

Case	Age /Sex	MBL Genotype	Serum MBL (µg/ml)	Onset of Episodes	Bronchi-Ectasis in chest Xp	Chronic Sinusitis	P. aeruginosa Colonization
1	77/F	Wild-type	6.72	Childhood	○	○	○
2	61/F	Wild-type	2.69	Childhood	○	○	
3	49/M	Wild-type	2.62	Childhood			○
4	47/F	Wild-type	6.06	About 20yo.	○	○	
5	38/F	Wild-type	2.19	25yo.	○		○
6	46/F	54 W/m	1.56	Childhood	○		
7	20/M	54 W/m	1.73	14yo.	○	○	○
8	55/F	54 W/m	0.56	17yo.	○	○	○
9	58/F	54 W/m	0.77	About 20yo.	○		○
10	46/M	54 W/m	1.23	About 20yo.	○	○	
11	27/M	54 W/m	0.39	25yo.			
12	66/F	54 W/m	1.40	38yo.			
13	74/M	54 W/m	0.82	About 60yo.	○		
14	65/F	54 W/m	0.29	About 60yo.	○	○	○
15	44/M	54 m/m	0.50	39yo.			

* Normal serum MBL concentration is above 1.0 µg/ml.

Table 1 Clinical characteristics and MBL genotype in patients with recurrent pulmonary infections.

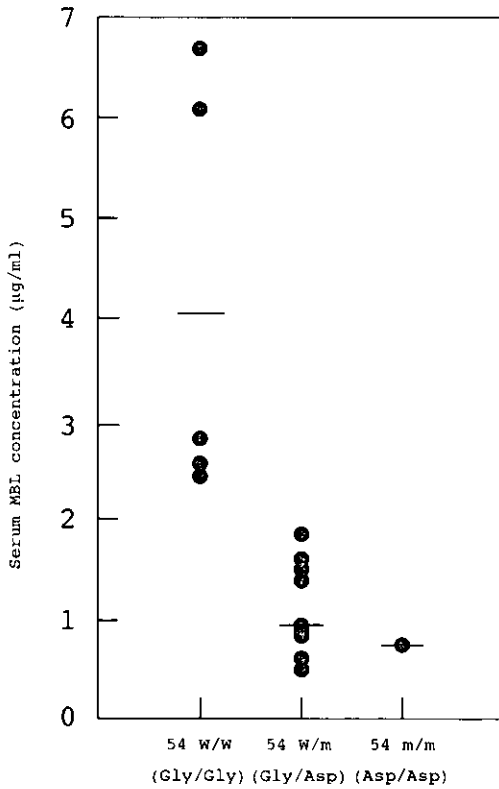


Fig.1 Distributions of serum MBL concentration among carriers of wild-type alleles (54W/W) and mutant alleles (54W/m and 54m/m) at codon 54 of the MBL gene. Serum MBL levels of each patient are plotted as closed circles. Horizontal bars indicate arithmetic mean.

認められた。(Table 1 および Fig.1)

MBL 遺伝子多型と発症年齢や画像所見、緑膿菌の気道定着など臨床像の間には明らかな関連性は認められなかった。

感染群と健常群の MBL 遺伝子多型頻度比較

反復呼吸器感染群における MBL 遺伝子多型の検出頻

MBL genotype	Patients (n=15)	Controls (n=52)
54 W/W	5 (33.3%)	35 (67.3%)
54 W/m	9 (60.0%)	12 (23.1%)
54 m/m	1 (6.7%)	5 (9.6%)
54 mutant*	10(66.7%)*	17 (32.7%)

a ; 54 W/m and 54 m/m (both genotypes cause phenotypes of low MBL concentrations in serum)

*Significant, p <0.05

Table 2 Frequency of the MBL genotype in Patients with recurrent pulmonary infections and healthy controls.

度は15例中の10例, 66.7%に及び, 健常対照群の32.7%と比較して有意に高値を示した。(Table 2)

肺炎急性期における MBL の肺内動態

5例の肺炎急性期 BALF 検体(カリニ肺炎3例および細菌性肺炎2例)における検討では, 全5症例とも BALF 中の MBL 値は ELISA 法にて直接の測定が可能であった(0.011 ~ 0.132 $\mu\text{g/ml}$ BALF). 対照的に健常者の BALF は5例とも MBL 値は測定不能であった. また肺炎を併発した剖検症例の肺と肝組織における MBL-mRNA の発現を比較すると (Fig.2), MBL-mRNA はいずれも肝のみで発現を認め, 肺組織ではまったく発現が観察されなかった.

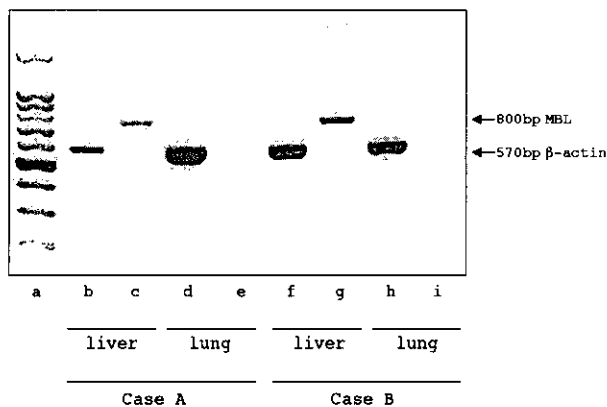


Fig.2 Expression of MBL mRNA in the liver and the pneumonic lung. RT-PCR of the MBL gene was performed as described. The cDNA samples were obtained from liver specimens (lanes b, c, f, and g) and pneumonic lung specimens (lanes d, e, h, and i). Lanes b, d, f, and h indicate b-actin cDNA for controls. Lanes b, c, d, and e were obtained from autopsied case A, and lanes f, g, h, and i were obtained from autopsied case B. Lane a represents the size marker. The two bands at 800bp in lane c and g are the indicated PCR fragments obtained from MBL cDNA.

考案・結論

気道感染を頻回に繰り返す症例は日常臨床上さほど稀なものではなく, その原疾患は陳旧性肺結核や肺癌などの肺局所障害, 低ガンマグロブリン血症や糖尿病などに起因する免疫能低下, 脳血管障害に続発する慢性誤嚥など多岐にわたっている. しかしこれら繰り返し気道感染例のなかにはその成因が未だに明らかではないケースも多く残されている.

本検討はそのような原因不明の反復気道感染例に焦点をあて, 近年髄膜炎や肝炎などの発症背景因子として注目されている MBL の遺伝子多型を解析したものである. MBL 遺伝子多型の頻度は一般健常人に比較してこれら反復感染群において有意に高値を示し, 呼吸器系においても MBL 遺伝子多型が実際に易感染性因子となることが示された. ただしこの MBL 遺伝子多型は健常人

No.	MBL ($\mu\text{g/ml}$ BALF*)	Status of lung for BAL
1	0.132	<i>P. carinii</i> pneumonia
2	0.078	<i>P. carinii</i> pneumonia
3	0.011	<i>P. carinii</i> pneumonia
4	0.029	Bacterial pneumonia
5	0.019	Bacterial pneumonia
6	N.D.	Normal volunteer
7	N.D.	Normal volunteer
8	N.D.	Normal volunteer
9	N.D.	Normal volunteer
10	N.D.	Normal volunteer

* : BALF was not concentrated.

N.D. : Not detected

Table 3 MBL concentration in BALF samples.

でも約3割に認められる高頻度なものであり, 単独で易感染性を規定する特殊な変異というよりは, むしろおそらく他の要素と重なることによってはじめて反復感染を惹起するひとつの易感染性素因と解釈すべきものであろう.

MBL は血中では高分子量複合体として存在するが, 肺内における動態, 特に肺炎急性期の動態に関しては未だ不明の点が多い. 今回の解析では, MBL は肺炎時においても肺局所では産生されることはないが, 急性期の炎症巣には血中から相当量が滲出しているものと考えられた. 肺の感染防御機構としては, 同じコレクチンファミリーに属する SP-A や SP-D の解析がより進んでいるが, これらの物質は肺内に多量に存在して主にオプソニン活性を示すものであり, 炎症時のみに血中から肺内に滲出し, オプソニン活性に加えて補体活性化能も発揮する MBL とはまた異なった意義を有するものと考えらるべきであろう.

近年 Garred らは, Cystic Fibrosis (CF) 患者 149 例を対象として MBL の遺伝子解析を施行し, CF 症例における MBL 遺伝子変異の併発は 8 年間もの生存期間短縮につながる重大な予後因子となっていたことを報告している. 今後我々は, 本邦の DPB 症例においても, 発症背景あるいは予後因子として MBL 遺伝子多型が関与している可能性を検討する予定である.

参考文献

- 1) Crouch, E. C. 1998. Collectins and pulmonary host defense. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 19: 177-201.
- 2) Ezekowitz, R. A., K. Sastry, and K. Reid. 1996. *Collectins and innate immunity*. Springer-Verlag, Heidelberg.
- 3) Turner, M. W. 1996. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol. Today.* 17: 532-540.
- 4) Thiel S., T. Vorup-Jensen, C. M. Stover, W. Schwaeble, S. B. Laursen, K. Poulsen, A. C. Willis, P. Eggleton, S. Hansen, U. Holmskov, K. B. Reid, and J. C. Jensenius. 1997. A second serine protease associated with mannan-binding lectin that activates complement. *Nature.* 386: 506-510.
- 5) Sumiya, M., M. Super, P. Tabona, R. J. Levinsky, T. Arai, M. W. Turner, and J. A. Summerfield. 1991. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet.* 337: 1569-1570.
- 6) Hibberd, M. L., M. Sumiya, J. A. Summerfield, R. Booy, and M. Levin. 1999. Association of variants of the gene for mannose-binding lectin with susceptibility to meningococcal disease. Meningococcal Research Group. *Lancet.* 353: 1049-1053.
- 7) Summerfield, J. A., S. Ryder, M. Sumiya, M. Thursz, A. Gorchein, M. A. Monteil, and M. W. Turner. 1995. Mannose binding protein gene mutations associated with unusual and severe infections in adults. *Lancet.* 345: 886-889.
- 8) Garred, P., H. O. Madsen, B. Hofmann, and A. Svejgaard. 1995. Increased frequency of homozygosity of abnormal mannan-binding-protein alleles in patients with suspected immunodeficiency. *Lancet.* 346: 941-943.
- 9) Matsushita, M., M. Hijikata, Y. Ohta, K. Iwata, M. Matsumoto, K. Nakao, K. Kanai, N. Yoshida, K. Baba, and S. Mishiuro. 1998. Hepatitis C virus infection and mutations of mannose-binding lectin gene MBL. *Arch. Virol.* 143: 645-651.
- 10) Garred, P., T. Pressler, H. O. Madsen, B. Frederiksen, A. Svejgaard, N. Hoiby, M. Schwartz, and C. Koch. 1999. Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J. Clin. Invest.* 104: 431-437.

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：前処理による検討

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

14員環マクロライド系抗生物質の抗炎症作用に関して、これまでに気道上皮細胞のサイトカイン/ケモカイン、接着分子の発現ないし産生、遊離を抑制することを報告してきた。これらの多くに共通して重要な転写調節因子 (NF κ B, AP-1) の活性化についてもゲルシフトアッセイにより検討してきたが、薬剤と刺激の同時処置では、あきらかな抑制作用を見いだせないでいた。今回、治療域濃度のエリスロマイシン (10⁻⁶M) を種々の条件で前添加した系において、NF κ B は 72 時間の前処理で、AP-1 は 24 時間以上の前処理で、それぞれ PMA による活性化が明らかに抑制された。一方、CREB については全く影響がなく、IL-8 などの転写調節に関わる作用と推測された。

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

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

1. Department of Laboratory Medicine, University of Tokyo, School of Medicine.
2. Department of Respiratory Medicine, University of Tokyo, School of Medicine.
3. Douai Hospital, Tokyo, Japan

Several lines of evidence show that 14-member macrolide antibiotics have an anti-inflammatory activity, which results in therapeutic efficacy for the treatment of airway inflammatory disorders. Erythromycin (EM) and clarithromycin (CAM) showed an inhibitory effect on IL-8 mRNA transcription in human bronchial epithelial cells as reported. We addressed a question of whether these drugs have any effect on the activation of transcription factors important in IL-8 gene expression *in vitro*. The bronchial epithelial cells BET-1A were pretreated with various doses of EM or CAM, and then were stimulated with PMA (10⁻⁷M). EM and CAM showed a suppressive effect on the activation of AP-1 transcription factor when they were pretreated 24 and 72hrs by electrophoretic mobility shift assay. In contrast, the activation of NF κ B was not affected by 24hrs' pretreatment. However, CAM and EM showed a weak, but significant suppressive effect on NF κ B binding when pretreated for 72hrs.

These results suggested that the macrolides suppress activation of transcription factors such as AP-1 and NF κ B, which might be one of the important mechanisms of their clinical efficacy. Further studies would be necessary to clarify the signalling pathways where the drugs are involved.

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慢性気道炎症性疾患における有効性の機序について、これまでに気道上皮細胞のサイトカイン / ケモカイン、接着分子の発現ないし産生、遊離を抑制することを報告してきた^{1,2,3)}。これらの多くに共通して重要な転写調節因子 (NFκB, AP-1) の活性化についてもゲルシフトアッセイにより検討してきたが、薬剤と刺激の同時処置では、あきらかな抑制作用を見いだせなかった⁴⁾。今回、治療域濃度のエリスロマイシン (10⁻⁶M) を種々の条件で前添加した系において検討した⁵⁾。

対象と方法

(1) ヒト気管支上皮細胞株の培養

米国 NCI Dr. Lechner らから供与されたヒト気管支上皮細胞株 BET-1A をおもに用いた。既報⁶⁾の成長因子添加無血清培養液 Ham's F12 液にてコンフルエントまで培養した。

(2) エリスロマイシン (EM) またはクラリスロマイシン (CAM) を種々の濃度 (10⁻⁸ - 10⁻⁶M) で、細胞に添加した。対照群および薬剤添加群ともに、それぞれ 24 時間ごとに新しい培養液に交換した。

(3) EM 添加後 24, 48, 72 時間後に、刺激として phorbol myristate acetate (PMA) 10⁻⁷M を加え、4 時間後に、核タンパクを抽出した。

(4) electrophoretic mobility shift assay (EMSA) により、³²P 標識した NFκB, AP-1 の各々に特異的な DNA 塩基配列との結合を検討した。

結 果

(1) EM, CAM 前処置による転写因子 NFκB 活性化への影響：24 時間前処置の場合

BET-1A において、図 1 のように、PMA 刺激で明らかな NFκB の活性化が示されたが、EM 添加 (10⁻⁸ - 10⁻⁶M) の 24 時間の前投与によっては、明かな影響は認められなかった (図 2)。これは CAM においてもそうであった (図 2)。

(2) EM, CAM 前処置による転写因子 AP-1 活性化への影響：24 時間前処置の場合

BET-1A に EM, CAM を 24 時間前処理ののちに PMA

1. 東京大学医学部 検査部
 2. 呼吸器内科
 3. 同愛記念病院
- * びまん性肺疾患研究班 研究協力者

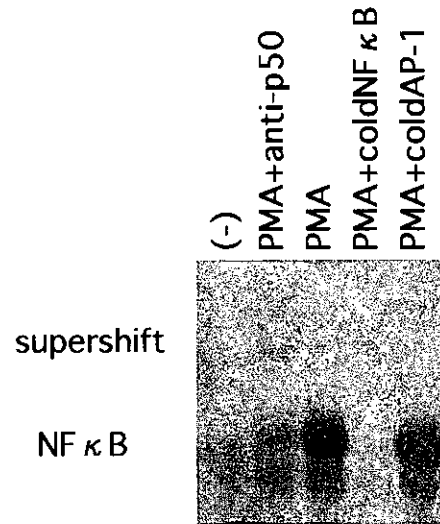


図 1 ヒト気管支上皮細胞株 BET-1A の PMA 刺激による NFκB の活性化。

抗 p50 抗体または過量の非標識 NFκB 結合モチーフの添加によりバンドが減弱してその特異性を示した。抗 p50 抗体によりスーパーシフトがみられる。

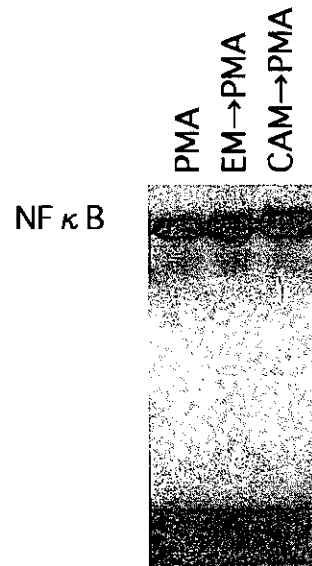


図 2 EM, CAM の前処置後 24 時間で PMA 刺激した場合の NFκB 活性化。

薬剤による明らかな影響はみられない。

を添加した場合、AP-1 結合の抑制を認めた (図 3)。また、これは濃度依存性がみられた (図示さず)。

(3) EM, CAM 前処置による転写因子 NFκB, AP-1 活性化への影響：72 時間前処置の場合

EM (10⁻⁶M) の 72 時間の前投与によって NFκB 活性化は明らかに抑制された (図 4A)。同様の操作で AP-1 も明らかに抑制されたが (図 4B)、c-AMP response element binding motif (CREB) への結合には影響がみられなかった (図 4C)。

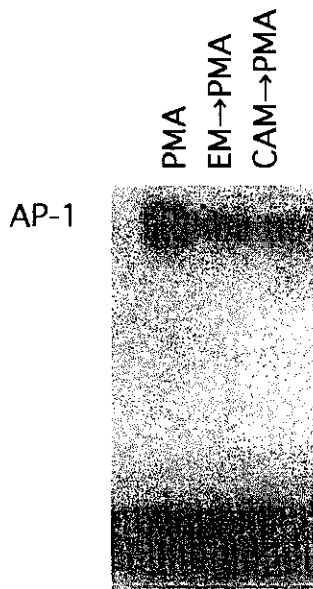


図3 EM, CAMの前処置後24時間でPMA刺激した場合のAP-1活性化。両薬剤により明らかな抑制がみられた。

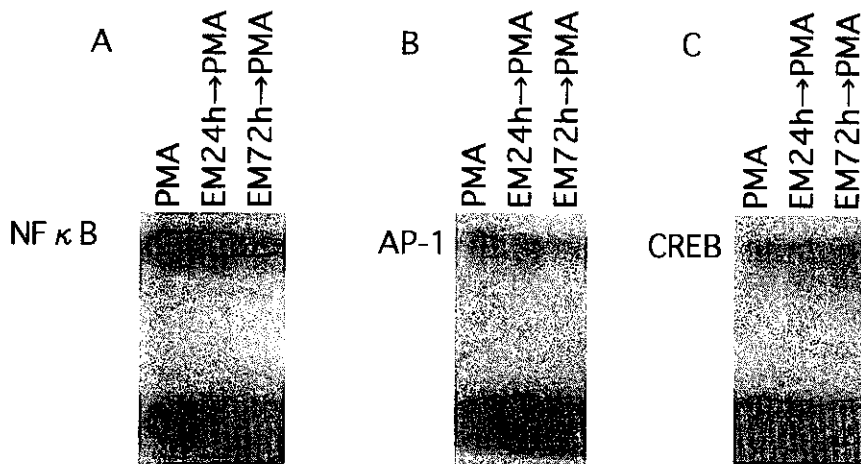


図4 EM (10⁻⁶M)を72時間前処置したのち、PMA刺激した場合のA) NFκB, B) AP-1, C) CREBのEMSA。
NFκBでは72時間前処置においてのみ、AP-1では24, 72時間前処置ともに、明らかな抑制が示された。

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 *in vitro* で検討してきた。すなわち、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したが、mRNAレベルでは明らかな作用を認めず⁶⁾、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²⁾。さらに、ヒト気道上皮細胞においてEM添加による、IL-8 mRNAへの作用をノーザンプロット法、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、この抑制作用が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であることを示した⁷⁾。IL-8遺伝子発現調節に重要な転写因子⁸⁾としてNFκB, AP-1について検討したが、同時投与では明らかな作用は認めなかった⁹⁾。今回、AP-1では24時間、NFκBでは72時間の前処理によって、明らかな抑制作用を見いだした。AP-1については、Abeら⁹⁾が同様の所見を報告しており、14員環マクロライド抗生物質の臨床効果発現までに日数がかかることと対比させると興味深い。しかしながら、遺伝子調節機構からみて、このような現象は大変ユニークであり、その機序解明は今後の重要な課題である。AP-1の発現から核内移行のどこに作用しているかを検討してゆく予定である。一方、EMの作用としてAP-1やNFκBの活性化抑制を確認したことから、これまでみとめられてきた多種多様な作用を包括的に理解することも可能となるであろう。今後、マクロライドの誘導体のこの系での活性を検討することにより、新しい抗炎症薬開発への糸口が開かれると期待される。

謝 辞

共同研究者として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、大阪市立医科大学細菌学 小林和夫先生、北里研究所大村 智先生、砂塚敏明先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) H. Takizawa, M. Desaki, T. Ohtoshi, T. Kikutani, H. Okazaki, M. Sato, N. Akiyama, S. Shoji, K. Hiramatsu, K. Ito: Erythromycin suppresses interleukin 6 expression by human bronchial epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 210:781-786, 1995.
- 2) 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.
- 3) Kawasaki S, Takizawa H, Ohtoshi T, Takeuchi N, Kohyama T, Nakamura H, Kasama T, Kobayashi K, Nakahara K, Morita Y, Yamamoto K: Roxithromycin

- inhibits cytokine production and neutrophil attachment with human bronchial epithelial cells in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:1499-1502, 1998.
- 4) 滝沢 始, 出崎真志, 河崎 伸, 幸山 正, 山本一彦, 伊藤幸治: 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. 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年度研究報告書, 124-127.
- 5) Desaki M, Takizawa H, Ohtoshi T, Kasama T, Kobayashi K, Sunazuka T, Ohmura S, Yamamoto K, Ito K. Erythromycin suppresses nuclear factor-kappa B and activator protein-1 activation in human bronchial epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 267:124-128, 2000.
- 6) Kohyama T, Takizawa H, Kawasaki S, Akiyama N, Sato M, Ito K: Fourteen-member macrolides inhibit IL-8 release by human eosinophils from atopic donors. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:907-911, 1999.
- 7) 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.
- 8) Mukaida N, Okamoto S, Ishikawa Y, Matsushima K. Molecular mechanism of interleukin-8 gene expression. *J Leukoc Biol* 56:554-558, 1994.
- 9) Abe S, Nakamura H, Inoue S, Takeda H, Saito H, Kato S, Mukaida N, Matsushima K, Tomoike H. Interleukin-8 repression by clarithromycin is mediated by the activator protein-1 binding site in human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 22:51-60, 2000.

A549 細胞における ATP 誘起性 Ca^{2+} 反応に対する EM の影響

千田 金吾* 趙 冬梅 須田 隆文

びまん性汎気管支炎 (DPB) などの慢性気道感染症におけるエリスロマイシン (EM) の作用機序を明らかにするために、気道上皮細胞における EM の細胞内 Ca^{2+} 動態に与える影響とその作用部位について、シグナル伝達の方法からの解明を試みた。EM は A549 細胞における ATP 誘起性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ スパイクを有意に抑制した。しかし、プリン受容体の P2Y のアゴニストである UTP 誘起性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ や、ATP によるイノシトール 1, 4, 5 三リン酸 (IP_3) 生成、電位依存性 Ca チャンネル (VDCC) を活性化する KCl、L 型 VDCC の選択的アゴニストの BAY K8644 により惹起した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 応答に影響を与えなかった。また、EM は P2X の選択的アゴニストである BzATP が誘起した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 応答を完全に阻害した。したがって、EM の細胞内 Ca^{2+} 流入の抑制は、P2Y、VDCCなどを介するものではなく、P2X 受容体からのシグナルを選択的に抑制することによって発揮されると推定された。また、RT-PCR 法にて A549 細胞にプリン受容体として P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2X4 が発現していることが確認され、EM はこの P2X4 を抑制すると考えられた。呼吸器系における P2X の生理機能が Cl^- 分泌などと共役していることから、EM は P2X 経路の Ca^{2+} 流入を選択的に阻害して、慢性気道炎症時の気道過剰分泌を抑制する可能性が推測された。

Effect of Erythromycin on ATP-Induced Intracellular Calcium Response in A549 Cells

KINGO CHIDA, DONG-MEI ZHAO, TAKAFUMI SUDA

*Second Division, Department of Internal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine,
3600 Handa-cho, Hamamatsu, Shizuoka 431-3192*

ATP induced a biphasic increase in the intracellular Ca^{2+} concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$), an initial spike and a subsequent plateau, in A549 cells. Erythromycin (EM) suppressed the ATP-induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ spike, but only in the presence of extracellular calcium (Ca^{2+}_o). It was ineffective against ATP- and UTP-induced inositol 1, 4, 5-trisphosphate (IP_3) formation and UTP-induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ spike, implying that EM perturbs Ca^{2+} influx from the extracellular space, rather than Ca^{2+} release from intracellular calcium stores via the G protein-phospholipase C- IP_3 pathway. A verapamil-sensitive, KCl-induced increase in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ and the Ca^{2+} influx activated by calcium store depletion were insensitive to EM. 3'-O- (4-benzoyl)benzoyl ATP evoked a Ca^{2+}_o -dependent $[\text{Ca}^{2+}]_i$ response, even in the presence of verapamil or in the absence of extracellular Na^+ , and this response was almost completely abolished by the EM pretreatment. RT-PCR analyses revealed that P2X4 as well as P2Y2, P2Y4 and P2Y6 are coexpressed in this cell line. These results suggest that in A549 cells 1) the coexpressed P2X4 and P2Y2/P2Y4 subtypes contribute to the ATP-induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ spike; and 2) EM selectively inhibits Ca^{2+} influx through the P2X channel. This action of EM may underlie its clinical efficacy in the treatment of airway inflammation.

はじめに

14員環マクロライド系抗生剤であるエリスロマイシン(EM)は、びまん性汎気管支炎(DPB)などの慢性気道感染症において有効性が明らかにされているが、その作用機序についてまだ不明な点が多い。EMは粘膜下腺由来の粘液糖蛋白分泌や気道上皮細胞からのCl⁻や水分分泌を減少させることが*in vitro*の実験系で観察されており^{1,2)}、一方、細胞内Ca²⁺は粘液分泌やCl⁻分泌に関与する重要な細胞内調節因子であることが明らかにされている³⁾。したがって、EMの作用機序の一つとして、気道上皮および粘膜腺細胞の細胞内Ca²⁺動態に影響を与える可能性が推定される。本研究ではA549細胞を用いて、EMの細胞内Ca²⁺動態に与える影響とその作用部位について検討した。

対象と方法

1. 細胞の培養と細胞内Ca²⁺の濃度([Ca²⁺]_i)の測定——A549細胞は10%FCS添加DMEMにて、37℃で5%CO₂の条件下で培養し、5mM Fura2-AMを負荷した後、ATP、UTPなどの刺激物質による細胞内Ca²⁺の動態をARGUSS0/CA(浜松ホトニクス)を用いて観測した。
2. イノシトール1,4,5三リン酸(IP₃)生成の測定——EM, U73122やU73343で前処置したA549細胞に各濃度のATPやUTPを添加後(0-60秒)、過塩素酸にて反応を中止した。中和した後、免疫アッセイ法にてIP₃の含有量を測定した。
3. P2レセプターサブタイプの同定——A549細胞からmRNAを単離し、cDNAを合成した。P2XとP2Y各サブタイプの高保存領域に基づきP2XとP2Yにそれぞれ共通したプライマーを設計し、PCRを行った。増幅したPCR断片をTAクローニングベクターに組み入れ、陽性コロニーをスクリーニングして、プラスミドDNAに含まれたP2レセプター断片のシーケンスを分析した。

結 果

1. EMはATP誘起性[Ca²⁺]_iスパイクを有意に抑制した——1.2mM Ca²⁺を含む培地にて、100mM ATPは[Ca²⁺]_iスパイクとそれに続くプラトーの二相性の[Ca²⁺]_i応答を惹起した。30分前処置でEMは濃度依存的に[Ca²⁺]_iスパイクを抑制した。EMの阻害作用は部分的で(最大約40%)、しかも細胞外液Ca²⁺に依存す

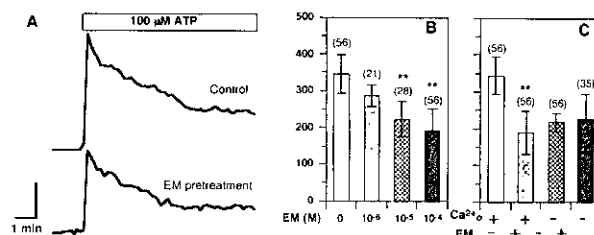


Fig.1 Effect of EM on ATP-induced [Ca²⁺]_i spike. Fura-2 loaded A549 cells were treated with either vehicle (0.1% ethanol) or EM (0.1 mM in A and C, different concentrations in B) at room temperature for 30 min. A: Time course of ATP-induced [Ca²⁺]_i response in the presence of Ca²⁺_o after pretreatment with EM or vehicle. B: Dose-dependent inhibition of [Ca²⁺]_i spike by EM in the presence of Ca²⁺_o. C: Effect of EM on [Ca²⁺]_i spike in the presence or absence of Ca²⁺_o. Results in (B) and (C) are the means ± S.D. of 4-8 experiments, and the number of cells observed is indicated in parentheses. ** p<0.05 vs. control values without the EM pretreatment.

ることから、EMはCa²⁺流入を抑制すると考えられた(Fig.1)。

2. EMはATP誘起性IP₃生成に影響を与えなかった——A549細胞にはP2Uレセプターの発現が報告されてい

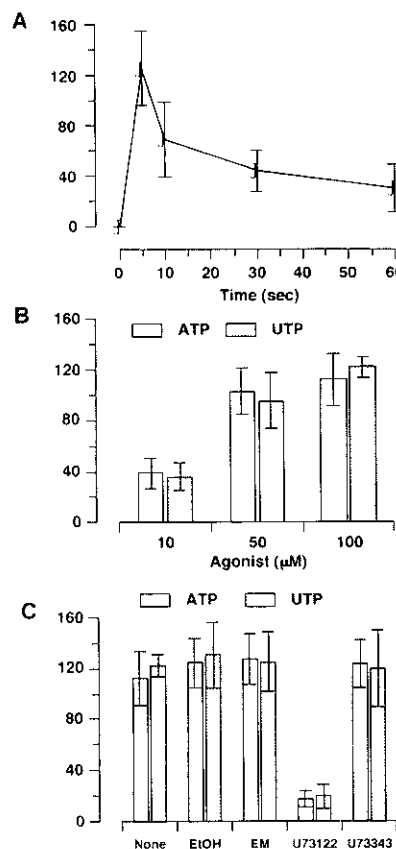


Fig.2 Changes in IP₃ in response to extracellular nucleotides. A: Time course of IP₃ accumulation in response to ATP. B: IP₃ accumulation in response to various concentrations of ATP and UTP. A549 cells were exposed to indicated concentrations of ATP or UTP for 5 sec. C: Effects of EM, its vehicle, U73122 and U73343 on ATP- and UTP-induced IP₃ accumulation. IP₃ in each sample was determined in duplicate. The data are the means ± S.D. of four separate experiments.

浜松医科大学第二内科

* びまん性肺疾患研究班 研究協力者

る⁴⁾。われわれの実験で ATP も UTP も濃度依存的にほぼ同程度の IP₃ 蓄積を誘起し、しかも 5 秒刺激で最大蓄積を示した。G 蛋白によるホスホリパーゼ C の活性化を阻害する U73122 はほぼ完全に ATP や UTP で誘起された IP₃ の蓄積を抑制したが、EM は全く阻害を示さなかった (Fig.2)。

- EM は KCl, BAY K8644 により惹起した [Ca²⁺]_i 応答に影響を与えなかった——電位依存性カルシウムチャンネル (VDCC) は Ca²⁺ 流入の候補の一つと考えられ、非興奮細胞である A549 細胞は KCl による脱分極と L 型 VDCC の特異的なアゴニストである BAY K8644 の刺激で [Ca²⁺]_i 応答を示した。この応答は L 型 VDCC の特異的阻害剤である verapamil によって完全に抑制されたが、EM 前処置の影響を受けなかった。
- EM は P2X レセプター経由の Ca²⁺ 流入を阻害した——P2X レセプターは ATP 作動性イオンチャンネル共役型の P2 レセプターで Ca²⁺ 透過性を示す。BzATP は P2X の選択的なアゴニストであり、BzATP 誘起性 [Ca²⁺]_i 応答は細胞外液 Ca²⁺ 依存的で、EM の前処置で完全に阻害された。BzATP 誘起性 [Ca²⁺]_i 応答は細胞外

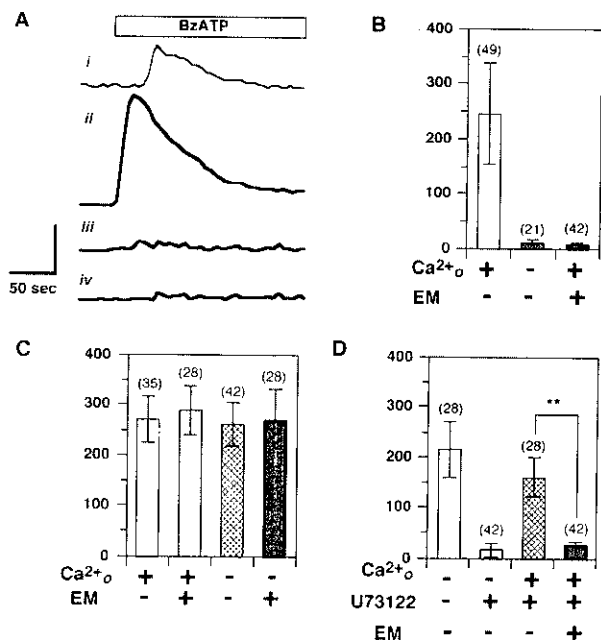


Fig.3 Influx of Ca²⁺ through putative P2X receptor(s). A: Effect of EM on BzATP-induced [Ca²⁺]_i response. The experiments were carried out 3-5 times with similar results. Shown are representative recordings each obtained with a single cell. B: Summary of experiments ii, iii and iv in A. C: Effect of EM on UTP-induced [Ca²⁺]_i spike in the presence or absence of Ca²⁺_o. D: Effects of U73122 and EM on ATP-induced [Ca²⁺]_i spike in the presence or absence of Ca²⁺_o. A549 cells were treated with either 10 mM U73122 for 3 min, 0.1 mM EM for 30 min, or with both U73122 and EM (for 27 min with EM and then for 3 min with both U73122 and EM) as indicated. Results in (B), (C) and (D) are the means ± S.D. from 3-6 experiments, and the number of cells observed is indicated in parentheses. ** p<0.05 vs. corresponding control values as indicated.

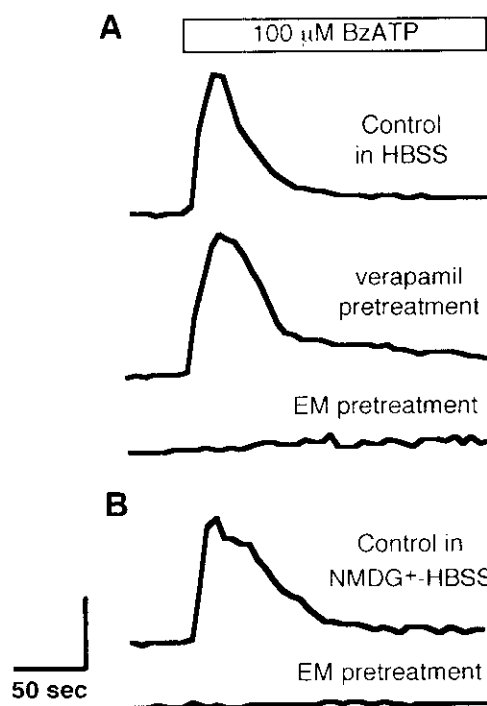


Fig.4 Direct inhibition by EM of the calcium channel activity of P2X receptor(s). A: Effects of verapamil and EM on BzATP-induced [Ca²⁺]_i response in the presence of extracellular Na⁺. B: Effect of EM on BzATP-induced [Ca²⁺]_i response in the absence of extracellular Na⁺. The experiments were carried out 3 times, and representative recordings each obtained with a single cell are shown.

液 Na⁺ に非依存的で、VDCC の阻害剤に抑制されないことから P2X 経山の Ca²⁺ 流入自身が [Ca²⁺]_i 応答を惹起したと考えられた。これらの結果により EM は選択的に P2X 経山の Ca²⁺ 流入をブロックすることが分かった (Fig.3, 4)。

- EM は容量依存性 Ca²⁺ 流入に影響を与えない——細胞内カルシウムストアの枯渇によって容量依存性の Ca²⁺ 流入が活性化され、ストアの再充填し、非興奮性細胞 [Ca²⁺]_i 応答のプラトー相を形成している。EM は ATP 誘起性 [Ca²⁺]_i スパイクを阻害したが、同時にプラトーの低下も抑制した。容量依存性 Ca²⁺ 流入はカルシウムチャンネルの非特異的な阻害剤である Ni²⁺ によって完全に阻害されたが、EM の前処置は影響を与えなかった。
- A549 細胞における P2 レセプターの発現——RT-PCR により、A549 細胞には P2X と P2Y の共発現が証明された。増幅された PCR フラグメントの DNA シーケンス分析により P2X は P2X4 サブタイプのみであるが、P2Y は P2Y2, P2Y4 と P2Y6 という三つのサブタイプが発現していることが明かとなった (Fig.5)。

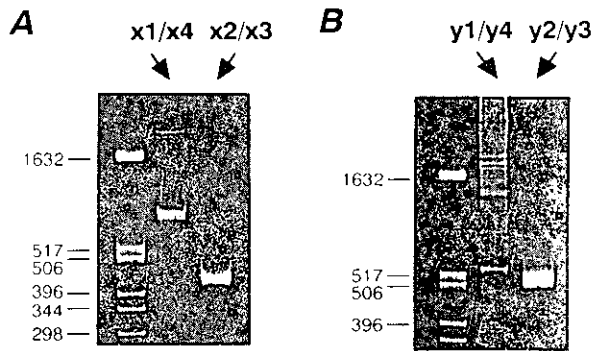


Fig.5 Identification of P2X and P2Y subtypes. A and B: The conserved amino acid regions in P2X (A) and P2Y (B) receptors used for the design of degenerate primers. Italics show the overlapped amino acids, and boldface capitals denote well conserved amino acids among respective subtypes. C and D: RT-PCR amplification of P2X (C) and P2Y (D) mRNAs using degenerate primers. E: RT-PCR with two sets of primers each specific to P2X4 and P2X7, respectively. Hinf I digest of pBR322 was used as a size marker.

考 察

本研究はA549細胞におけるATPで惹起されるCa²⁺シグナル及びそれに対するEMの効果について検討した。ATPの刺激により細胞は[Ca²⁺]_iスパイクとそれに続いたプラトーといった二相性の[Ca²⁺]_i反応を示した。スパイクにはP2Y2/P2Y4受容体-G蛋白-ホスホリパーゼC-IP₃系経路のストアからCa²⁺の動員とP2Xチャンネル経

路のCa²⁺流入が共に関与しており、P2X経路のCa²⁺流入抑制がEMの作用部位であると判明した。呼吸器系におけるP2Xの生理機能がCl⁻分泌と密接に関連しているという報告と考え合わせると⁵⁾、EMのP2X経路のCa²⁺流入に対する阻害作用は慢性気道炎症時の気道過剰分泌に対する有効性の機序の一つと考えられる。

参考文献

- 1) Tamaoki, J., Isono, K., and Sakai, N.: Erythromycin inhibits Cl⁻ secretion across canine tracheal epithelial cells. *Eur. Respir. J.* 5: 234, 1992.
- 2) Goswami, S. K., Marom, Z.: Erythromycin inhibits respiratory glycoconjugate secretion from human airways *in vitro*. *Am. Rev. Respir. Dis.* 141: 72, 1990.
- 3) Berridge, M. J.: Elementary and global aspects of calcium signalling. *J. Physiol.* 499: 291, 1997.
- 4) Clunes, M. T., and Kemp, P. J.: P2u purinoceptor modulation of intracellular Ca²⁺ in a human lung adenocarcinoma cell line: down-regulation of Ca²⁺ influx by protein kinase C. *Cell Calcium.* 20: 339, 1997.
- 5) Taylor, A. L., L. M. Schwiebert, J. J. Smith, C. King, J. R. Jones, E. J. Sorscher, and E. M. Schwiebert. Epithelial P2X purinergic receptor channel expression and function. *J. Clin. Invest.* 104: 875-884, 1999.

マクロライド療法が無効な RA 合併細気管支炎の 3 例

本間 榮¹ 中谷 龍王¹ 中田絃一郎^{1*} 黒崎 敦子²
松下 央³ 齋木 茂樹⁴

【目的】びまん性汎細気管支炎 (DPB) 以外の細気管支病変に対するマクロライド療法の有用性は確立されていない。そこでマクロライド療法が無効であった慢性関節リウマチ (RA) 合併細気管支炎症例につき臨床病理学的に明らかにすることを試みた。【対象と方法】マクロライド療法が無効の RA 合併細気管支炎 3 症例 (男性 2 例, 女性 1 例, 平均年齢 69 歳) を対象とし, 臨床, 画像, 呼吸機能検査所見を比較し更に 1 例については剖検所見も検討した。【結果と考案】3 症例はいずれも画像上, 閉塞性細気管支炎 (OB) の特徴である過膨張, モザイクパターンを示し, 2 例では更に濾胞性細気管支炎 (FB), DPB などに特徴的な小葉中心性の小粒状病変, 細気管支拡張などを認めた。剖検の得られた 1 例は OB であることが病理組織学的にも確認されたが他の 2 例は OB の他に臨床的に共通点の多い FB, DPB 様病変が混在している可能性が示唆された。

3 cases of bronchiolitis associating with rheumatoid arthritis resistant to macrolide therapy

Sakae Homma¹, Tatsuo Nakatani¹, Koichiro Nakata¹, Atsuko Kurosaki²
Hiroshi Matsushita³, Shigeki Saiki⁴

1. Division of Respiratory Diseases, Toranomon Hospital,
2. Division of Radiology, Toranomon Hospital,
3. Division of Pathology, Toranomon Hospital,
4. Department of Pathology, St Lukes' International Hospital, Tokyo, Japan

The association of progressive obliterative bronchiolitis (OB) and follicular bronchiolitis (FB) in patients with rheumatoid arthritis (RA) are uncommon but has been previously reported. Diffuse panbronchiolitis (DPB) is a unique inflammation principally affecting the respiratory bronchioli and has been reported mainly in Japanese adults. The 5-year survival from the onset of respiratory symptoms in patients with DPB has been markedly improved after the introduction of macrolide therapy during the past 10 years in Japan. Recently, DPB has also been noted in patients with RA in Japan. Therefore, there might be considerable overlap in clinical features between OB, FB and DPB associated with RA in Japan. However, the effectiveness of erythromycin (EM) therapy for these bronchiolitis associated with RA is unknown. The aim of this study was to evaluate the clinicopathological characteristics of bronchiolitis in patients with RA who showed progressive respiratory impairment against EM therapy. Three RA patients clinically diagnosed as having bronchiolitis were evaluated. All patients underwent chest radiographs, pulmonary function tests (PFT) and one patient underwent post-mortem examination. Clinical features in all patients were a history of productive cough, exertional dyspnea, rhonchi and/or coarse crackles. Chest radiographs showed hyperinflation with mosaic perfusion in all patients and small nodular shadows up to 2 mm in diameter with bronchiolectasis throughout both lungs in two patients. The PFT revealed marked obstructive impairment in all patients. Though EM was applied to all three patients, sputum volume, PFT and X-ray images were not affected. Pathologically, one out of the three cases was confirmed by post-mortem examination as constrictive OB, because the primary obstructive lesions were in the membranous bronchioli and the proximal small bronchi. The other two cases were suspected as having OB with FB or DPB respectively. Their X-ray images revealed small nodules with bronchiolectasis and hyperinflation which are commonly seen on the chest CT in FB and DPB.

Our study demonstrated that there was considerable overlap in clinical features between OB, FB and DPB associated with RA, which did not respond to EM therapy. The differentiation of these three disease entities, though very difficult according to the present clinical diagnostic criteria, is very significant for the selection of the appropriate methods of treatment in bronchiolitis associated with RA, and such differentiation is only possible by analyzing the histopathological findings of the affected lung.

はじめに

慢性関節リウマチ (RA) に伴う細気管支病変として従来から閉塞性細気管支炎 (OB), 濾胞性細気管支炎 (FB) 等が報告され, 更に最近ではびまん性汎細気管支炎 (DPB) 様病変が注目されている。しかし, これらの細気管支炎合併例に対するマクロライド療法の有用性は確立されていない。そこでマクロライド療法が無効であった RA 合併細気管支炎症例につき臨床病理学的に明らかにすることを試みた。

対象と方法

マクロライド療法が無効な細気管支炎合併例と診断した RA3 症例 (男性 2 例, 女性 1 例, 平均年齢 69 歳) を対象とし, 臨床所見, 画像所見, 呼吸機能検査所見を比較し更に 1 例については病理形態学的所見も検討した。

結 果

最初に 3 例の臨床所見を表 1 に示す。肺病変の臨床診断は症例 1 が肺気腫+細気管支炎疑い, 症例 2 が DPB+OB, 症例 3 が OB+ 気管支拡張症であったが症例 1 の最終病理診断は軽度の肺気腫を伴う OB であった。湿性咳嗽を主とする呼吸器症状は全例に認められ, 慢性副鼻腔炎の合併は症例 2 の 1 例で確認できた。喀痰培養は症例 1 が normal flora, 他の 2 例では緑膿菌が検出された。治療は RA に対しステロイド剤が全例, Bucillamine が 2 例, 喀痰の増加に対しエリスロマイシンが全例に投与され, 気道感染増悪時にニューキノロン剤が全例で併用されていた。

胸部 X 線, CT 所見は小葉中心性の小粒状病変が 2 例,

Case No.	Age	Sex	Clinical diagnosis	Pathological diagnosis	Respiratory symptoms	Chronic sinusitis	Sputum culture	Treatment
1 (M.Y.)	84	M	CPE OB Bronchi -oblit RA	OB CPE	Cough Sputum DOE	-	normal flora	Corticosteroid EM, NQ
2 (I.K.)	68	M	DPB OB RA	DPB OB	Dyspnea Sputum DOE	+	<i>P.aeruginosa</i>	Corticosteroid Bucillamine Gold EM, NQ
3 (H.K.)	56	F	OB BE RA	OB BE	Cough Sputum	-	<i>P.aeruginosa</i> <i>Bacteroides</i>	Corticosteroid Bucillamine EM, NQ, CLDM

CPE=chronic pulmonary emphysema; DPB=diffuse panbronchiolitis; BE=bronchiectasis
OB=obstructive bronchiolitis; EM=erythromycin; NQ=new quinolone; CLDM=clindamycin.

表 1 Clinical features

1. 虎の門病院 呼吸器科, 沖中記念成人病研究所
 2. 〃 放射線診断科
 3. 〃 病理部
 4. 聖路加国際病院 病理診断科
- * びまん性肺炎患研究班 分担研究者

Case No.	Small nodular lesions	Bronchial wall thickening	Bronchiolectasis	Hyperinflation (mosaic perfusion)
1 (M.Y.)	-	+	-	+
2 (I.K.)	+	+	+	+
3 (H.K.)	+	+	+	+

表 2 Chest radiographic findings

気管支壁の肥厚が全例, 細気管支拡張が 2 例, 過膨張およびモザイクパターンが全例に認められた (表 2)。

症例報告

次に 3 症例を具体的に呈示する。

症例 1: 84 歳男性, 主訴は咳嗽, 喀痰, 労作時呼吸困難, 喫煙歴は 20 本/日×57 年間 (20~77 歳), 既往歴は 74 歳時より RA に罹患, 慢性副鼻腔炎の合併はない。現病歴は '87 年より RA で外来通院中であった。'89 年より咳嗽, 喀痰が出現し, 胸部単純 X 線で過膨張所見を認め肺気腫と診断された。'94 年には労作時呼吸困難 (H-J II 度) が加わり '96 年 3 月より喀痰量が増加し EM400mg/日の内服が開始され, その後関節痛に対しステロイド剤が追加されたが喀痰量の減少は得られなかった。'97 年 8 月出血性胃潰瘍により急死した (表 3)。身体所見は胸部

	'89年	'94年	'96年 3月	'97年 8月
Medication			EM 400 mg / day PSL 5 mg / day	
Symptom	cough / sputum	(Normal flora)	DOE II	
PaO ₂ PaCO ₂ mmHg (RA)	77 39			63 43
PFT				
VC	3.53L		3.47L	
%VC	116%		114%	
FEV ₁	1.65L		1.31L	
FEV ₁ %	47%		38%	

表 3 Case 1. Clinical course

Complete blood count		Serology	
WBC.	9500 /ml	ESR	48 mm/hr
Hb.	14.4 g/dl	CRP	2.4 mg/dl
Plt.	21.8 × 10 ⁹ /ml	IgG	1543 mg/dl
Chemistry		IgA	404 mg/dl
TP	6.8 g/dl	IgM	157 mg/dl
BUN	17 mg/dl	抗核抗体	2560 d
Cr.	0.9 mg/dl	RF	391 U/ml
Na	141 mEq/l	Rose 反応	160 d
K	4.1 mEq/l	IgG-RF	1.49
Cl	104 mEq/l	Urine	
GOT	28 IU/l	糖	(-)
GPT	14 IU/l	蛋白	(-)
LDH	289 IU/l	潜血	(-)
CK	65 IU/l	Sputum	
		培養; Normal flora	

表 4 Laboratory findings (Case 1)

聴診上, 強制呼気で rhonchi を聴取した。検査所見では血沈, CRP, 抗核抗体, RF, Rose 反応の増加を認め (表 4),

(29/5/89)		(8/5/95)	
TLC	6.89 L	TLC	7.21 L
%TLC	131 %	%TLC	138 %
VC	3.53 L	VC	3.47 L
%VC	116 %	%VC	114 %
FEV _{1.0}	1.65 L	FEV _{1.0}	1.31 L
FEV _{1.0} %	47 %	FEV _{1.0} %	38 %
MMF	0.48 L/sec	MMF	0.30 L/sec
RV	3.36 L	RV	3.74 L
%RV	153 %	%RV	170 %
RV/TLC	49 %	RV/TLC	52 %
Blood Gas Analysis (room air)			
pH	7.42	pH	7.44
PaO ₂	77 torr (20/7/89)	PaO ₂	63 torr (21/8/96)
PaCO ₂	39 torr	PaCO ₂	43 torr
BE	1.2 mmol/L	BE	4.8 mmol/L

表 5 Pulmonary function tests (Case 1)

呼吸機能検査所見の 6 年間の経時的変化では一秒量、一秒率、MMF の低下、残気率の増加、低酸素血症の増悪など閉塞性障害の明らかな進行を認めた(表 5). 胸部単純 X 線写真は過膨脹所見が明らかで、CT は bronchovascular bundle の肥厚と air trapping による斑状のモザイクパターン

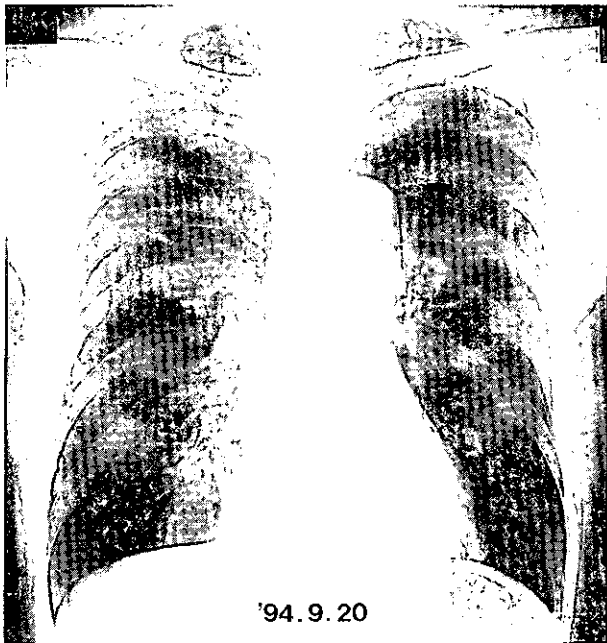


図 1 胸部単純 X 線写真 (Case 1). 過膨脹所見が認められる。

を認めた(図 1 ~ 2). 剖検所見は肺の剖面像で両側上葉に炭粉沈着を伴う軽度の肺気腫性変化を認め、右下葉には subsegmental bronchus の拡張性変化を認めた. 拡大像では bronchovascular bundle と小葉間間質の肥厚が明らかで(図 3), これに対応する組織像は小葉中心部の肺動脈、細気管支周囲など広義の間質の線維性肥厚あるいは細気管支壁の弾性線維の断裂を伴う細胞浸潤による膜様細気管支の著明な狭窄 (OB) および小葉間間質の静脈周囲の線維性肥厚であった. 他に FB, DPB 様病変はなく、軽度の小葉中心性の肺気腫を伴っていた(図 4 ~ 5, 表 6). 以

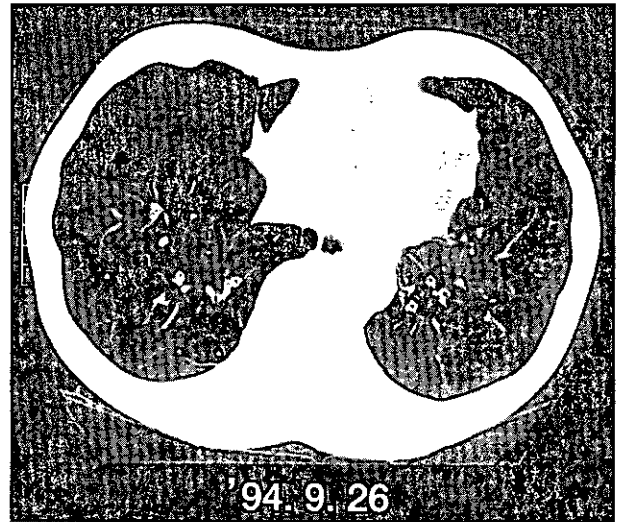


図 2 胸部 CT 写真 (Case 1). bronchovascular bundle の肥厚と air trapping による斑状のモザイクパターンを認める。

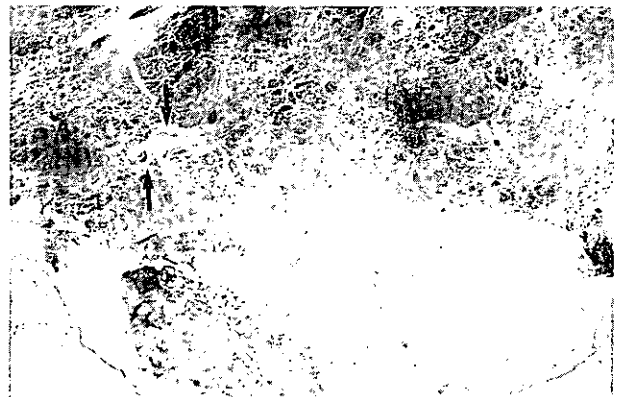


図 3 剖検肺: bronchovascular bundle (Arrows) と小葉間間質の肥厚を認める (Case 1).

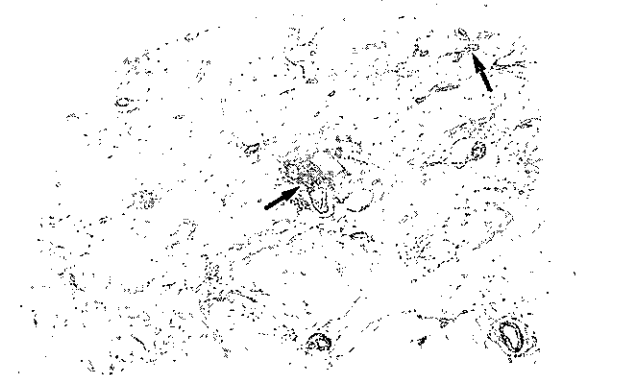


図 4 剖検肺: 組織像 (Elastica-van Gieson 染色, 1 division=1 mm). 小葉中心部の肺動脈、細気管支周囲など広義の間質の線維性肥厚による膜様細気管支の狭窄 (Arrows), 小葉間間質の静脈周囲の線維性肥厚を認める (Case 1).

上より本症例の閉塞性障害は主に RA に合併した OB に起因するもので肺気腫の関与は少ないものと考えられた。



図5 剖検肺：組織像 (Elastica-van Gieson 染色, x50). 肺動脈、細気管支周囲の間質の線維性肥厚による膜様細気管支の著明な狭窄 (OB) を認める (Case 1).

Primary obstructive lesions		E.I.F	FB	DPB	Others	Clinical Dx / Pathological Dx
RB	MB					
-	+	+	-	-	Emphysema	CPE / OB (CE)

RB=respiratory bronchiolus; MB=membranous bronchiolus
E.I.F=extensive interstitial fibrosis; FB=follicular bronchiolitis
DPB=diffuse panbronchiolitis; OB=obliterative bronchiolitis

表6 Pathological findings in case 1

症例 2：68 歳男性，主訴は咳嗽，喀痰，労作時呼吸困難，喫煙歴は 20 本 / 日 × 30 年間，既往歴は幼児期より慢性副鼻腔炎があり，36 歳時左肺結核で胸部形成術を受け，47 歳時より RA に罹患している，現病歴は '78 年よ

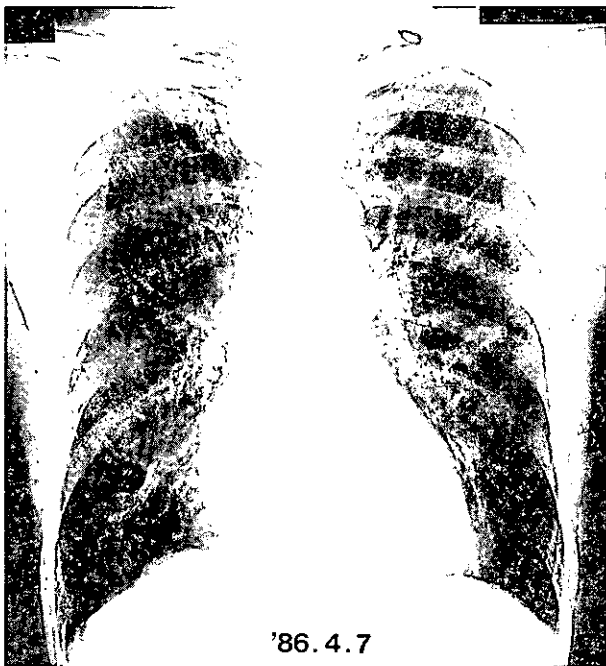


図6 胸部単純 X 線写真 (Case 2). 過膨張の他，一部に小粒状影，tram line が認められる。

	'78年	'86年	'90年	'98年	'99年
Medication			EM 400 mg / day	Bucillamine 50 mg / day	PSL 10 mg / day
Symptom			cough / sputum / DOE (P. aeruginosa)	Arthralgia	
PaO ₂ PaCO ₂ mmHg (RA)			81 47	74 54	
PFT	(23/3/87)		(16/6/97)		
VC	2.43L		1.86L		
%VC	69%		55%		HLA antigens
FEV ₁	0.85L		0.57L		A(26, 11), B(51, 55),
FEV ₁ /FVC	35%		33%		C(w1, w3), DR(2, 4)
RV/TLC	54%		51%		
MMF	0.31L/sec		0.15L/sec		

表7 Case 2. Clinical course

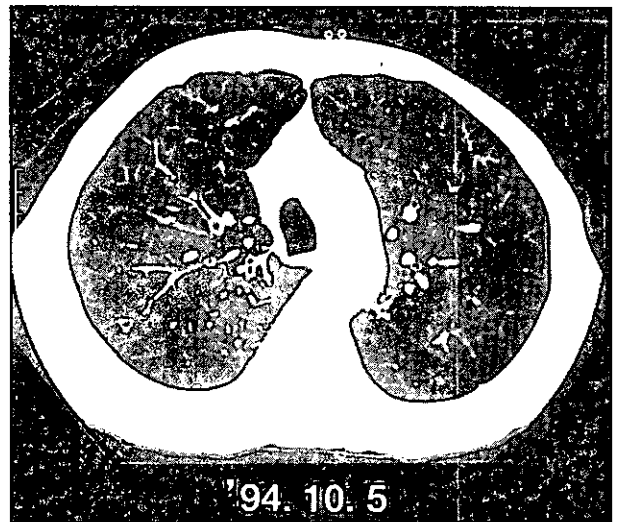


図7 胸部 CT 写真 (Case 2). 小葉中心性の小粒状病変，気管支壁の肥厚，細気管支拡張，過膨張およびモザイクパターンが認められる。

り RA で外来通院中であった，'86 年より咳嗽，喀痰，呼吸困難が増え DPB と診断され '90 年 5 月より EM400mg/日の内服が開始されその後 RA に対し金製剤，ステロイド剤，bucillamine 等が追加されたが呼吸器症状の改善は得られなかった，呼吸機能検査所見の 10 年間の経時的変化では肺活量，一秒量，一秒率，MMF の低下，低酸素血症の増悪など混合性障害の進行が認められた，尚，HLA 抗原は DPB に関連する A11, B55, Cw1 など²⁾が陽性であった (表 7)，身体所見では胸部聴診上，両側背下部で coarse crackle，強制呼気で rhonchi を聴取した，胸部単純 X 線写真では過膨張の他，一部に小粒状影，tram line がみられた (図 6)，CT では小葉中心性の小粒状病変，気管支壁の肥厚，細気管支拡張，過膨張およびモザイクパターンが認められた (図 7)，以上の臨床経過および画像より本症例の肺病変は DPB 様病変の他に，RA に合併した FB, OB などの細気管支病変が混在している可能性が疑われたが確定診断には病理所見が必要である。

症例 3: 56 歳女性主婦, 主訴は咳嗽, 喀痰. 喫煙歴はなく, 既往歴は 54 歳時より RA に罹患し, 慢性副鼻腔炎の合併はない. 現病歴は幼少時より気道感染で入院を繰り返していた. '85 年当科初診時, 気管支拡張症と診断された. '92 年より喀痰量が増加し EM400mg/日の内服が開始されその後 1200mg/日まで増量するも改善は得られなかった. '95 年より咳嗽, 喀痰が更に増加し時々咯血も加わった. '98 年 5 月には関節痛が出現し RA と診断され, 肺病変も気管支拡張症の他に先行型の閉塞性細気管支炎の存在が疑われた. RA に対し buccillamine, ステロイド剤が追加されたが喀痰量の改善は得られず, その後喀痰培養で嫌気性菌が検出されたためクリンダマイシンが投与され軽度の喀痰量減少が認められた. 呼吸機能検査所見の 13 年間の経時的变化では肺活量, 一秒量, 一秒率, MMF

	'92年	'94年	'96年	'98年	'99年
Medication	EM 400 mg / day	EM1200 mg / day		Buccillamine 100 mg / day	PSL 5 mg / day CLDM 800 mg / day
Symptom	cough / sputum		(P. aeruginosa) (Bacteroides uniformis)	Arthralgia	
PaO2	74	HLA antigens A(2, 4), B(59, 62), Cw1, DR(4, 15)		77	68
PaCO2 mmHg (RA)	31			44	37
PFT	(12/6/'85)	(25/5/'98)		(14/12/'98)	
VC	2.36L	VC 2.03L		VC 1.57L	
%VC	85%	%VC 78%		%VC 61%	
FEV _{1.0}	1.64L	FEV _{1.0} 1.20LMMF 0.64L/sec		FEV _{1.0} 0.87LMMF 0.42L/sec	
FEV _{1.0} %	65%	FEV _{1.0} 59% RV/TLC 45%		FEV _{1.0} 55% RV/TLC 57%	

表 8 Case 3. Clinical course

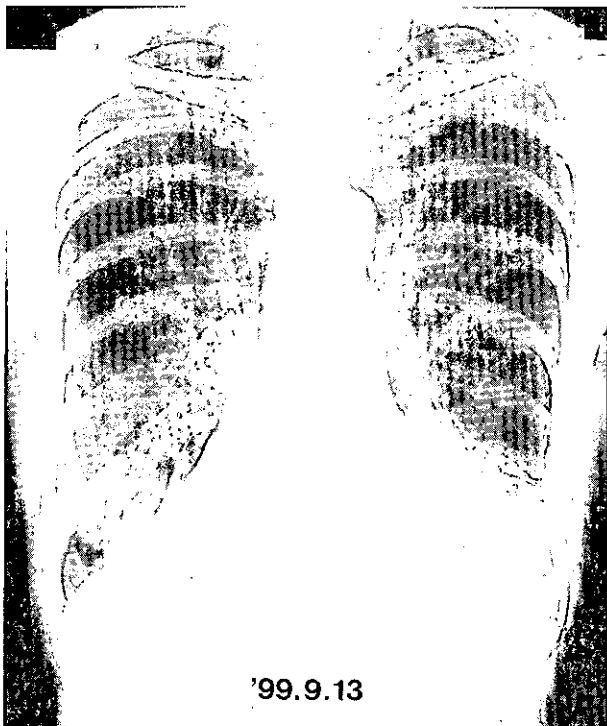


図 8 胸部単純 X 線写真 (Case 3). 過膨張, 両側下葉の浸潤影が認められる.

の低下, 残気率の増加, 低酸素血症の増悪など混合性障害の進行が認められた. HLA 抗原も DPB に関連性のない A2, B59 などが陽性であった (表 8). 身体所見では胸部聴診上, 両側背下部で coarse crackle を聴取した. 胸部単純 X 線写真では過膨張, 両側下葉の浸潤影が認められ (図 8), CT では両側下葉の気管支拡張とムコイドインパクションの他に小葉中心性の小粒状病変, 気管支壁の肥厚, 細気管支拡張, 過膨張およびモザイクパターンが混在して見られた (図 9). 以上の臨床経過および画像所見より本症例の肺病変は両側下葉の気管支拡張の他に RA に合併した OB を主とする細気管支病変が混在している可能性が疑われた.

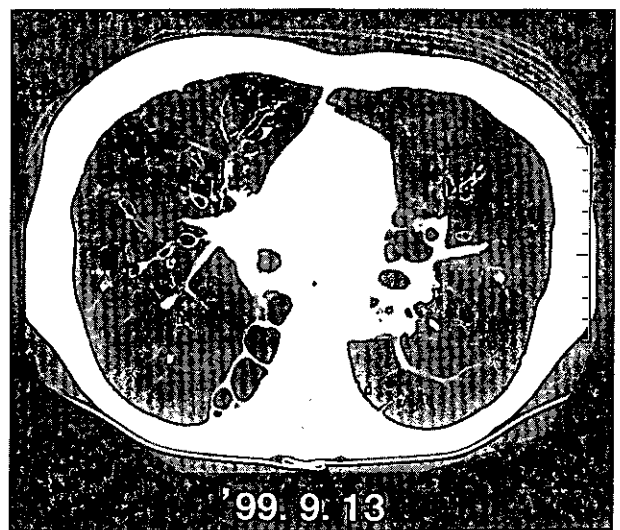


図 9 胸部 CT 写真 (Case 3). 両側下葉の気管支拡張とムコイドインパクションの他に小葉中心性の小粒状病変, 気管支壁の肥厚, 細気管支拡張, 過膨張およびモザイクパターンが混在して認められる.

考 案

マクロライド療法が無効な RA に伴う細気管支病変 3 症例を検討した結果, いずれも画像上, OB の特徴である過膨張およびモザイクパターンを有し³⁾, 2 例では更に FB, DPB などに特徴的な小葉中心性の小粒状病変, 細気管支拡張などを認めた. 剖検の得られた 1 例は OB であることが病理組織学的にも確認されたが他の 2 例は OB の他に臨床的に共通点の多い FB, DPB 様病変が混在している可能性が示唆された.

今迄に細気管支病変に対するマクロライド療法の効果に関し, DPB では 78% であるのに対し RA 随伴性細気管支病変 (FB, OB) では 29% と不良であったという報告⁴⁾ や RA に先行した OB の 1 例に有効性を認めたという報告⁵⁾, 更に RA 随伴性 DPB 様病変では DPB と同様に良好であったという報告⁶⁾ など症例により反応も様々であり一定の傾向は得られていない.

即ち OB, FB, DPB 様病変の 3 型のどの病変にマクロライド療法が有効であるのかを論ずるには治療前後の画像と病理所見の厳密な対比検討が今後必要である。ひいては特に予後不良で早期治療を要する OB の診断及び治療、予後の改善に還元されることが望まれる。

文 献

- 1) Homma S, Kawabata M, Kishi K, Tsuboi E, Narui K, Nakatani T, Uekusa T, Saiki S, Nakata K: Diffuse panbronchiolitis in rheumatoid arthritis. *Eur Respir J* 1998; 12: 444-452.
- 2) Keicho N, Tokunaga K, Nakata K, Taguchi Y, Azuma A, Bannai M, Emi M, Ohishi N, Yazaki Y and Kudoh S: Contribution of HLA genes to genetic predisposition in diffuse panbronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 846-850.
- 3) Muller NL, Miller RR: Diseases of the bronchioles: CT and histopathologic findings. *Radiology* 1995; 196: 3-12.
- 4) 早川啓史, 佐藤篤彦, 佐藤 潤, 塚本克紀, 戸館亮人, 豊嶋幹生, 妹川史朗, 森田純仁, 千田金吾, 岩田政敏: DPB と RA 随伴性細気管支病変の比較検討. *Therapeutic Research* 1996; 17: 366-368.
- 5) 岩田政敏, 井田雅章, 小田三郎, 竹内悦子, 中村祐太郎, 堀口倫博, 佐藤篤彦: クラリスロマイシンが有効と考えられた慢性関節リウマチに先行した閉塞性細気管支炎の 1 例. *日胸疾会誌* 1996; 34: 1271-1276.
- 6) 杉山幸比古, 北村 諭: 慢性関節リウマチを合併した DPB 様病態に対するエリスロマイシンの効果. *Therapeutic Research* 1996; 17: 369-371.

サルコイドーシス

サルコイドーシス治療ガイドライン策定 — 全国施設アンケート調査中間報告 —

津田 富康^{1*} 山口 哲生² 長井 苑子³ 森本紳一郎⁴
大道 光秀⁵ 岳中 耐夫⁶ 石原 麻美⁷ 立花 暉夫⁸
杉崎 勝教¹

全国 45 箇所の専門医療機関に対しサ症ステロイド治療についてのアンケート調査を行った。調査票は調査票 A と調査票 B からなり、調査票 A はサ症学会評議員にたいし専門臓器別（専門科別）にステロイド治療の適応、サ症の重症度の定義、難治性サ症の定義、ステロイドの治療の初回量、期間、維持量、効果、難治化要因、過去 4 年間のステロイド使用症例の割合について調査した。調査票 B は過去 4 年間に経験したステロイド内服投与症例 186 症例のケースカードで、年齢、性別、検査所見、投与された背景因子、臨床症状、目的臓器（肺、眼、皮膚、筋、心、神経、腎）の臓器障害の内容等について回答してもらった。これらの結果から患者の臨床像を把握し、ステロイド治療の効果、問題点、今後の改善策、ステロイド以外の治療薬について検討を行い、サ症治療ガイドライン策定の基礎資料としたい。

Treatment of Sarcoidosis in Japan — The Summary of Questionnaire —

Tomiyasu Tsuda

Third Department of Internal Medicine, Oita Medical University

Questionnaire were conducted to Japanese principal medical centers treating sarcoidosis patients. Part A includes general questions about the indication of steroid therapy, initial dose, duration, maintenance dose, effectiveness, the definition of severe or refractory diseases, the factors affecting refractory disease, and the incidence of steroid therapy for sarcoidosis patients. Part B is case record of sarcoidosis patients treated by oral corticosteroid in these 4 years, which includes age, sex, laboratory data, causes of steroid therapy, clinical findings, and the details of involved organs. Based on those data, discussing the problem of steroid therapy and the usefulness of cytotoxic drugs, new guideline of treatment for Japanese patients with sarcoidosis should be established.

はじめに

サルコイドーシス(以下サ症)は原因不明の全身性疾患で、あらゆる臓器に非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を形成し、約10%の症例が予後不良となると考えられている。その治療は困難で、唯一ステロイドが有効薬と考えられてきたが、無効症例も多く、治療法の確立が望まれている。今回の各施設の責任者に対するアンケート調査(アンケートA)では、全患者の約10-35%にステロイド投与がなされていた。日本におけるサ症治療指針は1982年厚生省特定疾患調査研究班Iにより「サルコイドーシスの治療に関する見解」が示されて以来なされていない。そこで日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会のサルコイドーシス治療指針(ガイドライン)策定委員会は厚生省特定疾患対策研究事業びまん性肺疾患研究班と協同して1982年のサ症の治療に関する「見解」に対する改正を試みる事にした。

対象と方法

方法はサ症学会の評議員(45名)に対する「アンケートA」と、全国40施設に対する過去4年間のステロイド治療症例186例(対象)に対する「アンケートB」から成っている。

アンケートAはアンケートを受ける医師の専門分野、1. ステロイド治療の適応(a. ステロイド治療を決定した場合の基本的な考え方、b. 重症サ症の定義に対する考え方、c. 重症度を治療に参考にするかの意見、d. 難治性の定義、e. 難治性を治療に考慮するかの意見)、2. ステロイド治療の方法(a. 初回投与量、b. 初回投与の期間、c. 維持量に移るまでの期間、d. 維持量、e. 維持量継続の期間、f. 治療を止める目安、g. 全治療期間の平均)、3. ステロイド治療の感想(a. 治療効果の%、b. 治療抵抗性要因)、4. 難治化要因、5. 各施設の過去4年間の全症例数と治療症例数。

アンケートBは治療開始時の臨床所見と臓器別アンケートに分かれている。臨床所見の内容は1. 「年齢、性、自覚症状、臓器病変部位、血清学的検査(ACE、血清リ

ゾチーム、gobulin、カルシウム)、気管支肺洗浄検査(総細胞数、リンパ球比率、CD4/CD8比)、ツ反、臓器生検結果」2. ステロイド治療の対象となった臓器障害、3. ステロイド治療を要した理由、4. 初診からステロイド治療開始までの期間、5. 初回治療量と治療期間、6. 減量方法とその期間、7. 維持療法の投与量とその期間、8. 治療効果、9. 治療終了の有無、10. 治療6カ月の再燃の有無、11. 治療終了12カ月の再燃の有無、の以上の項目から成っている。臓器別アンケートの内容は、肺では「1. 胸部単純写真(病期)、2. CT所見(小陰影、大陰影、peribronchial marking、胸膜病変、Bulla)、3. ガリウムシンチ、4. 動脈ガス(PaO₂、PaCO₂)、5. 肺機能(%VC、一秒率、%DLco)」、眼では「1. 視力低下、2. 視野欠損、3. 臨床所見(a. 前部葡萄膜炎、b. 鞅角結節、周辺部虹彩前癒着とくにテント状PAS、c. 硝子体の数珠状、雪玉状、塊状または微塵状混濁、d. 網膜血管周囲炎、e. 網膜脈絡膜滲出物および結節、f. 網脈絡膜広範囲萎縮病巣、g. その他)」、皮膚では「1. 皮疹(結節、局面、瀰漫浸潤、皮下、癬痕浸潤、その他)、2. 自覚症状(疼痛、美容上の問題)、3. 皮膚生検」、筋では「1. 筋腫瘍型、2. ミオパチー型、3. その他」、心臓では「1. NYHA分類、2. 心電図所見(房室ブロック、右脚ブロック、左脚ブロック、心室性期外収縮:Lown分類、上室性期外収縮(洞性頻脈、洞性徐脈、心房細動-粗動)、心室頻拍(非持続性、持続性)、心室粗動-細動、ST-T変化、P波異常、低電位差、異常Q、左軸偏位、右軸偏位)、3. 核医学所見(心筋シンチ欠損、Gaシンチ)、4. 心筋生検、5. 心エコー(左室駆出率、壁運動異常、心室瘤)、6. 冠動脈造影、7. ペーシングの有無、8. その他」、神経では「1. 脳神経、2. 脊髄神経、3. 末梢神経」、腎臓では「1. 肉芽腫性腎炎、2. カルシウム代謝異常に伴う腎障害、3. 糸球体腎炎、4. 血管炎、その他」から成っている。またステロイド治療以外の治療についても経験と薬剤名、初回投与量、投与期間、治療効果、有害事象について設問されている。

結 果

アンケート調査の結果

現在進行中であるため今回はその中間報告としてアンケートAの集計結果と、アンケートBの一部の集計結果を報告したい。但し、今回は紙面の都合上、大項目のみの報告にとどめ次回に詳細に報告したい。

アンケートA:1)ステロイド治療を決定した場合の基本的な考え方として、1. 自、他覚所見が持続、増悪するとき(24/30:80%)、2. 臓器機能障害があり、ステロイド使用がなければ不可逆性又は致死の結果を招く可能性があるとき(21/30:70%)、3. 肺外病変が強いとき(14/30:

1. 大分医科大学第三内科
2. JR 東京総合病院呼吸器内科
3. 京都大学医学部呼吸器内科
4. 藤田保健衛生大学循環器内科
5. JR 札幌鉄道病院呼吸器科
6. 熊本市市民病院呼吸器科
7. 横浜市立大学医学部眼科
8. 大阪簡易保険総合健診センター
- * びまん性肺疾患研究班 分担研究者