有する allele であるため、それを持つ一部の染色体上のみDPB感受性対立遺伝子が乗っていると仮定する必要がある. 今後m2周辺の約400kbをさらに詳細に検討することにより、この仮説が妥当か否かは一層明確になるであろう.

謝 辞

採血および患者データの送付に当たり、虎の門病院、天理よろづ相談所病院、日本医科大学第四内科の諸先生のご協力にあらためて感謝いたします. マイクロサテライトマーカーの具体的な取り扱い等に関しては、東海大学医学部分子生命科学2 田宮 元先生の御示唆に感謝いたします.

参考文献

1) Corne J: Diffuse panbronchiolitis: a new Japanese export? Lancet 1996;348:1465-1466.
 2) Hoiby N: Diffuse panbronchiolitis and cystic fibrosis: East meets West. Thorax 1994;49:531-532.
 3) Kim YW, Han SK, Shim YS, et al: The first

- report of diffuse panbronchiolitis in Korea: five case reports. *Intern Med* 1992;31:695-701.
- 4) Tsang KWT, Ooi, CGC, Ip MSM, *et al*: Clinical profiles of Chinese patients with diffuse panbronchiolitis. *Thorax* 1998;53:274-280.
 - 5) Sugiyama Y, Kudoh S, Maeda H, *et al*: Analysis of HLA antigens in patients with diffuse panbronchiolitis. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:1459-62.
 - 6) Keicho N, Tokunaga K, Nakata K, *et al*: Contribution of HLA genes to genetic predisposition in diffuse panbronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:846-850.
 - 7) Park MH, Kim YW, Yoon HI, *et al*: Association of HLA class I antigens with diffuse panbronchiolitis in Koreans. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 in press.
 - 8) 徳永勝士 : HLA からみる東アジア人類集団の特徴と DPB 感受性遺伝子に関する遺伝学的考察. *Ther Res* 1998;19:199-201.
 - 9) Geraghty DE, Stockschleider M, Ishitani A, *et al*: Polymorphism at the HLA-E locus predates most HLA-A and -B polymorphism. *Human Immunol* 1992;33:174-184.
 - 10) Foissac A, Crouau-Roy B, Faure S, *et al*: Microsatellites in the HLA region: an overview. *Tissue Antigens* 1997;49:197-214.
 - 11) Imanishi T, Akaza T, Kimura A, *et al*: Estimation of allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci. In: Tsuji K, Aizawa M and Sasazuki T editors. *HLA 1991, Vol 1*. Oxford University Press, New York 1065-1220.
 - 12) Devlin B, Risch N: A comparison of linkage disequilibrium measures for fine-scale mapping. *Genomics* 1995;29:311-322.

エリスロマイシン療法の機序解明：ヒト気道上皮細胞の転写調節に対するマクロライド抗生物質の作用

滝沢 始^{1*} 出崎 真志² 河崎 伸² 幸山 正²
山本 一彦² 伊藤 幸治³

ヒト気道上皮細胞のサイトカイン発現調節におけるマクロライド剤の作用機序について、これまでにIL-8の遺伝子発現スピードを14員環マクロライド剤が低下させることを見いだした。そこで今年度は、その重要な転写調節因子であるNF κ BおよびAP-1の活性化への影響を検討した。ヒト気道上皮細胞株BEAS-2BにIL-1 α やTNF α とともにエリスロマイシン(EM)、クラリスロマイシン(CAM)を添加し、AP-1の活性化への影響をゲルシフト法で検討した。NF κ Bに関しては明らかな影響を認めなかった。AP-1の活性化に対しては、マクロライドの低濃度での抑制が示されたが、濃度依存性が明らかでなく、その意味付けにはさらなる検討が必要と思われた。

Effect of macrolide antibiotics on activation of transcription factors NF κ B and AP-1 in human bronchial epithelial cells

Hajime Takizawa¹, Masashi Desaki², Shin Kawasaki², Tadashi Kohyama²
Kazuhiko Yamamoto², Koji Ito³

1. Department of Laboratory Medicine

2. Department of Respiratory Medicine, University of Tokyo, School of Medicine

3. Douai Kinen Hospital, Tokyo, Japan

Macrolide antibiotics show a potent therapeutic efficacy for the treatment of diffuse panbronchiolitis (DPB), but the precise mechanisms of its action remain unelucidated. To determine the molecular mechanisms of EM action, we addressed a question of whether these drugs have any effect on the activation of transcription factors important in IL-8 gene expression in human bronchial epithelial cells *in vitro*. EM and clarithromycin (CAM) showed no effect on the activation of NF κ B by electrophoretic mobility shift assay. CAM and EM showed an inhibitory effect on AP-1 binding to its specific motif of the oligonucleotides at low concentrations (eg. 10^{-7} M), but this effect was not dose-dependent.

These results suggested that the macrolides might suppress activation of transcription factors such as AP-1, but further studies would be necessary to clarify the action mechanisms of these macrolides antibiotics in humans.

はじめに

エリスロマイシン (EM) をはじめとする 14 員環マクロライド抗生物質の、びまん性汎細気管支炎 (DPB) などの慢性気道炎症性疾患における有効性¹⁾ の機序をめぐって、従来より *in vitro* の研究がありその多くが抑制性の作用を示しているが、タンパクレベルの検討にとどまっていた。気道炎症の改善に伴う顕著な変化として、気管支肺胞洗浄液中の好中球数およびその集積に重要な IL-8 などのサイトカインの減少が報告された²⁾。我々は、こうした点から、マクロライドが生体内において特に好中球の集積・活性化を抑制しているとの作業仮説にもとづき、1) 好中球, 好酸球, 気道上皮よりの IL-8 の産生への効果比較, 2) 気道上皮細胞への遺伝子発現レベルでの作用, について検討してきた。今年度は、さらに IL-8 遺伝子発現調節に重要と考えられる転写調節因子への影響につき検討した。

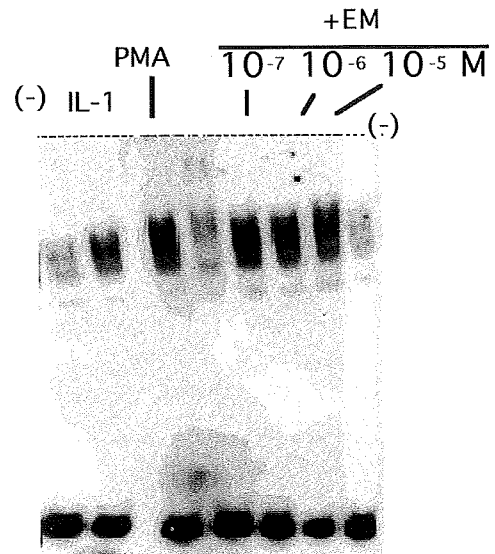


図1 EMのNFκBへの影響

対象と方法

(1) ヒト気管支上皮細胞の分離・培養

米国 NCI Dr. Lechner らから供与されたヒト気管支上皮細胞株 BEAS-2B をおもに用いた。一部の実験では、手術肺から既報のごとく得た正常気管支上皮細胞も用いた。

(2) 細胞を PMA, IL-1β, TNFα のいずれかで刺激し, EM または, CAM を種々の濃度で, また刺激前 8 時間または同時に添加した。刺激から 18 時間後に核タンパクを抽出し, electrophoretic mobility shift assay (EMSA) により, NFκB, AP-1 の各々の活性化を検討した。

結 果

(1) EM, CAM の転写因子 NFκB 活性化への影響

BEAS-2B において, 図 1 のように, IL-1β, PMA, TNF 刺激で明らかな NFκB の活性化が示されたが, EM 添加 (10⁻⁷-10⁻⁵ M) の同時投与によっては, 明かな影響は認められなかった。これは刺激前投与でも同様であり, また CAM においてもそうであった (図 2)。正常気管支上皮においても検討した範囲では同様であった (図示せず)。

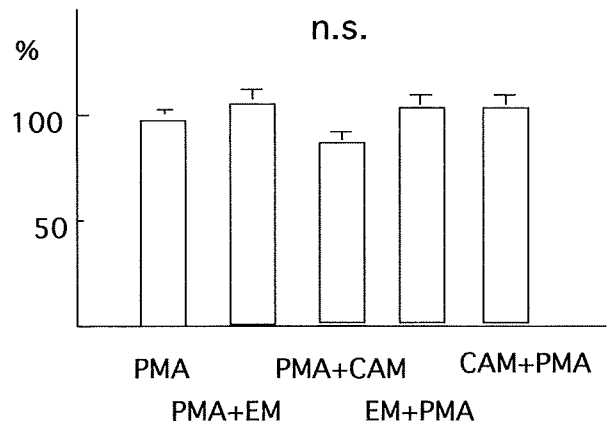


図2 EMおよびCAMのNFκBへの影響
PMA+EM, PMA+CAMは同時添加を, EM+PMA, CAM+PMAはマクロライドの前添加を示す。

(2) EM, CAM の転写因子 AP-1 活性化への影響

BEAS-2B に PMA (10⁻⁷M) 刺激と同時に CAM を添加した場合, 低濃度で抑制傾向を認めたが, より高濃度では明らかでなく, 濃度依存性がみられなかった。参考として, AP-2, CREB についても検討したが, AP-2 では不変, CREB はむしろ増強傾向が認められた。

考察・結論

われわれは, 14 員環マクロライドの作用機構の解明のため, 初年度において³⁾, 1) 好中球, 好酸球, 気道上皮よりの IL-8 の産生への効果とその比較を行い, 前 2 者においては IL-8 のタンパクレベルでの抑制を認めたが,

1. 東京大学医学部附属病院検査部
2. 同 呼吸器内科
3. 同愛記念病院
- * びまん性肺疾患分科会 研究協力者

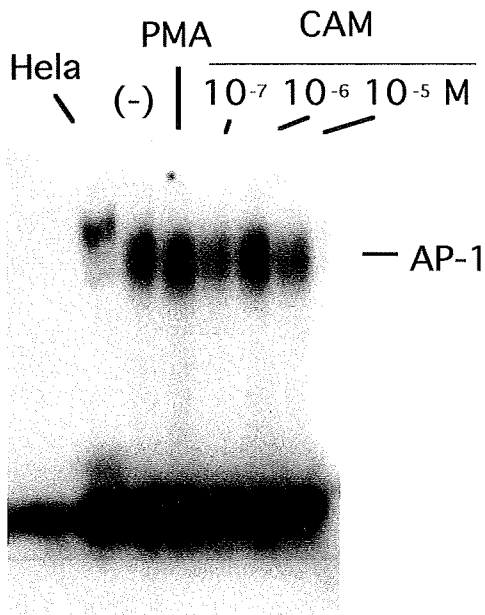


図3 CAMをPAMと同時添加した場合のAP-1活性への影響

mRNA レベルでは明らかな作用を認めず、一方、気道上皮においては、IL-8 のタンパクレベル、mRNA レベル両方での抑制作用を認めた。さらに、臨床において到達可能な 10^{-6} M から有意な抑制を示したことから、マクロライドの標的細胞と考えるのに妥当と判断した。そこで、2年度には、ヒト気道上皮細胞を標的細胞として、EM 添加による、1) IL-8 mRNA への作用をノーザンブロット法、アクチノマイシン D 処理の影響、run-on transcription assay を用いて検討し、2) 各種細胞内阻害剤の IL-8 mRNA への作用から、転写に重要な因子の推定を試みた。その結果^{4, 5)}、1) EM は、ノーザンブロット法で有意な IL-8 mRNA レベルへの抑制を示したが、それは RNA の分解への作用ではなく、IL-8 の転写スピードへの抑制作用によることが判明した。2) 気管支上皮細胞の IL-8 の発現には、Protein kinase C-NF κ B 活性化経路が重要と考えられた。また、EM の抑制作用が平均して20-25%と軽度であることより、二次的に発現する物質による間接的抑制であることも考慮して、ヒト気管支上皮細胞のサトカイン受容体 (TNFR1, IL-6R) の発現レベルへの抑制や、ヒト気管支上皮細胞の抗炎症性サトカイン (IL-4, IL-10, IL-13) 産生誘導についても検討したが、結果はいずれも陰性であった。

今年度は、IL-8 遺伝子発現調節に重要と思われる転写因子⁶⁾として NF κ B に加え、AP-1 についても検討した。前者に関しては、昨年度よりさらに詳細に検討したが、やはり明らかな作用は認めなかった。後者については、低濃度での抑制を認めたものの、濃度依存性がみられず、結論を出すには到らなかった。

EM の生体 (宿主) への作用について、これまでに気道分泌 (水分、粘液) の抑制、炎症性サイトカイン (IL-1, IL-8, TNF など) の産生抑制、好中球機能の抑制 (直接作用かは疑問)、さらに接着分子の発現抑制などが示されている。一方、細菌に対しては、緑膿菌エラスターゼ、ピオシアニンの産生抑制やバイオフィーム産生抑制が知られているが、細菌感染のない例では該当しない。EM のサイトカイン産生への影響は多くは抑制性であり、比較的このことが *in vivo*, *in vitro* とも再現性をもって報告されているヒト気道上皮細胞などの IL-8 発現系において、その作用機構解明を試みた。その結果、1) 標的細胞が多様であること、2) 作用は *in vivo* 同様マイルドであること、3) 遺伝子発現レベルで作用していることがみられたが、転写調節のどこに作用しているのかを明確にすることはできなかった。標的細胞が多様であり、作用発現に低用量で長期間必要な、マクロライドの臨床的有効性の特徴そのものが、機序解明を阻んでいる感がある。慶長⁷⁾ が指摘したように、細胞へのシグナルの主経路ではなく、副経路に抑制的に作用しているのかもしれない。その意味で、低濃度では抑制をしめした AP-1 への影響をさらに追究するつもりである。今後の課題として、結合タンパクや細胞内の標的分子の解明が必須であると思われた。

謝 辞

本研究の遂行にご協力いただいた昭和大学医学部第一内科 笠間 毅先生、国立感染症研究所 小林和夫先生、流山中央病院内科 吉田健三先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) 工藤翔二ほか：びまん性汎細気管支炎に対するエリスロマイシン少量長期投与の臨床効果に関する研究—4年間の治療成績。日本胸部疾患学会雑誌 25:632-642, 1987
- 2) Kadota J, Sakito O, Kohno S, *et al*: A mechanism of erythromycin treatment in patients with diffuse panbronchiolitis. *Am Rev Respir Dis* 147:153-159, 1993.
- 3) 滝沢 始, 河崎 伸, 幸山 正, 伊藤幸治：エリスロマイシンのサイトカイン産生抑制作用：好中球、好酸球および気道上皮細胞における検討。厚生省特定疾患呼吸器系疾患調査研究班びまん性肺疾患分科会平成8年度研究報告書, 74-76.
- 4) H. Takizawa, M. Desaki, T. Ohtoshi, S. Kawasaki, T. Kohyama, M. Sato, M. Tanaka, T. Kasama, K. Kobayashi, J. Nakajima, K. Ito:

Erythromycin modulates IL-8 expression in human bronchial epithelial cells: Studies with normal and inflamed airway epithelium. *Am J Respir Crit Care Med* 156:266-271, 1997.

- 5) 滝沢 始, 河崎 伸, 幸山 正, 出崎真志, 伊藤幸治: ヒト気道上皮細胞のサイトカイン発現に対するマクロライド抗生物質の抑制作用. 厚生省特定疾患呼吸器系疾患調査研究班びまん性肺疾患分科会平成9年度

研究報告書, 83-86.

- 6) Mukaida N, Okamoto S, Ishikawa Y, Matsushima K. Molecular mechanism of interleukin-8 gene expression. *J Leukoc Biol* 56:554-558, 1994.
- 7) 慶長直人: マクロライド薬の作用機序: リンパ球・単球系に対する作用. *分子呼吸器病* 1:413-418, 1997.

マクロライドの構造と活性の相関

吾妻安良太 工藤 翔二*

【目的】 エリスロマイシン (EM) を初めとするマクロライドの抗炎症作用は臨床研究に始まり、基礎研究によりその詳細が解明されてきているが、薬剤の構造と薬理活性との関係は未だに解明されていない。本研究では EM の誘導体, CAM, EM201, EM522, EM574 ならびに 16 員環マクロライドの代表としてロキタマイシン (RKM) を用いて、モチライド活性, 血球系に対する作用, 上皮系に対する作用を比較検討した。【方法】 ヒト気道上皮細胞 (BEAS-2B) の IL-8 産生能に対するマクロライド誘導体の作用を検討した。また、ヒト鼻粘膜上皮細胞のムチン分泌に対するマクロライドの作用を比較検討した。同様に、ネコ上皮細胞のムチン分泌に対するマクロライドの作用を分泌指数を用いて評価した。さらにリンパ球の増殖能に対するマクロライドの作用を一定期間培養した後、その数を算定した。【結果】 結果、モチライド活性は EM201, EM522, EM574 が強く、血球の増殖・分化誘導作用は CAM, EM201, EM522, EM574 が強く、また上皮の IL-8 産生抑制作用は CAM, EM574 が、水分分泌に対する抑制作用は EM201, EM522 が強い傾向にあり、それぞれの「活性と構造」は独立した傾向があった。【結語】 以上の結果から、今回用いられた薬剤試験法はそれぞれの薬剤の構造と活性の解明に有用な実験系と考えられ、今後、創薬の過程において重要な試験法となる可能性を秘めている。

Correlation between structure and various activities of 14-membered macrolides

Arata Azuma, Shoji Kudoh

The Fourth Department of Internal Medicine, Nippon Medical School

【Aim】 Anti-inflammatory activities of 14-membered macrolides such as erythromycin has been evaluated not only in the clinical state, but also in basic research. However, precise correlation between the anti-inflammatory activities and its structure has not been clarified yet. In the present study, we investigated the motilide activity, several actions for blood cells, and for epithelial cells using analoges of erythromycin (EM): clarythromycin (CAM), EM201, EM522, EM574, and rokitamycin (RKM) as a 16-membered macrolide. 【Methods】 human PBMC (T cells and monocyte) were used for proliferation and differentiation assays respectively. BEAS-2B; human epithelial cell lines were used for the assay of macrolides on production of interleukin-8. And we examined the macrolides on mucin production on human and cat's nasal epithelial cells. On the proliferation assay, human peripheral blood lymphocytes (PBL) were incubated with macrolides, then its number was counted. 【Results】 Motilide activities of EM201, EM522, and EM574 were more strong. Differentiation and/or proliferation of PBL were more inducible in the co-incubation with CAM, EM201, EM522, or EM574. Inhibitory effect of IL-8 production in epithelial cells was strongest under co-incubation with CAM or EM574. Water secretion in epithelial cells inhibited most effectively by EM201, EM522. These effects tended to be dependent on different structure of macrolides.

【Conclusion】 Assays used in this study will be useful for the evaluation of new actions of macrolide with different structure. In the way of newly developing drugs, these assays will be very important strategies in near future.