

- inhibitor of transforming growth factor-beta protects against scarring in experimental kidney disease. *Nature* 360: 361-4, 1992.
- 15) Isaka Y, Brees DK, Ikegaya K, Kaneda Y, Imai E, Noble NA, Border WA. Gene therapy by skeletal muscle expression of decorin prevents fibrotic disease in rat kidney. *Nat Med* 2: 418-23, 1996.
- 16) Giri SN, Hyde DM, Braun RK, Gaarde W, Harper JR, Pierschbacher MD. Antifibrotic effect of decorin in a bleomycin hamster model of lung fibrosis. *Biochem Pharmacol* 54: 1205-16, 1997.

# 間質性肺炎における Cyclosporin A の治療効果の検討

大谷 義夫<sup>1</sup> 澤田めぐみ<sup>1</sup> 海野 剛<sup>1</sup> 稲瀬 直彦<sup>1</sup>  
三宅 修司<sup>1</sup> 吉澤 靖之<sup>1\*</sup> 田口 善夫<sup>2\*\*</sup> 井上 哲郎<sup>2</sup>

特発性間質性肺炎 (IIP) や一部の膠原病肺では、副腎ス剤、CPA、AZP などの免疫抑制剤の効果は不十分である。1993 年以降、IIP、膠原病肺症例で CYA を投与した症例のうち、急性悪化例 (IIP6 例, RA2 例, DM10 例)、慢性進行型活動性例 (IIP17 例, RA4 例, DM1 例, PSS3 例, SjS1 例) について retrospective に検討した。CYA は 100 ~ 200mg/日 で開始し、血中トラフ値 100 ~ 150ng/ml で維持した。PSL, CPA, AZP などで反応しない膠原病急速進行性間質性肺炎例の一部で CYA 投与により救命できた。膠原病急速進行性間質性肺炎の生存群は、死亡群に比べ CYA 投与時 PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> が高値を示し、病初期からの CYA 併用の必要性が示唆された。慢性進行型活動性例でも、CYA 単独治療で、IIP では 8 例中 4 例で、膠原病肺では 2 例中 2 例で有効例を認め、高齢者や糖尿病、骨粗しょう症などの合併患者に対して検討すべき治療と思われた。

## Cyclosporin A Combined with Corticosteroids in the Treatment of Acute Exacerbation of Idiopathic Interstitial pneumonia

Yoshio Ohtani<sup>1</sup>, Megumi Sawada<sup>1</sup>, Tsuyoshi Umino<sup>1</sup>, Naohiko Inase<sup>1</sup>  
Shuji Miyake<sup>1</sup>, Yasuyuki Yoshizawa<sup>1</sup>, Yoshio Taguchi<sup>2</sup>, and Tetsurou Inoue<sup>2</sup>

<sup>1</sup> The Pulmonary Medicine, Tokyo Medical and Dental University.

<sup>2</sup> Department of respiratory medicine, Tenri Hospital.

Idiopathic interstitial pneumonia (IIP) is usually a progressive and ultimately a fatal disease, with survival averaging 4 to 5 years. Although the disease is chronic in nature, acute exacerbation occurs in some patients with IIP. Rapidly progressive interstitial pneumonia (RPIP) occurs as a primary disease process or can occur following dose reduction of steroids in collagen vascular diseases (CVD). These diseases are frequently refractory to treatment with steroids.

To determine the efficacy of cyclosporin A (CYA) on IIP and CVD, we conducted the retrospective study of 6 patients with acute exacerbation of IIP and 12 patients with RPIP in CVD based on medical charts. And we examined 17 patients with IIP and 9 patients with CVD who were gradually deteriorating.

CYA was administered following the initiation of steroids and other cytotoxic drugs in the patients with acute exacerbation of IIP and RPIP in CVD. Four of the 6 patients with acute exacerbation of IIP and 2 of the 2 patients with RPIP in RA and 3 of the 10 patients with RPIP in DM have survived. The ratio of PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> at the initiation of CYA was significantly different between the survivors and the non survivors (217.5 ± 41.5 mmHg vs 82.5 ± 15.3 mmHg) in RPIP in CVD. In the patients with IIP and the patients with CVD who were gradually deteriorating, 4 of the 7 IIP patients treated with steroids and CYA, 4 of the 8 IIP patients treated with CYA, 4 of the 4 CVD patients treated with steroids and CYA, and 2 of the 2 CVD patients treated with CYA were judged as effective.

CYA seems to be beneficial when it is used at an early stage of RPIP in CVD. CYA without steroids was effective in the patients with IIP and the patients with CVD who were gradually deteriorating and seems to be beneficial in the patients with old age, diabetes mellitus and osteoporosis. Prospective studies are required to confirm these results and to determine the most effective treatment regimen.



	生存	死亡
IIP (N=6)	4/6	2/6
RA (N=2)	2/2	0/2
DM (N=10)	3/10	7/10
計 (N=18)	9/18	9/18

表3 結果 (I)-IIP 急性増悪, CVD 急速進行性肺炎例

CVD	生存群(N=5)	死亡群(N=7)	p-value
年齢	54.6±7.2	53.4±5.0	N.S.
発症からCYA投与までの期間(月)	17.6±7.5	23.0±10.9	N.S.
CRP(入院時) (mg/dl)	6.6±4.5	2.5±1.7	N.S.
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> (入院時)	252.6±33.9	212.1±25.5	N.S.
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> (CYA投与時)	217.5±41.5	82.5±15.3	< 0.05

表4 結果 (II)-CVD 急速進行性肺炎例の検討

(2) IIP および膠原病肺慢性型活動性例の検討 (表5)

慢性型活動性例の検討では, 不明例を除いて, CYA 単独投与群と CYA +PSL 併用群とを比較検討した. IIP では CYA+PSL 併用群 7 例中 4 例, CYA 単独投与群 8 例中 4 例で有効だった. 膠原病肺では CYA+PSL 併用群で 4 例とも, CYA 単独投与群で 2 例とも有効だった.

	IIP		CVD	
	CYA+PSL (N=7)	CYA単独 (N=8)	CYA+PSL (N=4)	CYA単独 (N=2)
有効	4/7	4/8	4/4	2/2
無効	3/7	4/8	0/4	0/2

表5 結果 (III)-CYA 単独投与群と CYA+PSL 併用群の比較検討

(3) 副作用

今回対象とした症例では, 肝障害を 3 例に認めたが, CYA の血中濃度を減らすことで軽快し継続治療できた. その他, 副作用のため投与中止となり, 対象から除外しなければならなくなった症例は 3 例存在し, 腎障害, 食欲不振, 多毛がその原因であった.

考案と結論

治療抵抗性で発症後の致死率が高いといわれている慢性型 IIP の急性増悪例で, ステロイドと CYA の併用療法により, 救命できた症例を経験した. また, PSL, CPA, AZP などの治療で反応しない膠原病急速進行性肺炎例の一部

で CYA 投与により救命できた症例を経験した. 膠原病急速進行性肺炎の生存群では死亡群に比べ, CYA 投与時 PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> が高値を示し, 病初期からの CYA 併用の有効性が示唆された. 間質性肺炎慢性活動性例では, CYA 単独治療での有効例を認め, 高齢者や糖尿病, 骨粗しょう症などの合併患者に対して検討すべき治療のひとつと考えられた.

今回は, IIP, 膠原病肺症例で CYA を投与した症例のうち, 急性悪化例, 慢性進行型活動性例について retrospective に検討したものである. DM, RA に合併した急速進行性間質性肺炎の治療における CYA の有効性に関する報告は認められるが<sup>3-5)</sup>, prospective な臨床研究はない. IIP 急性増悪, 膠原病急速進行性間質性肺炎例では, m-PSL のパルス療法を初期治療として早期に CYA を併用する PSL+CYA の多施設共同臨床試験が必要と思われる. 治験プロトコルは, ステロイドパルス療法を主体にした初期治療に, 出来る限り早期, 少なくとも PSL 減量前に CYA の併用を行うものとする. この場合 CYA は 2.0mg/kg/ 日の投与から開始し, 血中トラフ値を今回検討した症例と同じく, 100-150ng/ml 程度に維持するのが適当と考えられる. また, IIP 慢性期における CYA による治療に関する報告も散見されるが<sup>6-9)</sup>, 有効性の是非を結論できるほどのまとまった報告はない. 慢性進行型活動性例では, PSL+CYA と CYA 単独の比較検討試験を prospective に臨床試験として行う必要があるものと思われる.

参考文献

- 1) 塚本克紀, 千田金吾, 早川啓史, 佐藤篤彦, 中島康雄, 土井 修, 山口哲生, 田口善夫: 急性増悪を呈した特発性間質性肺炎(慢性型)の臨床像の検討. 日胸学会誌 1997; 35: 744-754.
- 2) Kondoh Y, Taniguchi H, Kawabata Y, Yokoi T, Suzuki K, Takagi K: Acute exacerbation in idiopathic pulmonary fibrosis. Analysis of clinical and pathologic findings in three cases. Chest 1993; 103: 1808-1812.
- 3) Gruhn WB, Diaz BJ: Cyclosporine treatment of steroid resistant interstitial pneumonitis associated with dermatomyositis/polymyositis. J Rheumatol 1987; 14: 1045-1047.
- 4) Alegre J, Teran J, Alvarez B, Viejo JL: Successful use of cyclosporine for the treatment of aggressive pulmonary fibrosis in a patient with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1990; 33: 1594-1596.
- 5) 安藤聡一郎, 小林茂人, 山中健太郎, 高崎芳成, 橋本博史: シクロスポリンの併用が有効と考えられた多発性筋炎に合併した間質性肺炎の 2 症例. リウマ

- チ 1995; 35: 95-99.
- 6) Alton EW, Johnson M, Turner WM: Advanced cryptogenic fibrosing alveolitis: preliminary report on treatment with cyclosporin A. *Respir Med* 1989; 83: 277-279.
- 7) Moolman JA, Bardin PG, Rossouw DJ, Joubert JR: Cyclosporin as a treatment for interstitial lung disease of unknown aetiology. *Thorax* 1991; 46: 592-595.
- 8) Venuta F, Rendina EA, Ciriaco P, De Giacomo T, Pompeo E, Bachetoni A, Ricci C: Efficacy of cyclosporine to reduce steroids in patients with idiopathic pulmonary fibrosis before lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12: 909-914.
- 9) Fukazawa M, Kawano M, Hisano S, Ueda K, Matsuba K: Efficacy of cyclosporin A for idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur J Pediatr* 1990; 149: 441-442.

# 特発性間質性肺炎急性増悪に対する Cyclosporin A, 副腎皮質ステロイド併用療法の試み

澤田めぐみ 大谷 義夫 海野 剛 稲瀬 直彦  
三宅 修司 吉澤 靖之\*

特発性間質性肺炎の急性増悪に対しては新たな治療法の開発が望まれていることから、今回、副腎皮質ステロイド、Cyclosporin A (CYA) 併用療法の治療効果を検討した。現在まで7例で検討を行い、うち4人が生存中である。CYA投与群ではステロイド減量中の再増悪は認められていない。一方、関連施設でCYAを使用せず治療された例は全例が急性増悪から15ヶ月以内に死亡している。これまでのところCYA単独での治療効果は明らかではないが、更に検討を進めていく必要があると考えられる。

## Cyclosporin A Combined with Corticosteroids in the Treatment of Acute Exacerbation of Idiopathic Interstitial Pneumonia

Megumi Sawada, Yoshio Ohtani, Tsuyoshi Umino, Shuji Miyake  
Naohiko Inase and Yasuyuki Yoshizawa

*The Pulmonary Medicine, Tokyo Medical and Dental University*

Although idiopathic interstitial pneumonia (IIP) is a slowly progressive disease, acute exacerbation occurs in some patients with IIP. The treatment for this form of the disease is not established. To assess our 5-year experience of treatment for acute exacerbation of IPF with Cyclosporin A (CYA) combined with corticosteroids, we reviewed 7 patients with typical clinical features of the disease who were treated with CYA. The clinical course of 6 patients who were treated without CYA at the affiliated hospitals was also evaluated as a control. All 6 patients not treated with CYA died within 15 months after the onset of acute exacerbation. Four of these patients responded well to steroid pulse therapy, but their condition deteriorated again while tapering the prednisolone dose. Of the 7 patients treated with CYA, 4 have survived for 52, 36, 12 and 2 months, respectively; 2 did not respond to pulse therapy and died within 2 weeks after initiating treatment with CYA. No patient had re-exacerbation while receiving CYA. The present retrospective study suggests that treatment with CYA resulted in longer survival when compared with historical series using only corticosteroids. CYA seems to prevent re-exacerbation and help in obtaining a long survival. Prospective studies are required to confirm these results and to determine the most effective treatment regimen.

はじめに

特発性間質性肺炎(以下 IIP)は予後不良の疾患であり、なかでも急性増悪は特に治療に抵抗性の病態である。現在のところ経験的にステロイドパルス療法などが試みられているが、その有効性には不明の点もまだ多く残されている。

一方、IIP に類似の病態に膠原病肺があるが、近年、膠原病肺の一部で、Cyclosporin A<sup>1)</sup>(以下 CYA)の有効例が散見される<sup>2-4)</sup>。また IIP についても少数ながら CYA 投与の報告が認められる<sup>5-7)</sup>。そこで、当科では 1995 年より IIP の急性増悪に対し、副腎皮質ステロイドに加え CYA を投与し、その治療効果を検討してきた。そこで今回はこれまでの当科での治療成績を報告するとともに、今後のプロトコールの試案を提示する。

対象と方法

(1)対象

対象は 1995 年以降当科で IIP の急性増悪と診断された 7 例で、全例がステロイドに CYA を併用して治療を施行されている。また同時期、関連施設で CYA を使用せず加療のすすめられた急性増悪症例 6 例をコントロールとした。

(2)治療効果の判定

治療効果の判定に当たっては、①Hugh-Jones Score で 1 段階以上の改善、②胸部レントゲン所見の改善、③動脈血酸素分圧ないし PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio の 10% 以上の改善のうち、2 項目以上の改善が認められた例を改善例、2 項目以上同等の悪化が認められた例を悪化例、その他を不変とした。

結果と考察

(1)CYA 非投与群の経過

CYA を使用せずに治療の施行された 6 例の患者背景を表に示す(表 1)。これらの症例は全例がステロイド単独、ないしはエンドキサンプルス療法の併用により治療されている。

CYA 非投与群でも 6 例中 4 例はステロイドパルス療法を中心とした初期治療により改善を認めているが、その後のステロイドの減量に伴い、再度増悪を来している。このため結局は、6 例中 4 例が治療開始 2 ヶ月以内で、また全例が治療開始 15 ヶ月以内で死亡した。これは従来の報告とほぼ同様の結果である(表 2)<sup>8)</sup>。

年齢/性別	Hugh-Jones score		前治療	急性増悪時の検査所見			
	(急性増悪前後)			PaO <sub>2</sub> (mmHg)	CRP (mg/dl)	%VC (%)	DLco (%)
1 75/F	III/V	PSL 7.5 mg/day	56 (FiO <sub>2</sub> 27%)(2+)	nd	nd		
2 65/M	III/IV	(-)	61	0.2	29.3	26.8	
3 87/M	III/V	(-)	41.7	11.4	nd	nd	
4 73/M	I/III	(-)	57	1.4	77.2	63.7	
5 63/M	I/IV	(-)	46	(2+)	nd	nd	
6 63/M	I/V	(-)	42	13.0	nd	nd	

表 1 CYA 非投与群の患者背景

症例	初期治療に対する反応	再増悪		再増悪後の治療に対する反応	転帰
		有無	急性増悪からの時期		
1	改善	(+)	1ヶ月	30	悪化 6週間で死亡
2	改善	(+)	1ヶ月	50	悪化 6週間で死亡
3	改善	(+)	14ヶ月	30	悪化 15ヶ月で死亡
4	改善	(+)	2ヶ月	30	悪化 5ヶ月で死亡
5	悪化	(-)			6週間で死亡
6	悪化	(-)			2週間で死亡

表 2 CYA 非投与群の経過

(2)CYA 投与群の経過

ステロイドに加え CYA が投与された 7 例の症例の患者背景を表に示す(表 3)。症例 7-10 が生存群、11-13 が死亡群である。7 例の年齢は 63.7 ± 3.0 歳、急性増悪時の PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio は 252.3 ± 75.0 と、CYA 非投与群の年齢 (71.0 ± 3.8 歳)、PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio (227.2 ± 33.2) と有意差は認められなかった。

年齢/性別	Hugh-Jones score	(急性増悪前後) PaO <sub>2</sub> (mmHg)	急性増悪時の検査所見					
			CRP (mg/dl)	%VC (%)	DLco (%)	BAL		KL-6 (U/ml)
						neu. (%)	lym. (%)	
7 68/M	V/II	48	11.1	nd	nd	nd	nd	1960
8 77/F	V/III	41 (FiO <sub>2</sub> 29%)	10.3	nd	nd	nd	nd	nd
9 59/F	I/III	55	7.5	69.5	34.7	22	16	2560
10 59/M	I/III	67	4.4	nd	nd	1.6	16.1	452
11 53/M	I/III	78.2	0.3	72.9	55.6	40	45	nd
12 63/F	II/IV	83 (FiO <sub>2</sub> 37%)	10.0	nd	nd	nd	nd	4447
13 67/M	II/IV	46	26.1	nd	nd	49.8	4.1	1445

表 3 CYA 投与群の患者背景

CYA 投与群では、全例でまず初期治療としてステロイドパルス療法が施行され、その後 0.5-1.0mg/kg/日のプレドニゾロン内服が開始された。一部の症例ではエンドキサンプルス療法も併用された。CYA は 1.5-2.0mg/kg/day、朝夕分 2 の経口投与から開始され、トラフ値が 100-150ng/ml 程度になるよう調節された。

CYA 投与群も CYA 非投与群と同様、半数以上の症例でステロイドの初期治療による改善が認められた。また CYA の投与が開始された後、これらの症例ではさらに自覚症状、胸部レントゲン所見ないし血液ガス所見

の改善を示した(表4)。CYA非投与群ではステロイド減量に伴い再増悪が認められていたが、CYA投与群では再増悪は認められず、ステロイドは順調に減量され、4例が急性増悪後最長52ヵ月に渡り生存中である。症例11ではCYA開始前はステロイド減量に伴い血液ガス所見の悪化が認められたため、ステロイド減量が困難な状況であったが、CYA開始後は減量が可能となった。ただしこの症例では経過中、ウイルス性脳炎を合併したためCYAが中止され、その15ヵ月後再増悪をきたし死亡した。

症例	初期治療に対する反応	CYA投与開始時		CYAに対する反応	転帰
		急性増悪からの期間	PSL投与量 (mg/day)		
7	悪化	1週間	40	改善	2ヵ月生存
8	改善	3週間	45	改善	12ヵ月生存
9	改善	3ヶ月	25	改善	52ヶ月生存
10	改善	1ヶ月	50	改善	36ヶ月生存
11	改善	5ヶ月	30	改善	29ヶ月で死亡*
12	不変	2ヶ月	40	悪化	2ヶ月で死亡
13	悪化	2週間	60	悪化	1ヶ月で死亡

\*CYA投与中止後に再増悪で死亡

表4 CYA投与群の経過

CYA投与群のうち症例7, 12, 13の3例では、ステロイドによる初期治療に対する治療効果は不変ないし悪化であった。これらの症例のうち比較的早期にCYAが開始された症例7では、CYA開始から約2週間で動脈血液ガス所見、胸部レントゲン所見の改善など病勢の安定化が得られ、ステロイドの減量が可能となった。しかし、症例12-13はCYA開始後、1-2週間と短期の経過で死亡の転帰をとり、CYAの効果は正確には不明の状況であった。

以上より、両群の生存曲線は図1の通りで、CYA使用群で長期の生存が得られていることが明らかとなった (p<0.05)。

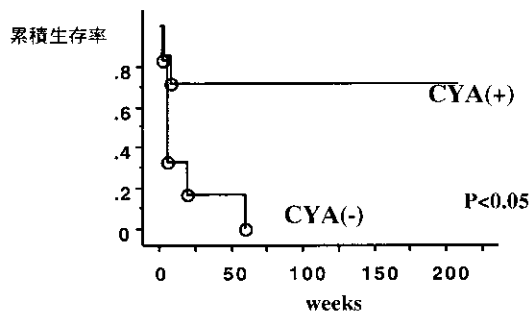


図1 CYA投与の有無による生存曲線

(3)CYA投与群の PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio の変化

前述の通り、多くの症例は初期治療に反応し、CYA投与開始時、既に PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio の改善を示していたが、CYA開始後はさらに PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio が改善した。12ヵ

月が経過するとステロイド、CYA減量の影響か PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio はやや低下する傾向にあったが、なお急性増悪時より高値を維持していた。(図2)

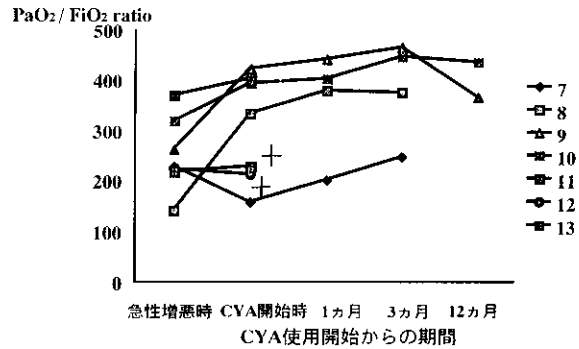


図2 CYA投与群の PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio の変化

(4)副作用

CYA投与による副作用としては、症例8で肺結核を、症例11でウイルス性脳炎の合併を認め、後者ではCYA投与がその時点で中止された。しかし日和見感染はステロイドの副作用の一つでもあり、CYA単独との関連は不明と言える。また多くの症例で高血圧を認めたが、これもステロイド単独の使用でも高率に認められる所見であり、全て降圧剤で良好にコントロールされた。なお、CYAの使用でしばしば問題となる腎機能障害は今回認められず、トラフ値 100-150ng/ml 程度に維持する限りCYAは腎機能の面では比較的 safely 長期使用できるものと考えられた。

(5)CYA、副腎皮質ステロイド併用療法の多施設共同治験試案

ステロイドパルス療法をはじめとする副腎皮質ステロイドの投与は、少なくとも急性増悪初期にはある程度改善効果を示す。しかし減量の過程で再度増悪を来す例の多いことも、これまでの報告や今回のCYA非使用群の経過より明らかである。また長期大量のステロイド投与は日和見感染などを併発して必ずしも良好な長期予後につながらず、臨床家としてはその使用に苦慮するところが多々ある。今回の検討では、CYAの併用によりステロイド減量に伴う再増悪を防ぎうる可能性が示唆された。

そこで来年度はCYA、副腎皮質ステロイド併用療法の多施設共同治験を予定している。今回の成績をふまえて治験プロトコルは、ステロイドパルス療法を主体にした初期治療に、出来る限り早期、少なくともプレドニゾロン減量前にCYAの併用を行う。この場合CYAは2.0mg/kg/日を朝夕分2の投与から開始し、血中トラフ値を今回検討した症例と同じく、100-150ng/ml程度に維持するのが適当と考えられる。



一方、急性増悪症例には初期のステロイドパルス療法への反応が乏しく、急激に呼吸不全の進行する例も存在している。今回報告したCYAによる治療が、その効果の発現まで1-2週間を要していることから、このような重症例にはより早期のCYA使用を検討すべきと考えられた。またベーチェット病における治療指針にならい、4-7mg/kgという比較的高用量から投与を開始することも検討に値すると考えている。

#### まとめ

特発性間質性肺炎急性増悪の治療に当たり、これまで当科及び関連施設で経験されたCYA使用例の成績を検討するとともに、今後の治療プロトコルの試案を提示した。

#### 参考文献

- 1) Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stahelin H: Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 1976; 6: 468-475.
- 2) Ando S, Kobayashi S, Yamanaka K, Takasaki Y, Hashimoto H: Successful combination therapy of cyclosporine and steroids in two cases with interstitial pneumonitis associated with polymyositis. *Ryumachi* 1995; 35: 95-99. (in Japanese with English Abstract)
- 3) Gruhn WB, Diaz BJ: Cyclosporine treatment of steroid resistant interstitial pneumonitis associated with dermatomyositis/polymyositis. *J Rheumatol* 1987; 14: 1045-1047.
- 4) Alegre J, Teran J, Alvarez B, Viejo JL: Successful use of cyclosporine for the treatment of aggressive pulmonary fibrosis in a patient with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 1594-1596.
- 5) Venuta F, Rendina EA, Ciriaco P, De Giacomo T, Pompeo E, Bachetoni A, Ricci C: Efficacy of cyclosporine to reduce steroids in patients with idiopathic pulmonary fibrosis before lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12: 909-14.
- 6) Moolman JA, Bardin PG, Rossouw DJ, Joubert JR: Cyclosporin as a treatment for interstitial lung disease of unknown aetiology. *Thorax* 1991; 46: 592-595.
- 7) Alton EW, Johnson M, Turner WM: Advanced cryptogenic fibrosing alveolitis: preliminary report on treatment with cyclosporin A. *Respir Med* 1989; 83: 277-279.
- 8) Yoshimura K, Nakatani T, Nakamori Y, Choumabayashi N, Tachibana A, Nakata K, Okano H, Tanimoto S: Acute exacerbation in idiopathic interstitial pneumonia. *Nippon Kyoubu Shikkann Gakkai Zasshi Japanese Journal of Thoracic Diseases* 1984; 22: 1012-1020. (in Japanese with English Abstract)
- 9) Kennedy MS, Yee GC, Mcguire TR, Leonard TM, Crowley JJ, Deeg HJ: Correlation of serum cyclosporine concentration with renal dysfunction in marrow transplant recipients. *Transplantation* 1985; 40: 249-253.

# びまん性汎細気管支炎

# DPB の治療ガイドライン 最終案報告

中田紘一郎<sup>1\*</sup> 田口 善夫<sup>2\*\*</sup> 工藤 翔二<sup>3\*\*\*</sup>

## びまん性汎細気管支炎(DPB)に対するマクロライド療法の治療指針(最終案)

DPB の治療方針は平成 10 年度に策定されたが今後、診断基準、重症度分類、胸部 X 線写真および胸部 CT のモデルフィルムなどと共にまとめて収録し、広く普及させる必要がある。

DPB の共同研究を行った韓国、中国からの要望もあるので海外への普及も意識し、今回文言や表現に若干の訂正を行った。

主な訂正点は以下の通り

- ①マクロライド薬のうち 16 員環マクロライド薬は無効である事を明記し、EM 無効症例では 14 員環ニューマクロライド薬を選択するよう修正した。
- ②効果判定の 1. 「最低 6 ヶ月は投与してその臨床効果を確認する.」を「最低 6 ヶ月は投与してその臨床効果を判定する.」に訂正した。
- ③治療期間の 2. 「通算 2 年間で中止する.」を「通算 2 年間で終了する.」に訂正した。
- ④治療期間の 4. 「進行例では可能な限り継続投与する.」は無効であっても投与を継続すると誤解を受けやすいので、「進行例で有効な場合は、2 年間に限ることなく継続投与する.」に改めた。
- ⑤付記 2. クラリスロマイシンおよびロキシスロマイシンの投与法を「分 1 または 2 経口投与」と追加記載した。

1. 虎の門病院呼吸器科
2. 天理よろづ相談所病院別所分院
3. 日本医科大学第四内科

\* びまん性肺疾患研究班 分担研究者  
\*\*                   〃                   研究協力者  
\*\*\*                  〃                   主任研究者

## びまん性汎細気管支炎(DPB)に対するマクロライド療法の治療指針(最終案)

2000 年 1 月 29 日

マクロライド少量療法は DPB に対する基本療法であり、早期の症例ほどより高い臨床効果が得られる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。なおマクロライド薬のうち、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判定する。
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) 程度になれば、通算 2 年間の投与で終了する。
3. 終了後症状の再燃がみられれば、再投与が必要である。
4. 広汎な細気管支拡張や呼吸不全を伴う進行症例で有効な場合は、通算 2 年間に限ることなく継続投与する。

### (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 PaO<sub>2</sub> は 70 ~ 79Torr で、呼吸器症状のため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 PaO<sub>2</sub> は 80Torr 以上、日常生活に支障なし。
2. マクロライド薬のうち、現在までに本症に対する有効性が確認されているのは 14 員環マクロライド薬であり、16 員環マクロライド薬は無効である。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、14 員環ニューマクロライド薬の投与を試みる。

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

# DPB にたいするニューマクロライド療法の副作用調査報告

田口 善夫<sup>1\*</sup> 中田絃一郎<sup>2\*\*</sup> 工藤 翔二<sup>3\*\*\*</sup>

DPB のニューマクロライド(以下 newMLs)療法について副作用調査を行った。方法は newMLs 療法の副作用調査用紙を DPB をめぐる研究会の名簿を参考にして 89 施設にアンケート用紙を送付し、郵送にて回収した。結果は回収率は 51.7% (46/89) で、newMLs 療法を行っていない 3 施設を除いた 43 施設で検討した。副作用ありは 41.9% (18/43) であった。副作用内容は胃腸障害 15 施設、肝障害 6 施設、皮疹 2 施設、過敏症 1 施設、その他 2 施設であった。いずれの症例においても newMLs 剤の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。併用薬で問題となった薬剤はテオフィリンであり 3 施設からの報告があった。悪性腫瘍の発症については 3 施設からの回答があったが関連性は明らかではなかった。DPB にたいする newMLs 療法も EM 療法と同様に安全な治療方法と考えられた。

## A report of the results of questionnaire about side effects of new macrolides therapy for diffuse panbronchiolitis

Yoshio Taguchi<sup>1</sup>, Koichiro Nakata<sup>2</sup>, Shoji Kdoh<sup>3</sup>

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

The efficacy of Erythromycin (EM) therapy for diffuse panbronchiolitis (DPB) has been established with double blind studies performed by a working group of doctors for the diffuse pulmonary disease under the control of Japanese Ministry of Health and Welfare. Although last year we reported the results of questionnaire about side effects of EM, side effects of new macrolides (MLs) therapy for DPB were not remarkable. This report was the results of questionnaires about side effects and complicated malignancy of newMLs, ie clarithromycin (CAM) and Roxithromycin (RXM), therapy for DPB were mailed to 89 facilities of the study club about DPB. Forty-six facilities (51.9%) answered the questions. Side effects were seen in 18 facilities, including GI disturbance (15), hepatic disturbance (6), skin eruption (2), hypersensitivity (1), and others (2). Long term administration of newMLs is generally accepted for the secondary treatment of DPB. Side effects were observed infrequently than expected. Although the incidence of the side effects is not so high, side effects of newMLs should be investigated fully, especially being used with other medicine. On the other hand, malignant disease were seen in 3 facilities, including leukemia (1), gall-bladder cancer (1), and gastric cancer (1). There were no remarkable relationships between newMLs therapy and malignancies.



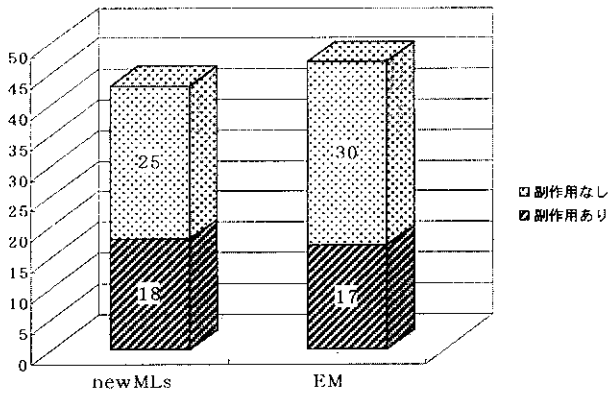


図3 newMLs と EM 療法での副作用の有無

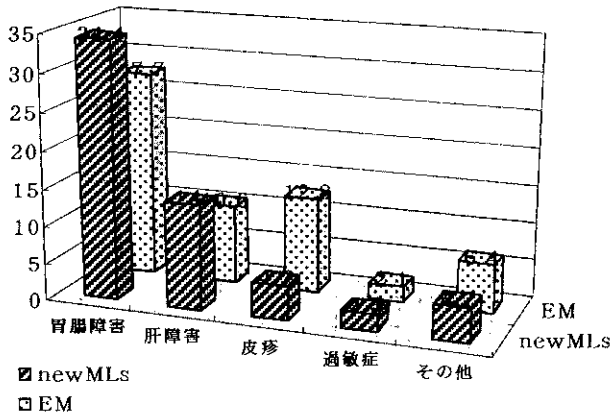


図4 newMLs と EM 療法での副作用内容の比較

EM 療法の副作用調査<sup>6)</sup>との比較を示すが、回収率(図2)、副作用頻度(図3)、副作用報告内容(図4)についていずれもほぼ同様の結果であった。

考案

NewMLs 療法は抗菌作用の強いCAMやRXMを長期投与する治療法であり、耐性菌の問題、コストの問題などから診断指針にもあるようにあくまでもEM療法が無効である場合または副作用で使用できない場合に限りて使用するべきである。また今回のアンケート調査でも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ておりNewMLs療法はEM療法と同様に安全な治療法と考えられた。

残された課題としてはマクロライド療法による耐性菌の問題があり、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, 日胸痰会誌(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 巖, 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, 中田紘一郎, 工藤翔二:DPB の治療指針策定とマクロライド療法の副作用調査報告, 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10年度報告書, p112-115, 1999.
- 5) 田口善夫, 中田紘一郎, 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, p20-22, 1998.

# びまん性汎細気管支炎の疾患感受性遺伝子座の推定

慶長 直人<sup>1\*</sup> 徳永 勝士<sup>2</sup> 江見 充<sup>3</sup> 大石 展也<sup>1</sup>  
松瀬 健<sup>4</sup> 石井 健男<sup>4</sup> 中田紘一郎<sup>5\*\*</sup> 田口 善夫<sup>6\*</sup>  
吾妻安良太<sup>7</sup> 工藤 翔二<sup>7\*\*\*</sup>

びまん性汎細気管支炎(DPB)は昨年度までの一連の検討により HLA-A, -B 遺伝子座間に主要な疾患感受性遺伝子が存在する可能性が示唆される。そこでその候補領域を明確にする目的で、本年度は、昨年度の検討に用いた6種類のマーカーを含む計14種類の遺伝的マーカーを利用したハプロタイプ解析と関連分析を試みた。その結果、HLA-B 座より 300 kb ほどテロメアより (HLA-A 座側) にある約 200 kb の領域に感受性遺伝子が存在する可能性が強く示唆された。現在のところ、この領域に既知の遺伝子は同定されていない。一方、多因子疾患として、HLA に関連しない遺伝子の関与も想定して、白血球の活性酸素産生に働く NADPH/NADH oxidase および白血球の遊走能の増強効果などが知られる Gc-globulin の遺伝子多型についても関連性を検討したが、これらの多型は DPB と有意な関連性を示さなかった。

## Fine localization of a major disease-susceptibility locus for diffuse panbronchiolitis

Naoto Keicho<sup>1</sup>, Katsushi Tokunaga<sup>2</sup>, Mitsuru Emi<sup>3</sup>, Nobuya Ohishi<sup>1</sup>  
Matsuse Takeshi<sup>4</sup>, Takeo Ishii<sup>4</sup>, Koichiro Nakata<sup>5</sup>, Yoshio Taguchi<sup>6</sup>  
Arata Azuma<sup>7</sup>, Shoji Kudoh<sup>7</sup>

1. Department of Respiratory Medicine, University of Tokyo
2. Department of Human Genetics, Graduate School of Medicine, University of Tokyo
3. Department of Molecular Biology, Institute of Gerontology, Nippon Medical School
4. Department of Geriatrics, University of Tokyo
5. Division of Respiratory Diseases, Toranomon Hospital
6. Department of Respiratory Medicine, Teiry Hospital
7. Fourth Department of Internal Medicine, Nippon Medical School

Diffuse panbronchiolitis affecting East Asians is strongly associated with the class I human leukocyte antigen (HLA) alleles. Recent observations suggest a possibility that a major disease-susceptibility gene may be located between HLA-B and HLA-A loci in the class I region of the major histocompatibility complex on chromosome 6. To test this possibility, we have analyzed 14 polymorphic markers in 92 Japanese patients and 93 healthy controls. Of these, seven marker alleles, including HLA-B54 and HLA-A11, were significantly associated with the disease. Maximum likelihood haplotype analysis and subsequent direct determination of individual haplotypes identified a group of disease-associated haplotypes. Another haplotype, containing B\*5504, was also associated with the disease. All these haplotypes demonstrated in this study shared a specific segment containing three consecutive markers between S and TFIID loci in the class I region. Furthermore, one of the markers within the candidate region showed the highest delta value, indicating the strongest association. These results indicate that an HLA-associated major susceptibility gene for diffuse panbronchiolitis is probably located within the 200 kb in the class I region 300 kb telomeric of the HLA-B locus on the chromosome 6p21.3.

はじめに

昨年までの一連の検討により、日本人の DPB 患者集団では HLA-B54 (対立遺伝子型では HLA-B\*5401) の保有頻度が健常者に比べ有意に高いことが再確認され、また韓国人の DPB 患者集団では B54 の代わりに HLA-A11 が DPB と強い関連性を示すことが明らかになった<sup>2)</sup>。この事実は、日本人、韓国人の人類遺伝学上の近縁性を考慮すると、未知の DPB 感受性遺伝子座が HLA-A 座と B (C) 座との間に位置し、DPB に感受性を示す遺伝子の変異が HLA-B54-Cw1-A11 を保有する祖先染色体に生じたと考えると無理なく説明できる (図 1)。昨年度はこの仮説に基づいて、該当領域に存在する 6 種類のマイクロサテライトマーカーのタイピングを施行し、m2 の #15 (本年度の検討における C2\_2\_2 の 251 bp のアリルと同義) の近傍に DPB 感受性遺伝子座のひとつが存在する可能性を示した。本年度は、さらに周辺のマイクロサテライトマーカーおよび既知の遺伝子の多型性部位を含む、計 14 種類の遺伝的マーカーのタイピングを行い、感受性遺伝子座の存在すると思われる領域を明確に提示した。また HLA に関連しない遺伝子の関与も想定し、白血球機能に関わる遺伝子の多型性との関連も検討した。

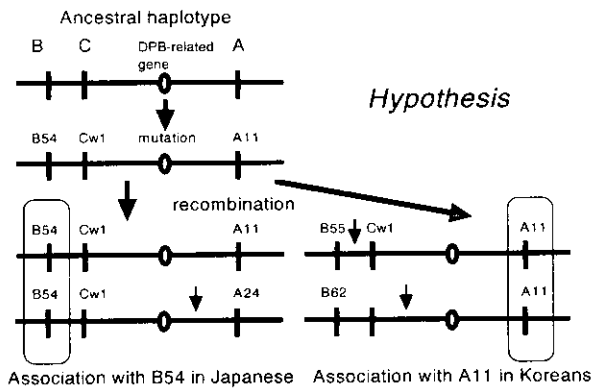


図 1

対象と方法

昨年、一昨年に各施設より提供を受け、1995 年厚生省 班診断基準に基づき DPB と確認された 92 例を疾患群、93 例を対照群とした。また韓国の DPB 患者 20 名の DNA 試料はソウル大学の朴明姫教授より提供を受けた。

HLA-A, B 座間のマイクロサテライトマーカー (C1\_4\_3, C1\_3\_2, C2\_2\_2, C2\_4\_4, C4\_4\_3, C4\_2\_7, C4\_2\_12, C3\_2\_12) の蛍光プライマーセットは東海大学 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 D6S265 は既知のプライマーセットを利用した。各マイクロサテライトマーカーのアリル (対立遺伝子型) は ABI PRISM 377 DNA シークエンサー付属の GeneScan ソフトウェアにより TAMRA-500 をマーカーとして、PCR 産物の長さ (bp) で表記した。

HLA-E および TFI1H 遺伝子の多型は PCR-SSCP 法により検出した。HLA-E 遺伝子の R および G アリルは、それぞれ、エクソン 3 に見られる非同義置換で、Arg-107, Gly-107 を表す。また TFI1H 遺伝子の T および C は 5' 非翻訳領域の一塩基置換を示したものである (AB032121, AB023050)。

NADPH/NADH oxidase のサブユニットである p22phox と Ge-globulin (vitamin D binding protein) の遺伝子多型については、すでに報告されているプライマーセットにより PCR 増幅し、それぞれ RsaI および HaeIII / StyI による消化を行い、RFLP 法によって検出した。

HLA を含むハプロタイプ頻度の推定には第 11 回国際組織適合性ワークショップで報告されたハプロタイプ推定プログラムを利用した。このプログラムは Hardy-Weinberg 平衡の条件下で、最大尤度法により、最大 5 座位までのハプロタイプの推定を行うものである。さらに HLA-B54 (B\*5401) を保有する 9 症例および HLA-B55.2 (B\*5504) を保有する 2 症例は、家系情報より直接ハプロタイプを決定した。

疾患とマーカーの関連解析にはカイ二乗検定およびデルタ統計を、Hardy-Weinberg 平衡の検定には GENEPOP プログラムを用いた。デルタ値はマーカーごとのアリル頻度の依存することが少なく、疾患感受性遺伝子の最も近傍にあるマーカーを探すのに適した統計量であると報告されている。

結 果

1. 疾患と関連性を示すマーカーアリルの抽出

HLA-A, B 間の 14 種類の遺伝的マーカーを解析した結果、患者群で対照群より有意に高頻度に保有されるマーカーアリルは HLA-B54, HLA-Cw1, C1\_4\_3-441, C2\_2\_2-251, C2\_4\_4-231, C4\_2\_12-221, HLA-A11 の 7 つであっ

1. 東京大学呼吸器内科
  2. 東京大学人類遺伝学教室
  3. 日本医科大学老人病研究所
  4. 東京大学老年病科
  5. 虎の門病院呼吸器科
  6. 天理よろづ相談所病院呼吸器内科
  7. 日本医科大学第四内科
- \* びまん性肺疾患研究班 研究協力者  
 \*\*                   "                   分担研究者  
 \*\*\*                  "                   主任研究者



た。

2. 対照群および患者群で推定されるハプロタイプ

1. で得られた7つのマーカーのうちカイ二乗値が最も高かったHLA-B, C2\_2\_2, C2\_4\_4, C4\_2\_12, HLA-Aの5座位で組まれるハプロタイプの頻度を推定した(表1)。その結果, 対照集団では日本人で最も高頻度に見られるHLA-B52-A24, HLA-B44-A33, HLA-B46-A2, HLA-B7-A24, HLA-B54-A24を含むハプロタイプがそれぞれ11.8%, 9.1%, 4.8%, 4.3%, 3.1%と推定された。一方, 患者集団ではHLA-B54-A24を含むハプロタイプ, すなわちHLA-B54-251-231-221-A24(アレル名はHLA-B, C2\_2\_2, C2\_4\_4, C4\_2\_12, HLA-Aの順に記載)が10.9%と第一位に推定され, 対照群では見いだされなかった別の二つのHLA-B54-A11を含むハプロタイプ, すなわちHLA-B54-251-231-243-A11, HLA-B54-251-231-221-A11がそれぞれ4.3%, 3.8%と高頻度に推定された。

Estimation of haplotype frequencies (HF) in controls and patients with diffuse panbronchiolitis

Marker					Controls	Patients
HLA-B	C2.2.2	C2.4.4	C4.2.12	HLA-A	(n=92)	(n=93)
					HF (%)	HF (%)
52-	265-	243-	243-	24	11.8	6.0 ↓
44-	277-	259-	223-	33	9.1	2.2
46-	267-	255-	243-	2	4.8	<1 ↓
7-	251-	231-	223-	24	4.3	7.1 ↑
54-	251-	231-	221-	24	3.1	10.9
54-	251-	231-	243-	11	<1	4.3
54-	251-	231-	221-	11	<1	3.8

表1

3. HLA-B\*5401 および B\*5504 を含むハプロタイプの直接決定

B\*5401 と B\*5504 は分子進化的にきわめて近縁のアレルと考えられ, しかもともにDPB集団では保有率が増加していることが知られている。B\*5401 を含む9症例のハプロタイプはいずれもHLA-B遺伝子座からC4\_4\_3までのアレル(HLA-B54-Cw1-441-360-251-231-246-)を共有していたが, それよりテロメアよりのTFIIHからHLA-Aまではアレルが分かれていた(表2)。一方, B\*5504を含む2症例のハプロタイプはいずれもHLA-B54-251-231-243-A11ハプロタイプとテロメア側は共通であったが, HLA-BからC1\_3\_2までのセントロメア側の領域が異なっていた。したがって, B\*5401 と B\*5504 を含むハプロタイプのすべてに共通する部分は, 第6染色体遺伝子地図上では, S遺伝子とTFIIH遺伝子に挟まれた200 kbの領域に相当する251-231-246(C2\_2\_2, C2\_4\_4, C4\_4\_3)に限られていた。

A shared segment among individual haplotypes containing HLA-B54 and B\*5504

case no.	HLA-B	C1_4_3	C2_2_2	C4_4_3	C4_2_7	HLA-E	D6S265
	HLA-C	C1_3_2	C2_4_4	TFIIH	C4_2_12	C3_2_12	HLA-A
#1	54-	1-441-360-251-231-246-	T-	238-221-	*-	149-	*- 24
#2	54-	1-441-360-251-231-246-	T-	238-221-	R-	183-	8- 24
#3	54-	1-441-360-251-231-246-	T-	238-221-	*-	151-	*- **
#4	54-	1-441-360-251-231-246-	C-	222-221-	G-	151-	*- **
#5	54-	1-441-360-251-231-***	T-	234-243-	G-	129-	8- 11
#6	54-	1-441-360-251-231-246-	T-	234-243-	G-	129-	*- **
#7	54-	1-441-360-251-231-246-	*-	238-221-	R-	129-	7- 11
#8	54-	1-441-360-251-231-246-	C-	228-223-	*-	***-	*- 2
#9	54-	1-441-360-251-231-246-	*-	***- 243-	G-	175-	1- 33
#10	5504-	3-445-342-251-231-246-	T-	234-243-	*-	147-	7- 11
#11	5504-	3-449-342-251-231-246-	T-	234-243-	G-	***-	7- 11

表2

4. 疾患とマーカーの関連性の強さ

疾患感受性ハプロタイプに共通の領域を探すことと平行して, 直接的に疾患とマーカーとの関連性の強さをオッズ比とデルタ値を用いて検討した(図2)。その結果, いずれの統計量もHLA-B座より300 kb テロメアよりのマーカーC2\_4\_4で最大値を取った。このピークは特にデルタ値で高く, 疾患関連ハプロタイプの共有分節として3. で推測された200 kbの領域の中にあつた。

Strength of associations between DPB and 7disease-associated marker alleles

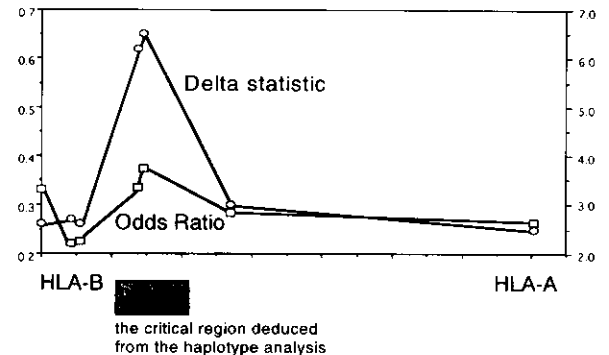


図2

5. 韓国人DPB20症例のタイピング結果

共有分節として推測された領域の中にあるC2\_2\_2-251, C2\_4\_4-231, C4\_4\_3-246をすべて保有する患者が20名中17名あつた。

6. 非HLA領域の候補遺伝子の検討

p22phoxのC242Tの遺伝子多型とGc-globulin(vitamin D binding protein)の遺伝子多型(1F, 1S, 2の3種類のアレル)をPCR-RFLP法で検討したが, いずれの対立遺伝子型も疾患と有意な関連性を示さなかつた。

## 考案・結論

日韓の DPB と HLA class I 遺伝子型との関連分析の結果から推測される仮説である、HLA-A, B 間に DPB 発症に関連する遺伝子が存在し、HLA-B54, A11 を保有する東アジア人の祖先染色体上にその遺伝子の変異が生じた可能性について、本年度は HLA-A, B 遺伝子座間の 14 個の遺伝的マーカーの対立遺伝子型を検討し、HLA-B 座より 300 kb ほどテロメアよりの約 200 kb の領域に DPB 感受性遺伝子が存在する確率が高いことを示した。この領域に既知の遺伝子は報告されていないが、GRAIL や GENSCAN の解析結果から未知の遺伝子がいくつか存在することが予測されるため、それらの座位を中心とした遺伝子変異の検討 (SNPs 解析) を計画している。ただし、DPB は単純な遺伝性疾患ではなく、他の遺伝要因、外的要因が複合して生じるものと推測されるため、同時に他の発症要因についても引き続き検討を進めている。しかしながら非 HLA 領域の候補遺伝子の中で DPB と有意な関連性を示すものは本年度の検討も含め、いまだに見つかっていない。

追記 本研究の発表後、diffuse panbronchiolitis に対して MIM number 604809 が与えられた (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Omim/dispim?604809>)。

## 謝 辞

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をいただきましたことに改めて感謝いたします。マイクロサテライトマーカー解析に関しては、東海大学医学部分子生命科学 2 の山宮 元先生に、各種統計解析につきましては東京大学人類遺伝学教室の大橋 順先生に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) Keicho N, Tokunaga K, Nakata K, Taguchi Y, Azuma A, Bannai M, Emi M, Ohishi N, Yazaki Y, Kudoh S. Contribution of HLA genes to genetic predisposition in diffuse panbronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 158: 846-850, 1998.
- 2) Park MH, Kim YW, Yoon HI, Yoo C-G, Han SK, Shim Y-S, Kim WD. Association of HLA class I antigens with diffuse panbronchiolitis in Korean patients. *Am J Respir Crit Care Med* 159: 526-529, 1999.
- 3) Keicho N, Ohashi J, Tamiya G, Nakata K, Taguchi Y, Azuma A, Ohishi N, Emi M, Park MH, Inoko H, Tokunaga K, Kudoh S. Fine localization of a major disease susceptibility locus for diffuse panbronchiolitis. *Am J Hum Genet* 66: 501-507, 2000.

# 繰り返し気道感染症例の背景因子としての MBL 遺伝子多型の意義

高橋 洋 五味 和紀 三木 誠 海老名雅仁  
渡辺 彰 貫和 敏博\*

オプソニン活性と補体活性化能を有する急性相蛋白 mannose-binding lectin (MBL) の遺伝子には collagen domain の点変異による R52C, G54D, G57Q の3種の variant が存在する。日本人では G54D が人口の約 30% を占める。MBL 本来の3量体形成が阻害されるこれら variant では血中 MBL が早期分解されることから宿主の感染防御能が低下する。我々は再燃性気道感染症例における発症背景因子としての MBL の意義に着目し、成因不明の繰り返し気道感染症例 15 例および健常成人 52 例に関して MBL 遺伝子多型の解析を施行した。患者群では 15 例中の 10 例、66.7% が G54D のヘテロ接合ないしホモ接合となっており、健常対照群の 32.7% と比較して明白に高値を示した。すなわち MBL 遺伝子多型は本邦における繰り返し気道感染症例の発症背景因子としての意義を有するものと考えられた。

## Association of Mannose-Binding Lectin Gene Polymorphism with Recurrent Respiratory infection

Hiroshi Takahashi, Kazunori Gomi, Makoto Miki, Masahito Ebina  
Akira Watanabe, Toshihiro Nukiwa

*Department of Respiratory Oncology and Molecular Medicine, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, Sendai 980-8575, Japan*

Mannose-binding lectin (MBL), an acute phase opsonin produced by the liver, works as an activator of complement cascade as well, and thus is recognized as a key molecule in the second-line innate host defense against a wide variety of pathogens. A low serum concentration of MBL caused by insufficient triplet formation due to polymorphisms of the MBL gene is associated with susceptibility to several types of infections. In this study, we assessed polymorphisms of the MBL gene and the serum MBL concentration in 15 Japanese patients suffering from repeated respiratory infections without any apparent immunological disorders. The prevalence of the MBL gene codon 54 mutation in these patients was significantly higher than that in the healthy controls (population frequency 66.7% vs. 32.7%,  $p < 0.05$ , respectively). Furthermore, we demonstrated for the first time that MBL is directly measurable in the BALF from the lung with acute phase pneumonia, despite the fact that MBL transcripts are not detected at the site of lung infection. These data suggest that, while MBL deficiency by itself is not a decisive determinant, leaked MBL molecules collaborate with other defensive factors in the peripheral airspace in acute phase infection, and such a deficiency could result in both functional and structural deterioration in the long term.

## はじめに

innate immunity の重要な構成因子のひとつである mannose-binding lectin (MBL) は、微生物表面のマノースなど糖鎖を認識してオプソニン活性および補体活性化能を発揮する急性相蛋白であり、類似した構造をもつ C 型レクチンの SP-A や SP-D とともにコレクチンファミリーに分類されている<sup>1-4)</sup>。MBL の遺伝子には collagen domain の点変異による R52C, G54D, G57Q の 3 タイプの variant が存在する。日本人を含むアジア系では G54D が中心であり、その頻度は全人口の約 30% を占める。MBL 本来の 3 量体形成が阻害されるこれら variant では、MBL は血中で早期分解され、さらに補体活性化も阻害されることから宿主の感染防御能は潜在的に低下する。近年、髄膜炎や肝炎など各種感染症においてこの variant MBL が発症背景因子として重要であることが報告され<sup>5-9)</sup>、さらに一部の易感染性疾患では予後規定因子としての重要性も注目されている<sup>10)</sup>。

我々は、本研究では呼吸器感染症における MBL の意義に着目し、成因不明の繰り返し気道感染症の背景因子としての MBL 遺伝子多型の重要性を検討した。また同時に、MBL の肺内動態についても気管支肺胞洗浄液 (BALF) を用いた検討を試みた。

## 対象と方法

## 対象症例

1995 年～99 年に反復性呼吸器感染で当科及び関連病院を受診した患者のうちで成因不明の 15 人 (男/女:6/9, 20 才～77 才:平均 51.5 才) を対象とした。これら症例の感染時の主な起病菌は *S. pneumoniae* や *H. influenzae* など一般的な市中感染病原菌であった。陳旧性肺結核など先行する器質的疾患を有する症例は検討に加え、また低ガンマグロブリン血症などの易感染性因子の併発が判明した症例も検討から除外した。52 人の健常対照群についても同様に MBL 遺伝子多型を検討した。気管支肺胞洗浄液 (BALF) における MBL 値の検討では、5 人の急性期肺炎患者 (カリニ肺炎 3 例, 細菌性肺炎 2 例) と 5 人の健常者の BALF 凍結保存検体を使用した。MBL-mRNA の発現の検討には、肺炎を合併して死亡した 2 症例の剖検肝及び肺検体を使用した。

## MBL 遺伝子多型の解析

各症例の全血から DNA extractor WB kit (NIPPON GENE CO., LTD.) を用いて DNA を抽出し、MBL 遺伝

子 Exon 1 の Codon 52, 54, 57 を含む 298bp の断片を Polymerase chain reaction (PCR) を用いて増幅した。PCR は新規にデザインしたプライマー 1 (5'-CCTTCCCTGAGTTTTCTCAC-3') およびプライマー 2 (5'-ATCAGTCTCCTCATATCCC-3') を用いて、94℃ 60 秒, 60℃ 60 秒, 72℃ 60 秒の条件で 32 サイクル施行した。

これまでの報告では日本人における MBL 遺伝子多型は Codon 54 のみに集中しており、私たちの予備検討でも 54 以外の variant は 1 例も認められなかった。したがって今回の検討では、MBL 遺伝子多型は基本的に Codon 54 の Normal allele を切断する制限酵素 Ban I を用いた RFLP で検索した。反復呼吸器感染の 15 症例に関しては、さらに Exon 1 領域の塩基配列をオートシーケンサー (ABI PRISM 310 Genetic analyzer) を用いて読影解析した。

## 血中および BALF 中 MBL 濃度の測定

反復性呼吸器感染症例における血清 MBL 値は、Sandwich ELISA 法を用いて測定した。BALF 上清は、通常の手順での回収後 -20℃ で保管してあった検体を解凍して使用した。BALF 上清中の MBL 濃度は、原液を用いて血清同様に ELISA 法での直接の測定を試みた。

## 肺および肝における MBL-mRNA の発現

肺炎を併発した剖検症例 2 例の肺および肝組織より ISOGEN solution (NIPPON GENE CO., LTD.) を用いて total RNA を抽出、SUPERSRIPTM Kit (GIBCO BRL) および Oligo (dT) プライマーを用いて cDNA に変換した。続いて MBL 遺伝子 Exon 1 及び Exon 4 に設定したプライマー 3 (5'-ATGTCCCTGTTTCCATCACT-3') およびプライマー 4 (5'-TCGATAGGGAAGTACAGACGG-3') を用いて PCR を行い、MBL-mRNA の発現を検討した。

## 統計学的処理

本文中の統計処理に関しては、 $\chi^2$  test を用いて解析し、 $p < 0.05$  をもって統計学的に有意と判定した。

## 結 果

反復呼吸器感染症例の病像と MBL 遺伝子多型 15 例の反復呼吸器感染症例の病像と MBL 遺伝子多型、血清 MBL 値を表 1 に示す。Ban I RFLP による解析では、15 症例中の 10 例が MBL 遺伝子 Codon 54 の variant であり、このうち 9 例が heterozygous (54W/m), 1 例は homozygous (54m/m) の変異と判定された。MBL 遺伝子 Exon 1 の塩基配列を確認したところ、RFLP の結果と一致しており、また Codon 54 以外の variant は認められなかった。

この 15 例についての血清 MBL 濃度を測定したところ、10 例の variant では全例において血清 MBL 値の低下が確