

V. 厚生省特定疾患「びまん性肺疾患」調査研究班 「特発性間質性肺炎」診断基準改訂に関する作業会議

日時：平成12年11月24日(金)午後2:00～25日(土)午前11:30まで

場所：豊浦ロイヤルホテル

JR内房線豊浦駅下車10分

千葉県安房郡豊浦町多田良字松原1212

プログラム

11月24日(金)

14:00～14:10

班長挨拶

事務連絡

14:10～15:30 座長：貫和敏博

・現行の「第3次改定案(1991)」歴史的経緯と今日の問題点

・呼吸器学会評議員を対象としたアンケート調査結果

・特別発言

・討論：「特発性間質性肺炎」の新しい枠組について－NSIP, BOOP等の取り扱いを含めて－

工藤 翔二

菅 守隆

田村 昌士

15:30～16:00 コーヒー・ブレイク

16:00～18:00 座長：菅 守隆

・UIP/IPEの画像診断基準について

・討論：診断チェック項目のあり方－AIP等の取り扱いを含めて－

伊藤 春海

18:30～19:30 夕食

20:00～21:30 座長：吉澤靖之

・病理組織診断の取り扱い

・討論：認定審査における位置づけ

小橋陽一郎

11月25日(土)

9:00～10:45 座長：杉山幸比古

・臨床所見項目・討論

・血液検査項目・討論

・呼吸機能検査項目・討論

田口 善夫

阿部 庄作

中田紘一郎

10:45～11:30 座長：工藤翔二

・総合討論：今後の進め方

VI. 厚生科学研究特定疾患研究事業 びまん性肺疾患調査研究班 第2回班会議(研究報告会)

日時：平成13年1月26日(金) 呼吸不全班会議

平成12年1月27日(土) びまん性肺疾患班会議

場所：大正製薬株式会社 会議室

〒170-8633 東京都豊島区高田3丁目24番1号

電話 03-3985-1111(代表)

◇◇◇びまん性肺疾患調査研究班プログラム◇◇◇

報告が45演題と多いため、原則として共同研究は10分(報告7分、質疑3分)、個別研究は8分(報告5分、質疑3分)とさせていただきます。発表時間を厳守いただきますよう、お願いいたします。

◇◇◇ プログラム ◇◇◇

主任研究者開会挨拶 日本医科大学 第四内科 工藤翔二 9:00 ~ 9:05
 厚生省挨拶 厚生省保健医療局エイズ疾病対策課 9:05 ~ 9:10

A. びまん性汎細気管支炎 座長 中田絏一郎

I. 遺伝的要因の解明

1) びまん性汎細気管支炎の HLA 関連疾患感受性遺伝子座の候補領域における新規遺伝マーカーの同定 9:10 ~ 9:18
 ○慶長直人(研究協力者)
 国立国際医療センター 研究所呼吸器疾患研究部長

II. マクロライド療法と作用機序

2) マクロライド抗生物質のサイトカイン発現抑制作用：その細胞内機構へのアプローチ 9:18 ~ 9:26
 ○滝沢 始(研究協力者), 出崎真志, 岡崎 仁
 東京大学医学部附属病院検査部, 呼吸器内科:

3) マクロライド長期療法における緑色レンサ球菌の耐性化に関する検討 9:26 ~ 9:34
 ○田口善夫(研究協力者)¹⁾, 井上哲郎²⁾, 相原雅典³⁾, 小松 方³⁾
 天理よろづ相談所病院別所分院¹⁾, 呼吸器内科²⁾, 同 細菌室³⁾

B. サルコイドーシス 座長 津田富康/松島綱治

I. 臨床共同研究

4) 「サルコイドーシスの治療に関する見解」策定に関する報告(班共同研究) 9:34 ~ 9:44
 ○津田富康(分担研究者)
 大分医科大学内科学三

5) サルコイドーシス：SF-36 を用いた QOL の評価(QOL 研究班との共同研究) 9:44 ~ 9:54
 ○大野彰二¹⁾, 杉山幸比古(分担研究者)¹⁾, 福原俊一(QOL 研究班)²⁾
 自治医科大学呼吸器内科¹⁾, 京都大学理論疫学²⁾

II. 病因解明

6) サルコイドーシスとプロピオニバクテリア：
 諸外国サルコイドーシス患者からの生検リンパ節組織における細菌 DNA の検出と定量解析
 (微生物研究班との共同研究) 9:54 ~ 10:04
 ○江石義信(研究協力者, 微生物研究班分担研究者)
 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 病因・病理学

7) 腸管内における *Propionibacterium* の生態に関する研究サ症患者におけるプロピオニバクテリアの細菌学的検討
 - *Propionibacterium acnes* を分離するための選択培地作製の試み 10:04 ~ 10:12
 ○渡邊邦友(研究協力者), 田中香お里 岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

8) サルコイドーシスと肺抗酸菌症の合併例に関する研究 10:12 ~ 10:20
 ○倉島篤行(研究協力者)
 国立療養所東京病院臨床研究部

III. 病態解明

9) サルコイドーシス症例気管支肺胞洗浄液中リンパ球の CD26 陽性率の検討 10:20 ~ 10:28

○石井芳樹(研究協力者), 知花和行, 福田 健
獨協医科大学呼吸器・アレルギー内科

- 10) ヒト肺胞マクロファージにおける PPAR γ の発現と機能に関する研究 10:28 ~ 10:36
○朝田和博, 千田金吾(研究協力者)
浜松医科大学第二内科
- 11) サルコイドーシス患者における肺胞マクロファージの 25-Hydroxyvitamin D
1 α -hydroxylase (1 α 水酸化酵素) 遺伝子の発現と疾患活動性に関する研究 10:36 ~ 10:44
○乾 直輝, 千田金吾(研究協力者), 須田隆文
浜松医科大学第二内科
- 12) 急性肺炎モデルにおけるケモカイン動態: 自然免疫から獲得免疫への橋渡しにおけるマスター細胞としての
樹状細胞 10:44 ~ 10:54
○松島綱治(分担研究者) 東京大学大学院医学系研究科分子予防医学教室

◇◇◇ 休憩 ◇◇◇ 10:54 ~ 11:04 (10分)

C. 特発性間質性肺炎

I. 臨床共同研究 座長 工藤翔二

- 13) 診断基準改訂に関する報告(班共同研究) 11:04 ~ 11:20
○工藤翔二(班長), 貫和敏博(班員), 菅 守隆(班員), 伊藤春海(班員), 阿部庄作(班員), 中田絃一郎(班員),
小橋陽一郎(研究協力者), 田口善夫(研究協力者)
- 14) 特発性肺線維症の症例・対照研究(疫学研究班との共同研究) 11:20 ~ 11:30
○三宅吉博(近畿大学医学部・公衆衛生学)
佐々木敏(国立がんセンター研究所支所・臨床疫学研究部)
横山徹爾, 田中平三(東京医科歯科大学難治疾患研究所・社会医学研究部門疫学),
千田金吾, 須田隆文(浜松医科大学・第二内科)
吾妻安良太, 工藤翔二(日本医科大学・第四内科)
阪本尚正(兵庫医科大学・衛生学)
岡本和士(愛知県立看護大学・公衆衛生学)
小橋 元(北海道大学大学院医学研究科・予防医学講座・公衆衛生学)
鷺尾昌一(北九州津屋崎病院)
稲葉 裕(順天堂大学医学部・衛生学)

◇◇◇ 昼食 ◇◇◇ 11:30 ~ 12:30 (60分)

評価委員の先生方, びまん性肺疾患研究班と重点研究班の班員(分担研究者), 研究協力者の先生方はミーティングを行いますので, 昼食時に会議室にご参集下さい。

II. 臨床診断・病態評価 座長 阿部庄作/菅 守隆

- 15) 特発性間質性肺炎における SP-A, SP-D, KL-6 の臨床応用に関する研究 12:30 ~ 12:38
○高橋弘毅, 小場弘之, 藤嶋卓哉, 白鳥正典, 阿部庄作(分担研究者)
札幌医科大学第三内科
- 16) 特発性間質性肺炎の活動性評価における KL-6・SP-D 測定の有用性 12:38 ~ 12:46
○一安秀範, 菅 守隆(分担研究者), 彌永和宏, 安藤正幸
熊本大学医学部第一内科

- 17) びまん性間質性肺炎における血清 KL-6 値と
血清 soluble IL-2 Receptor 値との経時的関連性 12:46 ~ 12:54
○本間 栄, 川畑雅照, 岸 一馬, 坪井永保, 成井浩司, 中谷龍王,
中田紘一郎 (分担研究者)
虎の門病院呼吸器科
- 18) 特発性間質性肺炎の HRCT 診断に関する研究 12:54 ~ 13:02
○伊藤春海 (分担研究者)
福井医科大学 放射線医学教室
- 19) 重点: 高分解能 CT による急性間質性肺炎の治療反応性の予測 13:02 ~ 13:10
○一門和哉, 菅 守隆 (重点分担研究者), 具嶋泰弘, 安藤正幸
熊本大学医学部第一内科
- 20) 特発性間質性肺炎患者に対するトレッドミルを用いた6分間歩行試験に関する研究 13:10 ~ 13:18
○坪井永保, 川畑雅照, 岸 一馬, 成井浩司, 本間 栄, 中谷龍王,
中田紘一郎 (分担研究者)
虎の門病院呼吸器科

III. 周辺疾患および病理組織学的検討 座長 吉沢靖之/福田 悠

- 21) 膠原病肺と特発性間質性肺炎の臨床的特徴に関する比較検討 13:18 ~ 13:26
○前田晃宏, 中村公彦, 石岡伸一 (研究協力者), 檜山桂子, 早川式彦*, 山木戸道郎, 河野修興
広島大学医学部第二内科, *原爆放射能医学研究所
- 22) 特発性間質性肺炎に対する慢性鳥飼病の位置づけ 13:26 ~ 13:34
-慢性鳥飼病における吸入誘発試験の検討-
○大谷義夫, 角 勇樹, 海野 剛, 稲瀬直彦, 三宅修司, 吉澤靖之 (分担研究者)
東京医科歯科大学呼吸器科
- 23) 特発性間質性肺炎に対する慢性鳥飼病の位置づけ 13:34 ~ 13:42
-慢性鳥飼病の臨床像の検討-
○大谷義夫, 角勇樹, 海野剛, 稲瀬直彦, 三宅修司, 吉澤靖之 (分担研究者)
東京医科歯科大学呼吸器科
- 24) 大切片を用いた剖検肺における間質性肺炎の検討 13:42 ~ 13:50
○弓場吉哲 小橋陽一郎 (研究協力者) 天理よろづ相談所病院医学研究所病理
田口善夫 (研究協力者), 井上哲郎 同 呼吸器内科
野間恵之 同 放射線科
- 25) びまん性間質性肺炎における肺生検組織像と予後 13:50 ~ 13:58
○本間 栄¹⁾, 川畑雅照¹⁾, 岸 一馬¹⁾, 坪井永保¹⁾, 成井浩司¹⁾, 中谷龍王¹⁾,
田中さゆり²⁾, 松下 央²⁾, 黒崎敦子³⁾, 斎木茂樹⁴⁾, 中田紘一郎 (分担研究者)¹⁾
虎の門病院呼吸器科¹⁾, 同 病理部²⁾, 同 放射線診断科³⁾, 聖路加国際病院病理診断科⁴⁾

◇◇◇◇ 休憩 ◇◇◇◇ 13:58-14:10 (12分)

IV. 病因・病態に関する研究 貫和敏博/曾根三郎

- 26) 特発性間質性肺炎患者における糖尿病合併頻度の検討 14:10 ~ 14:18
○榎本達治, 白杵二郎, 松田久仁子, 青山昭徳, 宮本晴子, 吾妻安良太 (重点分担研究者),
工藤翔二 (主任研究者)
日本医科大学 第四内科
- 27) 特発性間質性肺炎における TT ウイルスの関与に関する研究 14:18 ~ 14:26
○板東政司, 杉山幸比古 (分担研究者) 自治医科大学 呼吸器内科
- 28) 肺線維化機序に関する血管新生の意義の解明 14:26 ~ 14:34
○海老名雅仁, 渡辺正樹, 鯉沼代造, 清水川稔, 三木 誠, 貫和敏博 (分担研究者)

東北大学 加齢医学研究所 呼吸器腫瘍

- 29) 末梢血由来線維芽細胞様樹状細胞の単離と肺線維化における役割の検討 14:34 ~ 14:42
○石井芳樹 (研究協力者), 知花和行, 福田 健
獨協医科大学呼吸器・アレルギー内科
- 30) 各種肺細胞におけるマトリックスメタプロテアーゼの発現に関する研究 14:42 ~ 14:50
○宮川比佐子, 菅 守隆 (分担研究者), 彌永 和宏, 岡本竜哉, 長 勇, 安藤正幸
熊本大学医学部第一内科
- 31) 特発性肺線維症の肺胞上皮細胞過形成病変における
TGF- β II 型受容体の genomic instability の検討 14:50 ~ 14:58
○森 雅秀, 林 清二 (分担研究者)
大阪大学大学院医学系研究科 分子病態内科学講座
- 32) 肺線維化の細胞分子病態に関わるサイトカインの役割 14:58 ~ 15:06
○曾根三郎 (分担研究者)
徳島大学医学部第三内科
- 33) 放射線肺臓炎における肺線維芽細胞増殖因子としてのトロンビンの関与 15:06 ~ 15:14
○曾根三郎 (分担研究者), 谷 憲治, 西岡安彦, 黄 陸平
徳島大学医学部第三内科

V. 疾患モデルを用いた研究 座長 杉山幸比古/林 清二

- 34) グッドパスチャー症候群の疾患動物モデルの作製に関する研究 15:14 ~ 15:22
○高井俊行 (研究協力者)¹⁾, 貫和敏博 (分担研究者)²⁾
東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野¹⁾, 同呼吸器腫瘍研究分野²⁾
- 35) インスリン様受容体シグナルと酸化ストレス耐性 15:22 ~ 15:30
○鈴木陽一, 玉置正勝, 白澤卓二 (研究協力者) 東京都老人総合研究所分子遺伝学部門
青山昭徳, 吾妻安良太 (重点分担研究者) 日本医科大学第四内科
- 36) プレオマイシン誘導肺線維症に関する実験的研究 15:30 ~ 15:38
○菅原 勇 (研究協力者)
結核研究所分子病理学科
- 37) HCV トランスジェニックマウスを用いた特発性間質性肺炎の研究 15:38 ~ 15:46
○大田 健 (研究協力者), 中野純一, 山下直美
帝京大学医学部内科

◇◇◇ 休憩 ◇◇◇ 15:46 ~ 16:00 (14分)

難病重点研究および治療関連研究報告 座長 工藤翔二/貫和敏博

I. 臨床治験研究

- 38) 重点: Pirfenidone (S-7701) 無作為化臨床比較第 2 相試験の経過報告 16:00 ~ 16:10
(班共同研究, 国内大規模試験)
○工藤翔二 (重点主任研究者), 吾妻安良太 (重点分担研究者)
日本医科大学 第四内科
- 39) 重点: 特発性間質性肺炎 (IIP) 急性増悪に対する
シクロスポリンの使用例の検討 (班共同研究) 16:10 ~ 16:20
○稲瀬直彦, 大谷義夫, 角 勇樹, 海野 剛, 三宅修司, 吉澤靖之 (重点分担研究者)
東京医科歯科大学 呼吸器科
- 40) 重点: 特発性間質性肺炎に対する N-アセチルシステイン吸入療法
—多施設共同治験の成績 (班共同研究) 16:20 ~ 16:30
○石井芳樹 (重点研究協力者) 獨協医科大学呼吸器・アレルギー内科
杉山幸比古 (重点分担研究者) 自治医科大学呼吸器内科

- 北村 諭 埼玉県立大学
- 41) びまん性肺疾患における生体部分肺移植に関する研究 16:30 ~ 16:38
○清水信義(分担研究者), 青江 基, 伊達洋至, 安藤陽夫
岡山大学医学部 第二外科
- 42) 重点: 間質性肺炎の病理形態からみた治療への提言 16:38 ~ 16:46
○福田 悠(重点分担研究者)
日本医科大学 第一病理
- II. 実験的治療研究
- 43) 重点: HGF による肺線維症遺伝子治療の臨床応用 16:46 ~ 16:54
○三木 誠, 貫和敏博(重点分担研究者)
東北大学 加齢医学研究所 呼吸器腫瘍
- 44) 重点: プレオマイシン肺線維症に対する
マウスインターフェロン-βの効果に関する研究 16:54 ~ 17:02
○吾妻安良太(重点分担研究者), 工藤翔二(重点主任研究者) 日本医科大学 第四内科
曾根三郎, 邊見 智 東レ(株) 医薬研究所
- 45) 重点: 抗サイトカイン遺伝子発現による実験的肺線維化の抑制 17:02 ~ 17:10
○林 清二(重点分担研究者)
大阪大学大学院医学系研究科 分子病態内科学講座
- 事務局連絡 17:10 ~ 17:15
評価小委員会委員長挨拶 17:15 ~ 17:20
主任研究者 閉会挨拶 17:20 ~ 17:25
- 評価小委員会 17:30 ~ 18:00

Ⅶ. 第27回 びまん性汎細気管支炎をめぐる研究会(研究班後援)

世話人: 国立国際医療センター研究所 呼吸器疾患研究部 慶長直人
主 催: びまん性汎細気管支炎をめぐる研究会
後 援: 厚生科学研究特定疾患びまん性肺疾患調査研究班
日 時: 平成12年1月26日(金)
場 所: 銀座ガスホール 6階ホール

★DPBの診断基準に合致する非DPB症例(13:10~13:55)

座長 杉本峯晴(国立療養所再春荘病院呼吸器科)

- 臨床的にDPBと考えられたHAM合併閉塞性細気管支炎の1例
鹿児島大学第三内科
○永井智子, 是枝快泉, 西垂水和隆, 是枝快房, 城之園学, 川畑政治, 納光 弘
- 臨床的にDPBと診断されたが肺生検で細気管支上皮化生を認めた1例
琉球大学第一内科
○宮城佳江, 宮里明子, 當山雅樹, 伊志嶺朝彦, 嘉数朝一, 齊藤 厚
- びまん性の細気管支炎で発症し, 高度の肺線維化へと発展したHTLV-1キャリアーの1例
国立療養所再春荘病院呼吸器科¹⁾, 熊本市立熊本病院内科²⁾, 同 臨床病理³⁾
○今村文哉¹⁾, 杉本峯晴¹⁾, 直江弘昭¹⁾, 田中不二穂²⁾, 福田浩一郎²⁾, 宮山東彦³⁾

★若年発症のDPB様症例(13:55～14:40)

座長 吉村邦彦(東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部門)

4. DPB 類似の画像所見を呈した Kartagener 症候群の姉妹例

浜松医科大学第二内科

○鈴木研一郎, 千田金吾, 須田隆文, 桑田博史, 松田宏幸, 横村光司,
朝田和博, 中村祐太郎, 乾 直輝, 土屋智義, 中村浩淑

5. びまん性気管支拡張を呈し DPB と診断し得た若年者で, DFTR 遺伝子の異常を認めた 1 例

日本医科大学第四内科¹⁾, 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 遺伝子治療研究部門²⁾,
国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部³⁾

○神尾孝一郎¹⁾, 吾妻安良太¹⁾, 工藤翔二¹⁾, 吉村邦彦²⁾, 慶長直人³⁾

6. 遺伝子異常を検索しえた若年男性の cystic fibrosis の 1 例

長崎大学医学部附属病院第二内科¹⁾, 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 遺伝子治療研究部門²⁾

○永田十和子¹⁾, 石井 寛¹⁾, 岩下徹二¹⁾, 貝田英之¹⁾, 門田淳一¹⁾, 河野茂¹⁾,
吉村邦彦²⁾

★若年発症例および興味深い症例(14:40～15:25)

座長 杉山幸比古(自治医科大学呼吸器内科)

7. 幼少時より呼吸器感染症を反復した DPB と考えられる 1 症例

東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 遺伝子治療研究部門¹⁾, 同 呼吸器・感染症内科²⁾

○安齋千恵子¹⁾, 諸川納早³⁾, 青木 薫^{1,2)}, 田井久量²⁾, 衛藤義勝¹⁾, 吉村邦彦^{1,2)}

8. 若年発症で難治の DPB 2 症例

聖路加国際病院呼吸器内科

○名林直彦, 大曲貴夫, 森美香子, 青島正大

9. AML の寛解導入時と再発時に施行した化学療法が DPB に有効であった 1 例

天理よろづ相談所病院呼吸器内科

○前田勇司, 田口善夫, 種田和清, 郡 義明, 田中栄作, 井上哲郎,
加藤晃史, 櫻本 稔, 馬庭 厚

特別講演(15:25～16:25)

座長 吾妻安良太(日本医科大学第四内科)

「炎症細胞の動態からみた DPB の病態」

長崎大学医学部第二内科 門田淳一

閉会の挨拶

びまん性汎細気管支炎をめぐる研究会

代表世話役 虎の門病院呼吸器科 中田紘一郎

研 究 報 告

びまん性汎細気管支炎

びまん性汎細気管支炎の HLA 関連疾患感受性遺伝子座の候補領域における新規遺伝マーカーの同定

慶長 直人^{1***} 土屋 朋子¹ 中田 光¹ 徳永 勝士²
中田絃一郎^{3**} 田口 善夫^{4***} 吾妻安良太⁵ 工藤 翔二^{5*}

びまん性汎細気管支炎(DPB)は、昨年までの一連の検討により、HLA-A, B 遺伝子間の S (corneodesmosin) 遺伝子と TFIIH (general transcription factor IIH, polypeptide 4) 遺伝子に挟まれた 200 kb の領域に主要疾患感受性遺伝子のひとつが存在すると推定された。そこで、本年度は、その領域内に機能的な遺伝子が推定されるのか、遺伝子予測プログラムによる推定を行い、また領域内に予測されるエクソン部を中心に、新規遺伝マーカーの存在を探索した。その結果、領域内に 50 以上の単一塩基置換 (SNPs) が同定された。一般に SNPs は、500 塩基対から 1000 塩基対にひとつ存在するとされているが、この HLA 領域では、その倍以上の頻度で SNPs が存在していた。この HLA 領域は、すでに知られているように、多型性に富む領域であり、目的とする疾患感受性を直接規定する SNP を同定することは容易でないものと予想される。

Identification of new genetic markers in the critical region for an HLA-related susceptibility gene of diffuse panbronchiolitis.

Naoto Keicho¹, Tomoko Tsuchiya¹, Koh Nakata¹, Katsushi Tokunaga²,
Koichiro Nakata³, Yoshio Taguchi⁴, Arata Azuma⁵, Shoji Kudoh⁵

¹ Department of Respiratory Medicine, University of Tokyo

² Department of Human Genetics, Graduate School of Medicine, University of Tokyo

³ Division of Respiratory Diseases, Toranomon Hospital

⁴ Department of Respiratory Medicine, Tenri Hospital

⁵ Fourth Department of Internal Medicine, Nippon Medical School

Our recent observations suggest that one of the major susceptibility genes for diffuse panbronchiolitis may be located within 200 kb between S and TFIIH loci in the HLA class I region. We searched for possible genes using gene-prediction computer programs and also found new genetic markers in the critical region. More than 50 single nucleotide polymorphisms (SNPs) were identified within the predicted exons. Although there is one SNP per 500 or 1,000 bp generally in the human genome, SNPs in the critical region were found much more frequently. It may be difficult to identify the right SNP which determines disease susceptibility.

はじめに

我々は、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を再確認し¹⁾、また韓国人のDPB患者集団でB54ではなく、HLA-A11がDPBと強い関連性を示す²⁾ことから、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いう仮説を提唱した。昨年度はこの仮説に基づいて、該当領域に存在する、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示した³⁾。それは、HLA-A、B遺伝子間のS（corneodesmosin）遺伝子とTFIIH（general transcription factor IIH, polypeptide 4）遺伝子に挟まれた200kbであり、その領域内の3種のマイクロサテライトマーカー（C2-2-2, C2-4-4, C4-4-3）は複数の疾患感受性ハプロタイプに共有されていて、疾患との関連性の強さを示すパラメーターのピーク値を示し、検索された範囲の韓国人患者にも高頻度で保持されていた³⁾。本年度は、この200kbの領域内に機能的な遺伝子が推定されるのか遺伝子予測プログラムによる推定を行い、また領域内に予測されるエクソン部を中心に新規遺伝マーカーの同定を行った。

対象と方法

一昨年まで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DPB症例中4例、健常例中6例について、必要箇所PCRプライマーをデザインし、約500bpずつ増幅し、直接シーケンス法により決定された塩基配列の相違をSNPの候補として登録した。

200kbの領域内に機能的遺伝子が予測されるか否かは、主にGenScanコンピュータプログラムを用いて推定を行った⁴⁾。

尚、本研究における遺伝子解析に関しては、当センターの遺伝子解析に係わる倫理委員会の承認を受けている。

1. 国立国際医療センター研究所・呼吸器疾患研究部
2. 東京大学人類遺伝学教室
3. 虎の門病院呼吸器科
4. 天理よろづ相談所病院呼吸器内科
5. 日本医科大学第四内科

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

結果

1. HLA 関連主要感受性遺伝子候補領域における遺伝子予測

DPB 主要感受性遺伝子候補領域である200kb、特にその大部分をカバーするBACクローンである53L9の塩基配列について、GenScanコンピュータプログラムを用いて、遺伝子予測を行った。その結果、12個の遺伝子の存在する可能性が予測された（図1）。

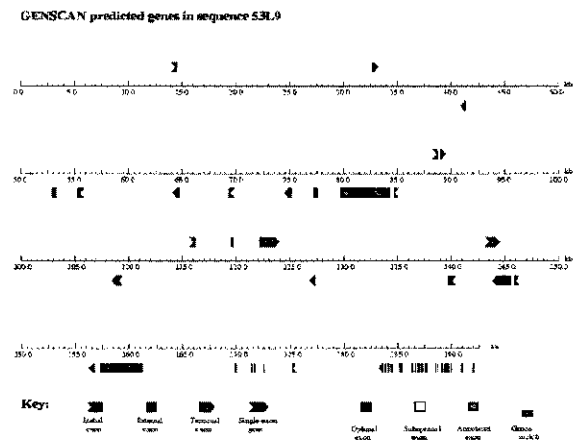


図1 GenSan コンピュータ遺伝子予測プログラムによる候補領域の推定。候補領域をほぼカバーするBACクローン、53L9についての解析結果。合計12個の遺伝子が予測されている。

2. 遺伝子のエクソン部位として予測された領域のSNPsの同定

予測された遺伝子のエクソン部位を中心に、プライマーセットをデザインし、PCR増幅し、患者4例、健常者6例につき、直接シーケンス法を行い、塩基配列を決定した。合計10例（20染色体）で、塩基配列の差異が認められた場合、これをSNP（もしくはその候補）として、同定した（図2）。その結果、50以上の新規SNPsが同定された。これらの多くは、現存するSNPデータベー

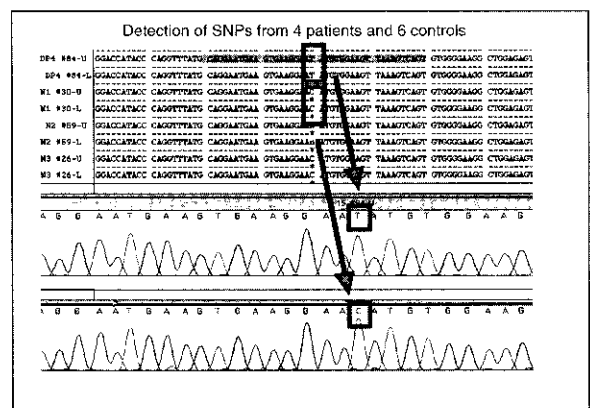


図2 SNPの同定例 この例では、DPB患者のひとりでは、T/Tとなっているが、健常人のひとりではC/Cとなっている。

スには未登録のものであった⁵⁾。

3. 遺伝子のエクソン部位として予測された領域の SNPs の頻度

新規 SNPs は、500 bp あたり、約 2 個平均存在した。多い領域では、500 bp あたり 8 個の SNPs が存在した(図 3)。

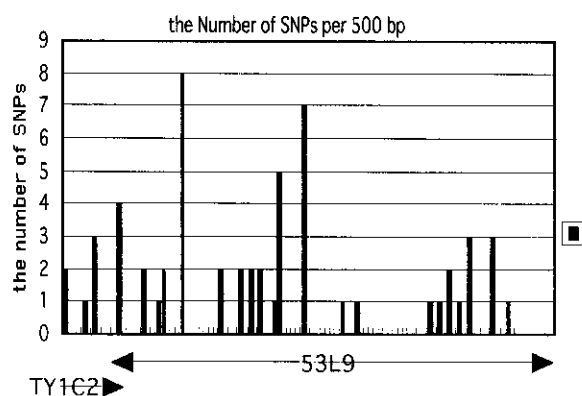


図 3 500 bp あたりに認められた SNP (もしくはその候補) の数。多いところでは、8 個認められる。平均 2 個程度存在している。

考案・結論

本年、ヒトゲノムのドラフト配列が発表されて、埋められないすき間はあるものの、解読しうるヒトゲノムのほぼ全容が明らかになった⁶⁾。その過程で、100 万個以上の SNP も登録され、SNP ベースの疾患感受性遺伝子の同定が行われつつある⁷⁾。HLA クラス I 領域は、このドラフト配列に先立つ 1 年前に、完全配列として、2 つのグループにより、解読された⁸⁾。このような背景の下で、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-B*54、A*11 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、昨年、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すことができた。この結果、DPB は HLA 領域に疾患感受性遺伝子が存在する遺伝的要因を有する疾患として、初めて、遺伝的要因を有する疾患およびその責任遺伝子の国際データベースである "Mendelian Inheritance in Men" に登録された⁹⁾。この領域に既知の遺伝子が報告されていなかったため、本年度は、遺伝子予測プログラムによる遺伝子座の推定とそれらの座位を中心とした遺伝子変異の検討 (SNPs 解析) を行った。

その結果、予想以上に、この領域に多くの SNPs (あるいはその候補) が存在することが明らかになり、疾患感受

性遺伝子とその責任 SNP の同定には今後しばらくの時間を要するものと予想された。これらの新規遺伝マーカーを用いた関連分析により、さらなる候補領域の絞り込みと、予測される遺伝子のクローニングを行うことにより、DPB の主要感受性遺伝子を明らかにしく予定である。

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感謝いたします。

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
- 4) <http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>
- 5) <http://snp.cshl.org/>
- 6) International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921, 2001
- 7) The International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 409: 928-933, 2001
- 8) The MHC sequencing consortium: Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature* 401: 921-923, 1999
- 9) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Omim/dispimim?604809>

マクロライド抗生物質のサイトカイン発現抑制作用： その細胞内機構へのアプローチ

滝沢 始* 出崎 真志 岡崎 仁

びまん性汎細気管支炎に著効を示す 14 員環マクロライド系抗生物質において、サイトカイン/ケモカインの産生、遊離を抑制することが注目される。我々は、これらに共通して重要な転写調節因子 (NF κ B, AP-1) の活性化に対して、マクロライドの前処理が抑制的に作用することを明らかにした。今年度、1) マクロライドの抗菌作用をもたない各種誘導体の作用を検討し、これらがヒト気道上皮細胞株からの IL-8 産生を有意に抑制すること、転写調節因子 (NF κ B, AP-1) の活性化をさまざまな程度に抑制することを明らかにした。この事実は、マクロライドの抗炎症作用が抗菌作用とは別の構造活性相関をもつことを意味し、新しい抗炎症薬開発に道を開く知見である。さらに、2) NF κ B 活性化経路において重要な I κ B のリン酸化過程について検討し、マクロライドはこの過程に影響しないことが判明した。

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

Hajime Takizawa, Masashi Desaki, and Hitoshi Okazaki

Department of Laboratory Medicine, and Department of Respiratory Medicine, University of Tokyo, School of Medicine, Tokyo, Japan

Previous studies indicated that 14-member macrolide antibiotics have an anti-inflammatory activity, which is one of the important mechanisms of therapeutic efficacy for the treatment of airway inflammatory disorders such as diffuse panbronchiolitis. Erythromycin (EM) and clarithromycin (CAM) showed an inhibitory effect on IL-8 mRNA transcription in human bronchial epithelial cells, and also on activation of transcription factors NF κ B and AP-1. We addressed a question of whether 14-ring member derivatives of these antibiotics 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, CAM, and other derivatives for 24 hours, and then were stimulated with PMA (10^{-7} M). Several derivatives in addition to EM and CAM showed a suppressive effect on the activation of NF κ B and AP-1 transcription factors by electrophoretic mobility shift assay. We further studied if EM had any effect on the phosphorylation processes of inhibitor of NF κ B (I κ B), one of the crucial steps of NF κ B activation. TNF α induced a rapid phosphorylation of I κ B, but EM pretreatment did not show any significant effect on these processes. These results suggested that 1) the suppressive activity of macrolide antibiotics on activation of transcription factors such as AP-1 and NF κ B were apart from their anti-microbial potentials, and therefore, new type of anti-inflammatory agents might be developed, and 2) the macrolides seemed to affect the stages later than I κ B phosphorylation in the cytosol.

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いでいた⁴⁾。昨年度、治療域濃度のエリスロマイシン (EM, 10⁻⁶M) およびクラリスロマイシン (CAM) を種々の条件で前添加した系において検討し⁵⁾、24 時間の前処置により、明らかな NFκB, AP-1 の活性化抑制作用を見出した。

そこで、今年度は、さらに抗菌作用のない類縁誘導体でも、このような抗炎症作用を示しうるのか否か、及び、NFκB の活性化過程で重要な inhibitor of NFκB (IκB) のリン酸化過程へのマクロライドの影響を検討した。

対象と方法

- 1) ヒト気管支上皮細胞株 BET-1A を用い、ホルモン・成長因子を添加した Ham's F12 液にて培養した。
- 2) 北里研究所大村 智先生、砂塚敏明先生から供与を受けたマクロライドの各種誘導体を前投与したのち、phorbol myristate acetate (PMA, 10⁻⁷M) 刺激を行い核タンパクを抽出した。
- 3) NFκB, AP-1 各々に特異的な DNA 配列を ³²P で標識し、electrophoretic mobility shift assay (EMSA, ゲルシフトアッセイ) にて、その活性化を検討した。
- 4) 上記の刺激後 24 時間後の培養上清も採取し、IL-8 を特異的 ELISA にて測定した。
- 5) BET-1A 細胞を EM 10⁻⁶M 存在下および非存在下に PMA (10⁻⁷M) あるいは tumor necrosis factor (TNF)-α (10ng/ml) で刺激し、経時的にタンパクを抽出し、NFκB の核内移行に重要な IκB のリン酸化過程へのマクロライドの影響をウエスタンブロット法にて検討した。

結 果

(1) EM, CAM 及び 14 員環各種マクロライド誘導体前処置による転写因子 NFκB 活性化への影響：

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、PMA 刺激後 1 時間

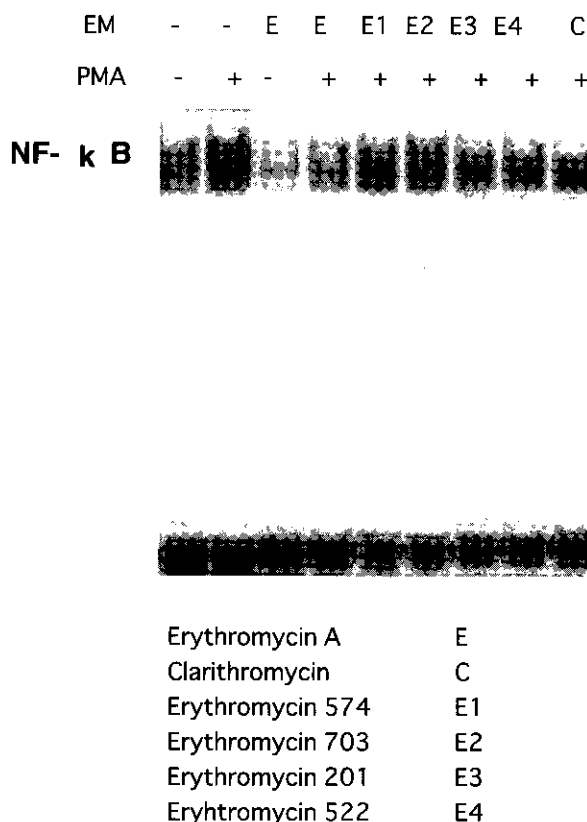


図 1 ヒト気管支上皮細胞株 BET-1A の PMA 刺激による NFκB の活性化に及ぼす EM, CAM, 及びその誘導体の影響。これら薬剤の前処置後 24 時間後に PMA 刺激した場合の NFκB 活性化をゲルシフトアッセイで検討した。

でみると、EM および CAM 添加によって、その活性化が抑制された。一方、今回用いた誘導体においては、EM の 4 種類の誘導体のうち EM201, EM522 は、10⁻⁶M, 24 時間の前処理により NFκB の活性化を抑制した。EM574 では明らかでなかった。

(2) EM, CAM 及び 14 員環各種マクロライド誘導体前処置による転写因子 AP-1 活性化への影響：

BET-1A に EM, CAM を 24 時間前処理ののちに PMA を添加した場合、AP-1 結合の抑制を認めた (図 2)。AP-1 の活性化については、4 種ともに明らかな抑制作用を示した。

その程度は誘導体により異なり、また抗菌作用の全くないものにも認められた。

(3) マクロライド誘導体によるヒト気道上皮細胞からの IL-8 産生抑制：

これらの薬剤添加により気道上皮細胞からの IL-8 産生も同時に抑制されていた (図 3)。

(4) IκB のリン酸化に及ぼす TNFα 及び PMA の効果：

図 4 に示すように、TNFα 刺激により NFκB の核内移行に重要な IκB のリン酸化がウエスタンブロット法にて明らかに認められた。一方、PMA 刺激によっては明らかなリン酸化は認めなかった。そこで、マクロラ

イドの効果は、TNF α 刺激下で検討した。

(5) I κ B のリン酸化に及ぼす EM の前処理の効果：

EM 10 μ M を 24 時間前処置し、TNF α 刺激によって誘導される I κ B のリン酸化への作用を検討した。図 5 に示すように、この過程には明らかな変化は観察されなかった。

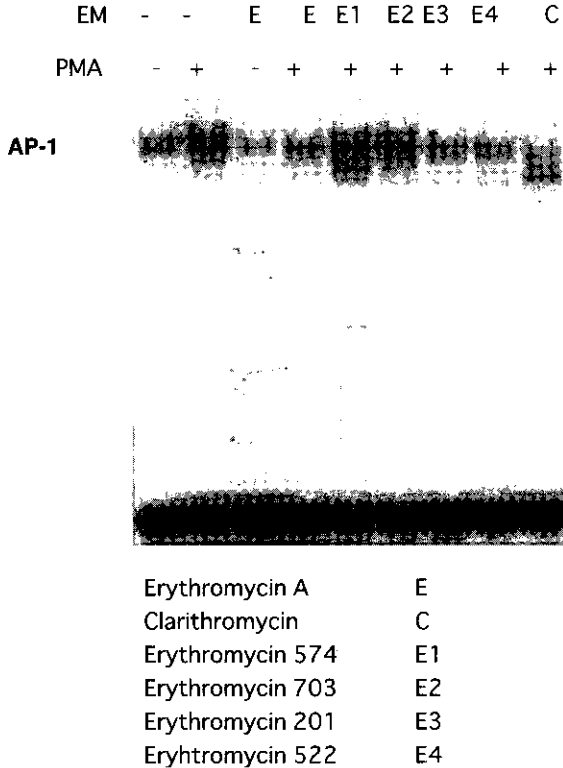


図 2 ヒト気管支上皮細胞株 BET-1A の PMA 刺激による AP-1 活性化に対する EM, CAM 及びその誘導体の影響。これら薬剤の前処置後 24 時間後に PMA 刺激した場合の AP-1 の活性化に対してさまざまな程度での抑制がみられた。

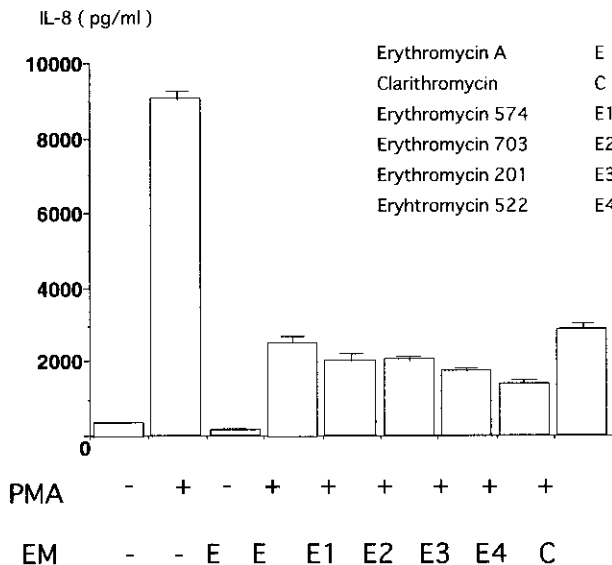


図 3 ヒト気管支上皮細胞株 BET-1A の PMA 刺激による IL-8 産生への EM, CAM 及びその誘導体の影響。各薬剤とも非毒性濃度で明らかな抑制作用を示した。

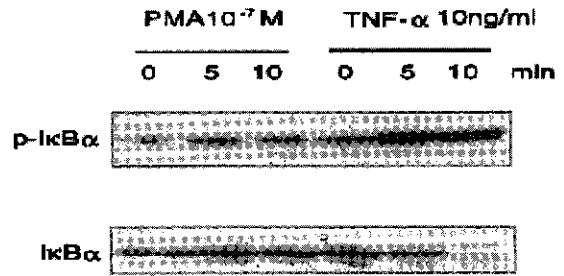


図 4 ヒト気管支上皮細胞株 BET-1A の PMA 及び TNF α 刺激による I κ B のリン酸化

TNF α 刺激による I κ B のリン酸化は 5 分をピークにして明らかに認められた。しかし、PMA では認められなかった。ウェスタンブロット法による。上段：リン酸化 I κ B，下段：全 I κ B

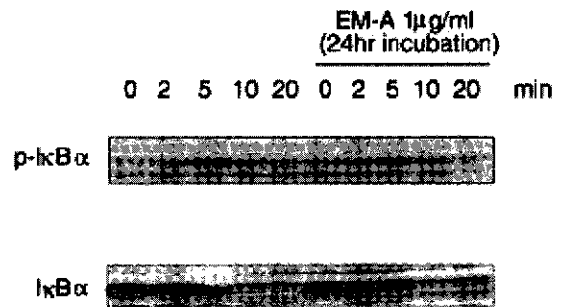


図 5 TNF α 刺激による I κ B のリン酸化に対する EM (10 μ M, 24 時間前処置) の影響。

EM の処置は TNF α 刺激による I κ B のリン酸化には、明らかな作用を示さなかった。

考察・結論

前年度の研究により、14 員環マクロライド抗生物質の前投与により、IL-8 をはじめとする炎症性分子の発現調節に重要な転写因子 NF κ B, AP-1 の活性化が抑制されることが明らかになった。そこで、今年度は、抗菌作用のないマクロライド誘導体(北里研究所 大村 智先生ご供与)にも同様の活性があるかを検討した。その結果、試みた数種の誘導体に明らかな転写因子活性化への抑制作用を認めた。このことは、抗菌作用を切り離れた新しい抗炎症剤の開発に展望を与えるものと思われる⁶⁾。一方、NF κ B の核内移行に重要な I κ B の細胞質内のリン酸化にマクロライドが明らかな作用を示さなかったことは、実験系による問題も考慮する必要があるものの、図 6 にみるような核内への移行や DNA 結合部位への結合性への作用を推測させるものであった。今後、より上流の MAPKinase 系への解析に加え、DNA 結合能への影響も検討される必要がある⁷⁾。

以上結論として、1) マクロライドの抗菌作用をもたない各種誘導体が転写調節因子(NF κ B, AP-1)の活性化を

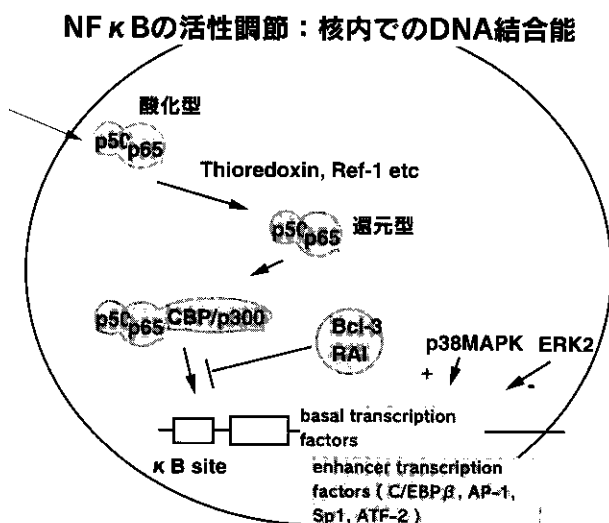


図6 NFκB活性化機構のうち核内への移行とDNA結合能までのステップ
Thioredoxinなどの還元化因子が結合能増強に重要であり、また、さまざまな核内修飾因子の存在が知られている。

抑制することが判明した。2) NFκBの活性化への作用機構については、IκBのリン酸化過程より下流の検討が必要である。

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) Sunazuka T, Takizawa H, Desaki M, Suzuki K, Obata R, Otaguro K, Omura S: Effects of erythromycin and its derivatives on interleukin-8 release by human bronchial epithelial cell line BEAS-2B cells. *J. Antibiotics* 52: 71-74, 1999.
- 7) Jobin C, Sartor RB. The IκB/NFκB system: a key determinant of mucosal inflammation and protection. *Am. J. Physiol Cell Physiol.* 278: C451-462, 2000.

マクロライド長期療法における 緑色レンサ球菌の耐性化に関する検討

田口 善夫^{1*} 井上 哲郎¹ 相原 雅典² 小松 方²

マクロライド少量長期療法における薬剤耐性化の可能性を明らかにするために当院外来通院中のマクロライド長期投与症例および非投与症例について口腔内常在菌の緑色レンサ球菌群を分離・同定した後、8薬剤(PCG, CTX, IPM, LVFX, EM, CAM, RKM, CLDM)についてMICを測定し、比較検討した。結果としてPCG, LVFX, EM, CAM, RKM, CLDMにおいてマクロライド投与群でMICが高値で、有意に耐性化がみられ、特にマクロライド系薬剤での耐性化が高度であった。またマクロライド剤については14印環系薬剤と16印環系薬剤で耐性化に差が認められた。以上の結果からマクロライド剤投与による耐性化誘導の可能性が示唆され、臨床上不用意な投与を避けるべきと考えられた。

Investigation for macrolides induced resistance to antibiotics in the patients with long-term macrolides treatment.

Yoshio Taguchi¹, Tetsuro Inoue¹, Masanori Aihara², Masaru Komatsu²

1. Department of Respiratory Medicine, Tenri Hospital, Nara
2. Division of Bacteriology, Tenri Hospital

For the assessment of resistance to antibiotics induced by long-term macrolides therapy, we isolated viridians streptococci, which are normal inhabitants of the oral cavity, from the patients with or without macrolides therapy. After identification of viridians streptococci, we examined each minimum inhibitory concentrations (MICs) to antibiotics (PCG, CTX, IPM, LVFX, EM, CAM, RKM and CLDM), and compared MICs in two groups. MICs to all drugs are increased more in the patients with macrolides therapy than in those without it. There were significant resistances to EM, CAM, RKM, CLDM, PCG, and LVFX. Especially macrolides including EM, CAM, and RKM showed high resistance. There were different patterns of the resistances seen in the groups: EM and CAM with 14 member lactone ring and RKM with 16 member lactone ring. We considered that unnecessary therapy should be avoided because macrolides therapy induces resistance to many antibiotics.

はじめに

1984年DPBにたいするerythromycin(以下EM)を中心とした有効性が報告¹⁾され、昨年度の班会議ではDPBにたいするマクロライド療法のガイドラインが作成²⁾された。また慢性気道炎症性疾患のみならず副鼻腔炎などの病態に対してもその有効であり副鼻腔炎にたいするガイドラインも作成³⁾されている。この結果我が国においては様々な臨床の現場でマクロライド剤(MLs)が投与されている。一方このことは抗菌剤という面からは、問題も生じている。すなわち抗菌剤としての薬剤が長期、しかも少量使用されることにより市中でのMLsの耐性化⁴⁾が生じている。実際に近年はPRSP(penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae*)などを始めとする耐性菌が問題となっている。このような観点からMLs長期療法中の患者で実際にMLs投与が耐性化にどの程度関与しているかを検討する必要があるものと判断した。このためMLs長期療法患者における肺炎球菌のMLs耐性化の指標を得る目的のため患者の上気道常在性緑色レンサ球菌群を対象に以下の検討を行った。

対象と方法

1999年6月から9月にかけて当院外来通院中の症例の中からMLs少量長期療法を6ヶ月以上行った症例(MLs群)を無作為に抽出し、対照症例としては同時期に外来通院中の非MLs投与症例とした。いずれの症例についても口頭でインフォームドコンセントを得た後に咽頭拭い液を採取し、血液寒天培地で緑色レンサ球菌を分離し、-80℃で冷凍保存した。その後凍結保存した菌株を一括してVITEK SYSTEMS ATB expressionにより同定(bio-Merieux社製)を行うと同時に、治療標準微量液体希釈法を用いて、PCG, CTX, IPM, LVFX, EM, CAM, RKMおよびCLDMの8薬剤について各々のMICを測定した。また、そのMIC値により感性、不完全耐性、耐性について各薬剤について分類し検討した。なお統計学的検討には χ^2 検定ならびにG検定を用いた。

結 果

検討症例はMLs群59例で、非MLs群は46例であった。咽頭拭い液の培養で得た菌株は、MLs群62株、非MLs群48株で合計110株であった。主な同定菌名としてはMLs群では*S.parasanguis* 21株、*S.mitis* 20株、

S.salivarius 7株、*S.oralis* 5株および*S.sanguis* 2株。非MLs群*S.parasanguis* 10株、*S.mitis* 11株、*S.salivarius* 3株、*S.oralis* 12株および*S.sanguis* 6株であった。(表1)

表1 両群での分離菌

Organism	EM(+)	EM(-)	Total
<i>A.adiacens</i>	1	0	1
<i>G.morbilloorum</i>	2	1	3
<i>Leuconostoc</i> spp.	0	1	1
<i>S.bovis</i>	0	2	2
<i>S.gordonii</i>	0	2	2
<i>S.mitis</i>	20	11	31
<i>S.oralis</i>	5	12	17
<i>S.parasanguis</i>	21	10	31
<i>S.salivarius</i>	7	3	10
<i>S.sanguis</i>	2	6	8
<i>S.vestibularis</i>	4	0	4
Total	62	48	110

また各々の菌株にたいする同定信頼度はExcellent 31株、Very good 23株、Good 29株、Acceptable 9株、Low discrimination 2株、Doubtful 12株であった。

分離菌株のMIC値をMLs群と非MLs群で比較すると、PCGではMLs群のMIC₅₀, 80, 90は各々0.12, 0.25, 1 μ g/ml、非MLs群では0.06, 0.12, 0.25 μ g/mlであった。感受性(S)は0.12 μ g/ml以下、不完全耐性(I)は0.25~24 μ g/ml、耐性(R)は4 μ g/ml以上でMLs群ではSは35株、Iは25株、Rは2株であり非MLs群ではSは39株、Iは9株、Rは0株であり有意差(p<0.05)を認めた(表2)。CTXではMLs群のMIC₅₀, 80, 90は各々0.12, 0.5, 1 μ g/ml、非MLs群では0.06, 0.25, 0.25 μ g/mlであった。Sは0.5 μ g/ml以下、Iは1 μ g/ml、Rは2 μ g/ml以上でMLs群ではSは51株、Iは6株、Rは5株であり非MLs群ではSは46株、Iは1株、Rは1株であり有意差はなかった(表3)。IPMではMLs群のMIC₅₀, 80, 90は各々0.03, 0.12, 0.25 μ g/ml、非MLs群では0.015, 0.03, 0.03 μ g/mlで両群とも全例感性菌であった(表4)。LVFXではMLs群のMIC₅₀, 80, 90は各々2, 8, 32 μ g/ml、非MLs群では2, 2, 2 μ g/mlであった。Sは2 μ g/ml以下、Iは4 μ g/ml、Rは8 μ g/ml以上でMLs群ではSは46株、Iは2株、Rは14株であり非MLs群ではSは45株、Iは1株、R2株であり有意差(p<0.05)を認めた(表5)。EMではMLs群のMIC₅₀, 80, 90は各々8, >64, >64 μ g/ml、非MLs群では0.25, 2, 4 μ g/mlであった。Sは0.25 μ g/ml以下、Iは0.5 μ g/ml、Rは1 μ g/ml以上でMLs群ではSは2株、Iは0株、Rは60株であり非MLs群ではSは28株、Iは1株、Rは19株であり有意差(p<0.0001)を認めた(表6)。CAMではMLs群のMIC₅₀, 80, 90は各々2, >64, >64 μ g/ml、非MLs群では0.06, 1, 2 μ g/mlであった。Sは0.25 μ g/ml以下、Iは0.5 μ g/ml、Rは1 μ g/ml以上でMLs群ではSは2株、Iは2株、Rは58株であり非MLs群ではSは29株、Iは4株、Rは15株であり有意差(p<0.0001)を認めた(表7)。RKMではMLs群のMIC₅₀,

1. 天理よろづ相談所病院呼吸器内科
 2. 同 細菌室
- * びまん性肺疾患研究班 研究協力者

80, 90は各々0.5, >64, >64 μ g/ml, 非MLs群では0.5, 0.5, 0.5 μ g/mlであった。耐性化基準はCAMに準じSは0.25 μ g/ml以下, Iは0.5 μ g/ml, Rは1 μ g/ml以上としMLs群ではSは26株, Iは13株, Rは23株であり非MLs群ではSは23株, Iは21株, Rは4株であり有意差(p<0.001)を認めた(表8)。およびCLDMではMLs群のMIC50, 80, 90は各々0.06, >64, >64 μ g/ml, 非MLs群では0.06, 0.12, 0.25 μ g/mlであった。Sは0.12 μ g/ml以下, Iは0.25~0.5 μ g/ml, Rは1 μ g/ml以上としMLs群ではSは36株, Iは1株, Rは26株であり非MLs群ではSは44株, Iは0株, Rは4株であり有意差(p<0.001)を認めた(表9)。

表2 PCGでのMICと感受性

EM	MIC ₅₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀	S	I	R	合計
+	0.12	0.25	1	35	25	2	62
-	0.06	0.12	0.25	39	9	0	48

S \leq 0.12 μ g/ml, R \geq 4 μ g/ml
G検定 p<0.05

表3 CTXでのMICと感受性

EM	MIC ₅₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀	S	I	R	合計
+	0.12	0.5	1	51	6	5	62
-	0.06	0.25	0.25	46	1	1	48

S \leq 0.5 μ g/ml, R \geq 2 μ g/ml
NS

表4 IPMでのMICと感受性

EM	MIC ₅₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀	S	I	R	合計
+	0.03	0.12	0.25	62	0	0	62
-	0.015	0.03	0.03	48	0	0	48

S \leq 0.5 μ g/ml
NS

表5 LVFXでのMICと感受性

EM	MIC ₅₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀	S	I	R	合計
+	2	8	32	46	2	14	62
-	2	2	2	45	1	2	48

S \leq 2 μ g/ml, R \geq 8 μ g/ml
G検定 <0.05

表6 EMでのMICと感受性

EM	MIC ₅₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀	S	I	R	合計
+	8	>64	>64	2	0	60	62
-	0.25	2	4	28	1	19	48

S \leq 0.25 μ g/ml, R \geq 1 μ g/ml
G検定 p<0.0001

表7 CAMでのMICと感受性

EM	MIC ₅₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀	S	I	R	合計
+	2	>64	>64	2	2	58	62
-	0.06	1	2	29	4	15	48

S \leq 0.25 μ g/ml, R \geq 1 μ g/ml
G検定 p<0.0001

表8 RKMでのMICと感受性

EM	MIC ₅₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀	S	I	R	合計
+	0.5	>64	>64	26	13	23	62
-	0.5	0.5	0.5	23	21	4	48

CAMに準じた S \leq 0.25 μ g/ml, R \geq 1 μ g/ml
 χ^2 検定 p<0.001

表9 CLDMでのMICと感受性

EM	MIC ₅₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀	S	I	R	合計
+	0.06	>64	>64	35	1	26	62
-	0.06	0.12	0.25	44	0	4	48

S \leq 2 μ g/ml, R \geq 8 μ g/ml
G検定 p<0.001

考案

DPBにたいするMLs療法は工藤らの報告¹⁾以来数々の検討がなされその有効性については確立された。また下気道感染症のみならず副鼻腔炎にたいする療法としても確立され、現在では慢性副鼻腔炎にたいしても標準的な治療法³⁾となっている。しかし一方では本療法が少量の抗菌剤をしかも長期にわたり投与することから耐性化の問題が危惧されていることも事実である。実際我が国における肺炎球菌にたいするマクロライド剤の耐性化は高度⁴⁾であり、臨床上問題となっている。今回我々はこの事実を確認する手段として長期MLs投与症例と対象として本院通院中のMLs非投与群について緑色レンサ球菌群について菌株を同定するとともにPCG, CTX, IPM, LVFX, EM, CAM, RKMおよびCLDMの8薬剤についてMICを測定してMIC50, 80, 90を測定し、各薬剤について感性, 不完全耐性, 耐性について検討したところEM, CAM, RKMおよびCLDMのMLs系剤にいずれも有意差をもって耐性化が明らかであった。このことはMLs継続投与が薬剤耐性化を促進している事実を強く疑わせるものであり、不必要なMLs投与を避けるべきであることを示唆しているものと考えられた。また14員環と16員環での耐性に差がみられたことは薬剤耐性機序についての違いによるものであるものと考えられた。さらにMLs投与群ではPCGやLVFXでも耐性化を来していることが明らかであり、この原因についても今後慎重に検討していく必要があるものと考えられた。

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) 中田紘一郎, 田口善夫, 工藤翔二: DPBの治療ガイドライン 最終報告. 厚生科学研究特定疾患対策研究

- 事業びまん性肺疾患研究班平成11年度報告書 p111, 2000
- 3) 羽柴基之, 洲崎春海, 古田 茂, 柳 清, 大山 勝, 馬場駿吉: 清水喜八郎, 大村 智 監修/工藤翔二 責任編集; 炎症・免疫とマクロライド UP TO DATE 2 ; 慢性副鼻腔炎に対するマクロライド療法のガイドライン. p48-55, 1999, 医薬ジャーナル, 東京.
- 4) 生方公子: 紺野昌俊, 生方公子 編; 改訂 ペニシリン耐性肺炎球菌; 各種薬剤に対する感受性. P45-52, 1999, 協和企画通信, 東京.