

- associated with polymyositis/dermatomyositis. *Ann Rheum Dis.* 59: 257-62 2000.
- 5) Fukaya S, Oshima H, Kato K, Komatsu Y, Matsumura H, Ishii K, Miyama H, Nagai T, Tanaka I, Mizutani A, Katayama M, Yoshida S, Torikai K. KL-6 as a novel marker for activities of interstitial pneumonia in connective tissue diseases. *Rheumatol Int.* 19: 223-5 2000.
 - 6) Nakajima H, Harigai M, Hara M, Hakoda M, Tokuda H, Sakai F, Kamatani N, Kashiwazaki S. KL-6 as a novel serum marker for interstitial pneumonia associated with collagen diseases. *J Rheumatol.* 27: 1 164-70 2000.
 - 7) Kohno N. Serum marker KL-6/MUC1 for the diagnosis and management of interstitial pneumonitis. *J Med Invest.* 46: 151-8 1999.
 - 8) Yokoyama A, Kohno N, Kondo K, Ueda S, Hirasawa Y, Watanabe K, Takada Y, Hiwada K. Comparative evaluation of sialylated carbohydrate antigens, KL-6, CA19-9 and SLX as serum markers for interstitial pneumonia. *Respirology.* 3 : 199-202 1998
 - 9) Kohno N, Yokoyama A, Hirasawa Y, Kondo K, Fujino S, Abe M, Hiwada K. Comparative studies of circulating KL-6, type III procollagen N-terminal peptide and type IV collagen 7S in patients with interstitial pneumonitis and alveolar pneumonia. *Respir Med.* 91 : 558-61 1997.
 - 10) Kobayashi J, Kitamura S. KL-6: a serum marker for interstitial pneumonia. *Chest.* 108: 311-5 1995.
 - 11) Kohno N, Awaya Y, Oyama T, Yamakido M, Akiyama M, Inoue Y, Yokoyama A, Hamada H, Fujioka S, Hiwada K. KL-6, a mucin-like glycoprotein, in bronchoalveolar lavage fluid from patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis.* 148: 637-42 1993.
 - 12) Basset F, Ferrans VJ, Soler P, Takemura T, Fukuda Y and R. G. Crystal. Intraluminal fibrosis in interstitial lung disorders. *Am J Pathol.* 122: 443-461 1986.
 - 13) Fukuda Y, Ferrans VJ, Schoenber Cl, Rennard SI, and Crystal RG. Patterns of pulmonary structural remodeling after experimental paraquat toxicity: The morphogenesis of intraalveolar fibrosis. *Am J Pathol.* 118: 452-475 1985.
 - 14) Fukuda Y, Ishizaki M, Masuda Y. The role of intraalveolar fibrosis in the process of pulmonary structural remodeling in patients with diffuse alveolar damage. *Am J Pathol.* 126: 171-182 1987.
 - 15) Kawamoto M, Fukuda Y. Cell proliferation during the process of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Acta Pathol Jpn.* 40: 227-238 1990.
 - 16) Usuki J, Fukuda Y. Evolution of three patterns of intra-alveolar fibrosis produced by bleomycin in rats. *Pathol Int.* 45: 552-564 1995.
 - 17) Fukuda Y, Mochimaru H, Terasaki Y, Kawamoto M, Kudoh S. Mechanism of structural remodeling in pulmonary fibrosis. *Chest.* 120 (Suppl) : 41S-43S 2000.
 - 18) Stahel RA, Gilks WR, Lehmann HP, Schenker T. Third International Workshop on Lung Tumor and Differentiation Antigens: overview of the results of the central data analysis. *Int J Cancer. Suppl* 8: 6-26 1994.
 - 19) Yokoyama A, Kohno N, Hamada H, Sakatani M, Ueda E, Kondoh K, Hirasawa Y, Hiwada K. Circulating KL-6 predicts the outcome of rapidly progressive idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 158: 1680-1684 1998.

肺癌切除例における術後間質性肺炎発症における 術前限局性間質性肺炎所見の意義

千田 雅之¹ 半田 政志¹ 小野 修一² 高橋 里美¹
谷田 達男³ 近藤 丘^{4*}

肺癌手術後の致命的合併症として急性間質性肺炎 (AIP) は重要であり、その発症に限局性の interstitial pneumonia (IP) の関与が指摘されている。今回、特に限局性 IP に着目し、術前 CT から術後 AIP 発症の高危険群を同定しうるかを目的とし、病理学的な IP に相当する CT 所見 (IP 所見) の有無を検討した。当科にて 96 年から 98 年までの 3 年間に手術を施行した肺癌症例は 553 例。この間の術後 AIP 発症例は 9 例 (1.6%) であり、死亡例は 6 例であった。9 例のうち 8 例に術前 CT 上限局性 IP 所見を認めたが、術前に間質性肺炎と診断されていた症例はなかった。一方、術前胸部 CT を再読影し得た 303 例の検討では、IP 所見を肺癌切除例の 11.9% に認めた (びまん性 2.3%, 限局性 9.6%)。術後 AIP 発症率は、IP 所見を認める症例から 11.8%, IP 所見を認めない症例から 0.2% と、有意に術前 CT にて IP 所見を有するものに発症率が高かった。限局性であっても術前 CT にて IP 所見を有するものは、術後間質性肺炎を発症する可能性があり、注意が必要と考えられた。

Localized Interstitial Pneumonia is a Risk Factor of Postoperative Acute Interstitial Pneumonia (AIP) after Thoracotomy for Lung Cancer

Masayuki Chida¹, Masashi Handa¹, Syuichi Ono², Satomi Takahashi¹
Tatsuo Tanita³, Takashi Kondo⁴

¹ Department of Surgery, Sendai Kosei Hospital

² Department of Radiology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

³ Department of Thoracic Surgery, Iwate Medical University, School of Medicine

⁴ Department of Surgery, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

To evaluate the usefulness of computed tomography (CT) for detection of interstitial pneumonia (IP) as a risk factor of postoperative acute interstitial pneumonia (AIP).

Methods and Results: A total of 553 patients with primary lung cancer underwent thoracotomy. Nine (1.6%) had postoperative AIP. Six of the 9 died due to AIP and 8 of the 9 had localized IP findings on chest CT. Chest CT of 303 patients were reviewed retrospectively, and 36 (11.9%) had IP findings (diffuse 2.3%, localized 9.6%). Postoperative AIP occurred in 11.8% of patients with IP findings, but only in 0.2% without such findings ($p=0.0001$).

Conclusion: Detection of IP findings by chest CT is important to identify the high-risk patients who may have postoperative AIP after thoracotomy.

はじめに

周術期管理技術の向上にも関わらず、肺癌切除手術後の合併症に伴う在院死は未だ数%認められる^{1,3)}。重要な術後合併症として、肺炎、気管支炎、肺塞栓症などとともに、間質性肺炎が挙げられる。術後の急性間質性肺炎 (acute interstitial pneumonia: AIP) は、術後在院死の 29 ~ 32% を占めるとされており^{4,5)}、ひとたび発症すると致死性が高く⁶⁾、その発症のメカニズムの解明は重要である。一般に、間質性肺炎 (interstitial pneumonia: IP) は、手術侵襲や肺炎を契機に急性増悪を来すことが知られているが、術後 AIP を発症するものが、必ずしも術前 IP と診断されているわけではない。しかし、最近、びまん性陰影を呈さず臨床症状に乏しいため IP として管理されていない、あるいは認識されていないものの中に、病理学的に胸膜直下に限局した usual interstitial pneumonia (UIP) を示すものがあり、これらが時に特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonia: IIP) に進展したり、手術を契機に急性増悪することがあると報告された^{7,8)}。このことは、手術後に発症する AIP は、術前に気づかれなかった限局性 IP 症例から急性増悪が起こったものである可能性を示している。そこで今回我々は、特に限局性 IP に注目し、1: 術後 AIP を発症した症例における、限局性 IP の有無。2: 術前の CT における CT 上の IP 画像所見から術後 AIP 発症高リスク群を同定しうるかの 2 点につき検討した。

対象・方法

対象は 1996 年 1 月から 98 年 12 月まで当施設にて原発性肺癌切除を施行した 553 例である。手術前の胸部 CT のレトロスペクティブな読影を施行し、病理学的な UIP に対応する CT 所見 (以下 IP 所見) の有無を検討した。その基準として、蜂窩肺の形成、網状影、スリガラス陰影などをを用い^{9,10)} 総合的

に判断した。重力効果によると思われる curvilinear shadow, dependent density (重力効果によるスリガラス陰影) は除外した。dependent な部位を越えない陰影は蜂窩肺を認めない限り除外した。壁の薄い嚢胞で気腫性変化と鑑別が困難なもの¹²⁾ も除外した。読影した術前の胸部 CT に用いられた CT 撮影条件は、スライス厚 10mm, ウインドウ幅 2,000, ウインドウレベル -700 であった。Thin slice CT が撮られているものはその画像も参照した。また、健常対照群として、同時期に当院にて胸部 CT 検診を受けた 275 例においても同様な検討を加えた。読影は、呼吸器科医と放射線医により二十読影を施行した。びまん性に IP 所見を有するものをびまん性 IP 所見陽性例、胸膜直下を中心に限局的な病変の広がりにとどまるものを限局性 IP 所見陽性例とした。術後 AIP 発症例では、切除肺の病理学的検討を行い UIP の有無を検討した。術後急性間質性肺炎の診断は、胸部 X 線写真、胸部 CT, LDH 等の生化学検査、autopsy などから総合的に診断した。統計学的検討は、chi-square 検定にて行い、 $p < 0.01$ をもって有意とした。

結 果

原発性肺癌に対する肺切除を施行した 553 例中、術後 AIP を発症した症例 (図 1) は 9 例であり、これは全症例の 1.6% であった。9 例全例とも術前に IP との診断はなされていなかった。術後間質性肺炎発症者 9 例中 8 例に術前 CT にて限局性 IP 所見を認めた (図 2A)。また、切除肺の検討においても限局性 IP 所見陽性例には、相当する肺線維化病変を認めた。発症後、抗生剤等の使用薬剤は変更された。薬剤刺激試験をした症例で、起因薬剤を同定し得たものはなかった。全例にステロイドのパルス療法が試みられたが、術後間質性肺炎発症者 9 例中 6 例、67% が死亡した。発症病日は、術後第 2 病日が 3 例 (2 例死亡)、第 3 病日が 3 例 (2 例死亡)、第 4 病日が 1 例 (生存)、第 6 病日が 1 例 (死亡)、第 11 病日が 1 例 (死亡) であった。全例で発症まで 38 度を越す高熱の持続が観察された。第 11 病日に発症した症例では術後肺炎の併発が疑われ、手術侵襲による発症の他、引き続き肺炎を契機に発症した可能性も考えられる。発症病日と

- 1 仙台厚生病院外科
- 2 東北大学加齢医学研究所機能画像
- 3 岩手医科大学呼吸器外科
- 4 東北大学加齢医学研究所呼吸器再建研究分野
- * びまん性肺疾患研究班 分担研究者



図1 Chest CT showed non-segmental and non-gravity dependent ground-glass opacity in peripheral lung field. There is no finding of lung edema, such as perivascular cuffing or hilar swelling.

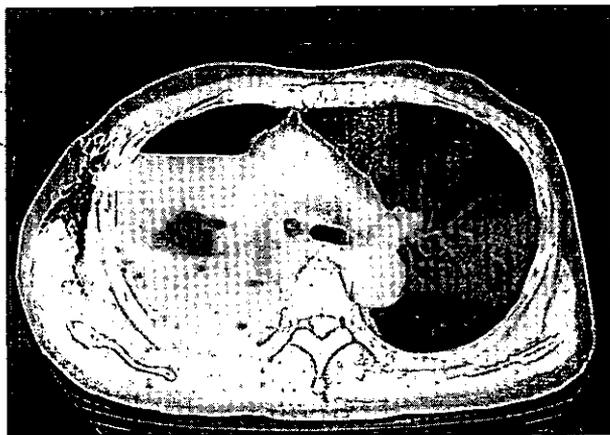


図2A Chest CT showed honeycomb findings in the subpleural space, defined as localized IP findings in this study.

死亡に関係は認めなかった。死亡例の平均罹病期間は30.5日であった。発症者は発症時全例でLDHは高値を示した。

対象症例中、303例で術前胸部CTを再読影しえた。303例中、IP所見陽性例は36例、11.9%であった。このうち7例、2.3%はびまん性であり、いわゆるIP合併の肺癌症例であった。また、29例、9.6%が限局性IP所見陽性例であった。すなわち、IP所見陽性例中びまん性陰影を呈したのは19%に過ぎず、81%が限局性IP所見例であった。IP所見陽性例から術後間質性肺炎を発症したものは8例であり全症例553例中の1.4%を占める。この数字は肺癌切除症例のIP所見陽性率11.9%の11.8%を占めた。一方、IP所見を認めない症例からの術後AIP発症例は1例0.18%であり、これはIP所見陰性率88.1%の0.2%と算出された。IP所見陽性例からの術後AIP発症率11.8%は、IP所見を認めなかった

ものからの発症率0.2%より有意に高かった($p<0.01$)。

IP所見陽性症例は一例を除き喫煙者であり、喫煙指数は 922 ± 431 (平均 \pm 標準偏差)であった。術後AIP発症者は全例喫煙者で、喫煙指数は 1087 ± 536 と両者に有意差はなかった。また、年齢も、術後AIP発症者、IP所見陽性者は、それぞれ 70.1 ± 3.6 歳、 70.4 ± 5.7 であり両者に差は認められなかった。

同時期にCT検診を受けた275例(男性225例、女性50例、平均年齢 53.0 ± 9.5 歳)を健常対象者として検討したところ、これらのうち8例、2.9%にIP所見を認めた。健常対象者に比し、肺癌切除患者中のIP所見陽性率11.9%は高いと考えられた($p<0.01$)。

考 察

肺癌肺切除後に術後AIPを1.6%に発症し、その66%が死亡した。肺切除後のAIPは致死率の高い重要な術後合併症である。今回我々は術前のCT検査が、AIP発症高リスク者のスクリーニングになりうるかを検討した。その結果、術前の胸部CTにてIP所見が陽性であるものから11.8%と高率にAIPを発症した。また、AIP発症者の89%は術前の胸部CTにてIP所見陽性例であったことが判明した。一方、IP所見陰性者からのAIP発症率は0.2%であった。このことから、術前の胸部CT検査でIP所見の有無を調べることは、術後AIP発症高リスク群を知る上で有用であると考えられた。

今回、CT上IP所見は限局性であり、自覚症状もなく、肺機能等の諸検査値上も正常であったような、活動性の低いと考えられたIP症例から術後AIPの発症をみた。従来、IPの術後に間質性肺炎の急性増悪を来すことは知られていたが、IIPとまでは臨床的に診断されない軽微なIP(限局性IP)を有するもの、すなわちsubclinicalなIPからも術後に間質性肺炎の急性増悪をきたしうることを示された。また、IIPの急性増悪とは別に、肺切除術後に発症する術後AIPともいべき疾患が存在すると考えられていたが、今回の検討により、術後AIPと考えられた症例の多くは、subclinicalなIPからの急性増悪であると考えられた。

術後に発症する急性呼吸不全は、術後ARDSとも呼ばれる。今回、術後AIPとした症例は、術後に発症した急性呼吸不全であり、ARDSの診断基準¹³⁾にも合致するものが含まれている。AIP、ARDSともにその最終病理像ではいずれもdiffuse alveolar damage (DAD)を呈し、病理学的には鑑別は困難である。また、AIPをARDSに含む考え方もある。実際、死亡例でautopsyを検討した症例では病理学的にDADを呈していた。しかし、ARDSの病態が、血管内皮傷害と透過性肺水腫として語られることが多い一方、今回、術後AIPとして示した症例では、非区域性、非重力性に分布するスリガラス陰影で発症しており、発症基盤に胞隔炎の存在が示唆されるものであった。このことから、病態としてARDSに診断される、されないに関わらず、臨床的にAIPとして診断される疾患を今回の検討対象とした。

急性に出現する間質性肺炎にはIIPの急性増悪のほか、薬剤性間質性肺炎、Hamman-Richらにより報告されたいわゆるAIPなどが知られている。今回の症例では、起因薬剤が同定されたものはなく、薬剤性間質性肺炎とする理由が見あたらなかった。また、一般に薬剤性間質性肺炎では、起因薬剤を中止し、ステロイド療法を行えば予後良好であることが多いが、今回の症例では使用薬剤の変更、ステロイドのパルス療法が全例でなされているが、予後は不良であった。また、今回術後に発症する急性の間質性肺炎を検討しているが、9例中8例で術前に限局性とはいえIP所見を伴っており、IP所見陽性者からの発症が、陰性者のものより有意に高いことを考えあわせると、術後AIPの多くにsubclinicalなIPからの急性増悪が含まれていると考えられる。このことは、一般にAIPと考えられている症例の中にも臨床的に診断困難な限局性IP症例が含まれている可能性があり、興味深い。

IIPは、手術や肺炎を契機に増悪することはよく知られているが、開胸肺生検や肺癌手術による急性増悪の発症率は約2割から5割と報告されている^{7,14)}。今回の検討では、術前にIIPと診断されていたものからの術後急性増悪は認められなかった。これは、術中のステロイド投与などの予防処置による¹⁴⁾ものと考えられた。一方、今回の検討期間中は、限局したIPが急性増悪を来しうるとは考え

ておらず、術中に予防処置は特に講じていなかった。このことが、今回の検討で、IIP症例からの急性増悪が認められなかった一方、限局したIPからの術後AIP発症が認められた理由の一つと考えられた。限局性IP所見陽性例の術後急性増悪率11.8%は、既にIIPと診断されている症例の発症率2~5割より低く、限局性のIP例はびまん性のものに比し急性増悪率は低いものと考えられた。しかし、なお無治療の場合10%に急性増悪を見ると云うことは重要である。今回の限局性IP症例はIIPと診断していなかったため、術前に⁶⁷Gaシンチや、KL-6は測定していなかった。今後、限局性IP症例においてもIPの活動性を術前に調べることの重要性が認識された。

今回の検討で胸部CTにてIP所見を11.9%に観察した。今回のCTスライスは10mmでありIPの程度の詳細な検討は困難であったが、IP所見を示した症例のうち、びまん性を示したものは2.3%であり、9.6%は限局性IPであった。福島ら⁸⁾は切除肺の病理学的検討により3段階に限局性UIP病変を分類しており、肉眼的に確認できる限局性UIP病変が10.8%に認められるとしている。草島ら¹⁵⁾は同様な検討で肺癌手術例480例中30例6.3%にUIPを認めるとしており、渡辺ら¹⁶⁾は、剖検肺の検討で肺癌例でのUIP合併は10.7%としている。また、Matubaraら¹⁷⁾は、切除不能例を含む全肺癌症例の検討で約3割に何らかの線維化病変を認めたとしている。これらは今回のCTによるIP所見検出率とほぼ一致しており、CTによる検討がUIPのみでなく非特異的間質性肺炎(NSIP)など他のIPも検出することを考えると、今回のCTによる限局性IPの検出率は妥当と考えられた。一方、福島ら⁷⁾はさらに胸膜下2mm未満であり肉眼的には観察し得ない限局性UIP病変が5.6%に存在することも報告しているが、これらはCTで検出する事は不可能である。しかし、肉眼的に観察しうる限局性UIP病変を有する症例からは急性増悪をきたしたものがある一方、肉眼的に観察し得ない2mm未満のものからの急性増悪は認めなかったとしている。

CT検診を受診した健常者における限局性IP所見の陽性率は2.9%と、肺癌切除例の11.9%と比較して低かった。対象者の平均年齢が異なることから単純に比較はできないが、UIPに肺癌の合併が多

いことと関係すると考えられた。今回示した限局性 IP のような subclinical な IP は術後急性増悪の危険因子であると同様、肺癌発症の high risk 群としてフォローアップする必要があると考えられた。

IIP はひとたび急性増悪すると効果的な治療はなく、致死率が高い。治療は主にステロイドのパルス療法などが行われるが、その有効性は疑問視されている。一方、手術時の急性増悪予防には種々の方法が試みられその有効性が報告されている^{14,18)}。特にステロイドの手術時の前投与が有効とする報告は多い。ステロイドが急性増悪後の治療に有効でないにも関わらず、発症予防に有効であるメカニズムは未だ明らかでない。しかし本検討でも、術前に IIP と診断されていた症例では、術中にステロイド投与を受け、術後急性増悪を認めなかった。今後、CT により同定された高危険群からの術後 AIP 発症率を低下させるため、予防処置の有効性に関する検討や、IP の活動性の評価のためのマーカーの検討¹⁹⁾が必要である。

肺癌肺切除症例の術後間質性肺炎発症率と、その危険因子としての IP 所見の有無を術前 CT にて検討した。術後間質性肺炎発症者は高率に IP 所見を有しており、これは術前 CT にて検出可能であった。本検討では術後間質性肺炎は軽微な限局性 IP から発症しており、びまん性に UIP が存在し IIP と診断されているものだけでなく限局性 IP のみを示している症例も術後間質性肺炎発症 high risk 群として注意を払う必要があると考えられた。

参考文献

- 1) Wahi R, McMurtrey MJ, DeCaro LF, *et al*: Determinants of perioperative morbidity and mortality after pneumonectomy. *Ann Thorac Surg* 48: 33-37, 1989.
- 2) 佐久間勉, 薄田勝男, 半田政志, 他: 対側一秒量 500ml 未満の低肺機能肺癌症例に対する肺切除術. *日呼外会誌* 10: 450-455, 1996.
- 3) 前原孝光, 石和直樹, 石橋信, 他: 75 歳以上高齢者肺癌切除例の検討. *日呼外会誌* 13: 718-723, 1999.
- 4) 谷田達男, 小野貞文, 半田政志, 他: 肺癌手術後の間質性肺炎発症による術死症例の検討. *胸部外科* 52: 355-359, 1999.
- 5) Tanita T, Chida M, Hoshikawa Y, *et al*: Experience with fetal interstitial pneumonia after operation for lung cancer. *J Cardiovasc Surg, In Press*.
- 6) 堀之内宏久, 池田高明, 酒井忠昭, 他: 術後肺合併症—特に間質性肺炎増悪例の臨床的検討. *肺癌* 31 増刊号: 712, 1991.
- 7) 草島健二, 村田嘉彦, 大石不二雄, 他: 肺癌術後 ARDS を来した症例の検討—合併する慢性間質性肺炎は重要なリスク因子—. 厚生省特定疾患・びまん性肺疾患調査研究班, 平成 3 年度研究報告書, 111-113 頁, 1991.
- 8) 福島一雄, 河端美則, 内山隆司, 他: 限局性慢性間質性肺炎(限局性 UIP) 127 例の予後: びまん性間質性肺炎への進展の可能性. *日呼吸会誌* 37: 177-182, 1999.
- 9) Staples CA, Muller NL, Vedal S, *et al*: Usual interstitial pneumonia: correlation of CT with clinical, functional, and radiologic findings. *Radiology* 162: 377-381, 1987.
- 10) Muller NL, Miller RR, Webb WR, *et al*: Fibrosing alveolitis: CT-pathologic correlation. *Radiology* 160: 585-588, 1986.
- 11) Webb WR, Muller NL, and Naidich DP: High-resolution CT of the lung, 2nd ed, Lippincott-Raven, Philadelphia, pp110-116, 1996.
- 12) 田邊正忠, 伊藤春海: 肺末梢構造にせまる胸部画像診断, 金芳堂, 東京, 65-87 頁, 1995.
- 13) Petty TL, and Fowler, III AA. : Another Look at ARDS. *Chest* 82: 98-104, 1982.
- 14) 工藤翔二, 河俣仲秋, 家城隆次, 他: 特発性間質性肺炎合併肺癌の治療に関するレトロスペクティブな検討—特に術後急性増悪と予防の可能性について—. 厚生省特定疾患・びまん性肺疾患調査研究班, 平成 3 年度研究報告書, 78-80 頁, 1991.
- 15) 草島健二, 村田嘉彦, 大石不二雄, 他: 肺癌手術肺に見られる慢性間質性肺炎の特徴—その臨床病理学的検討—. *日胸疾会誌* 30: 1673-1681, 1992.
- 16) 渡辺秀一, 北村論, 横山武: 特発性間質性肺炎に合併した肺癌剖検例の臨床病理学的特徴.

肺癌 30 : 841, 1990.

- 17) Matubara N, Sugawara S, Ono S, *et al*:
Retrospective study of the relationship between lung cancer and subclinical pulmonary abnormalities in computed tomography (Abstract). *Am J Respir Crit Care Med* 157: A320, 1998.
- 18) 山岡憲夫, 内山貴堯, 田川努, 他: 特発性間質性肺炎を合併した肺癌切除例の検討—特に周術期, 退院後の管理について—. *日呼外会誌* 13: 15-20, 1999.
- 19) 田畑俊治, 小野貞文, 谷田達男, 他: 肺切除術後急性期における血清 KL-6 値の推移. *日呼外会誌* 12 : 10-14, 1998.

サルコイドーシス

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 ～データマイニングによる培養成績の解析～

渡邊 邦友^{1*} 田中香お里¹ 横山 茂樹² 松岡喜美子³

著者らが開発した新規の選択性の強い *Propionibacterium* 選択培地を用いて実施した Sarcoidosis 患者 65 名の糞便からの *Propionibacterium* spp. の分離培養成績を整理し、患者の臨床的情報とともにデータファイルを作成した。Data Mining Program “Icons Miner” (高電工業(株)) をデータマイニングツールとして使用し、決定木解析を主体としたデータマイニングを実施した。その結果、罹患年数(発症からの月数)と糞便から *Propionibacterium* 分離の有無との間に有意な関係、すなわち罹患年数 1～2 年の患者に糞便から *Propionibacterium* が有意に分離されるという仮説が得られた。検証が今後の検討課題である。

Study on the Association between the Microbiological Data obtained from Stool Specimens and the Clinical Background by Data Mining in the Database on Sarcoidosis Patients

Kunitomo Watanabe¹, Kaori Tanaka¹, Shigeki Yokoyama², Kimiko Matsuoka³

¹ Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University, School of Medicine

² Kodon Industry Co., LTD

³ Osaka Prefectural General Hospital

We isolated *Propionibacterium*, by using the novel selective agar media, from stool specimens of the 65 patients suffered from sarcoidosis, and analyzed objectively the relationship between the microbiological data and the information obtained clinically such as the age, the gender, history of the disease and so on. As a result of data mining analysis of the sarcoidosis database using the ICONS Miner (Koden Co. LTD, Tokyo), the following significant “If-Then Rules” was extracted from the decision trees when the dependant variable was bacteria and the independent variables were other attributes in the database. *Propionibacterium* spp. appeared to be isolated more frequently from the stool specimens of the patients visited a doctor during 1 to 2 years after the onset of the disease.

はじめに

Propionibacterium spp. はサルコイドーシスへの関与が現在もっとも疑われている細菌である。サルコイドーシスの成因はまだ明確にはなっておらず、患者さんの病巣から高頻度に分離される *Propionibacterium* spp. の由来についても不明である。本菌群は主に皮膚や結膜のうに常在するが、腸管内にも少ないながら常在すると言われている。サルコイドーシスにおける *Propionibacterium* の侵入門戸は腸管の粘膜ではないかとする意見もあるが、この点はいまだ確かめられてはいない。この点を明確にするためには本症患者の腸管における本菌群の存在の有無、そしてその優位性、あるいは患者から分離された本菌群と患者以外の腸管から分離された本菌群との異同が検討されなければならない。しかしながら、本菌群は腸管においては劣勢な菌種であり、これまで使用されてきた選択培地を用いては糞便からの本菌群の分離は不可能に近い。

そこで本研究では糞便からの *Propionibacterium* の分離を容易にするための選択培地を作製し、それを用いて糞便中の *Propionibacterium* の分布を解析した。今回は、昨年度の研究で得られた成績をファイルとしてまとめ、そのファイルを使用し、データマイニングによる客観的な解析を実施した。

対象と方法

I 対象としたデータファイル

Sarcoidosis患者65名と健康人74名の糞便中から *Propionibacterium* 培養結果と健康人の性別と年齢、Sarcoidosis患者の性別年齢、病態に関する情報が含まれている。

II Data Mining Program

“Icons Miner”(高電工業(株))を用いた。Sarcoidosis患者の集団における糞便中からの *Propioni-*

bacterium 分離培養結果を目的変数として、また患者の病態に関する情報を説明変数として、決定木解析を主とする、データマイニングを実施した。決定木解析では、 χ^2 乗検定とクロス集計表の作製およびその調整化残差の算出を実施した。 χ^2 乗検定により、 $p < 0.05$ を有意として、決定木の解析を行い、さらに詳細な解析には、クロス集計表の作成と調整化残差の算出を行った。調整化残差については、その絶対値が2以上を有意な特徴と判定した。

結 果

データマイニングの結果、Sarcoidosis患者の集団と健康人の集団における糞便中から *Propionibacterium* 分離率には、有意な差異は認められなかった。

Sarcoidosisにおける糞便からの *Propionibacterium* 培養成績の特徴は、

Sarcoidosisの患者さんの糞便からは *P. acnes* が検出されず、*Propionibacterium* の菌量が120/gより多い。あるいは、Sarcoidosisの患者さんからは、*P. acnes* が検出されるが、菌量が10/gより少ないとの解析結果であった。また、健康人の培養成績の特徴は、健康人の糞便からは *P. acnes* が分離され、菌量が400/gより大である、との解析結果であった。

罹患月数と *P. acnes*, *P. granulosum* の検出の有無、*P. acnes*, *P. granulosum* の菌量分類、そして *Propionibacterium* spp. の菌量の決定木解析では、有意な決定木は得られなかった。

しかし、罹患年数と糞便からの *Propionibacterium* 分離の有無との決定木解析と調整化残差の算出の結果では、罹患年数1~2年の患者糞便から、有意に高率に *Propionibacterium* が分離されるという解析結果を得た。

考察と結論

データマイニングは、膨大な情報から隠された知識、予期しないパターンや新しい法則を発見する手法と考えられている。近年、この領域における目覚ましい進歩が見られていることは周知のところである。すでに、著者らは、Sarcoidosisの患者の

- 1 岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設
 - 2 高電工業株式会社、
 - 3 大阪府立病院検査科
- * びまん性肺疾患研究班 研究協力者

糞便からの *Propionibacterium* の分離を試み、その成績を報告した。

今回は、検体を送付していただいた班員からの患者の臨床で得られた情報に昨年の細菌学的なデータを加えて、作成したデータファイルを対象として、データマイニングを実施した。

今回のデータマイニングによる解析の結果から、罹患年数1～2年の患者糞便からは、有意に高率に *Propionibacterium* が分離されるとの“IF-Then Rules”を得ることができた。この仮説の検証の必要性があると考えられる。検証のための新たな実験を愛知医科大学内科学森下宗彦助教授との共同研究で計画した。Sarcoidosis 患者の糞便の収集は、現在までに35検体となり、著者らの開発した選択分離培地を用いた検討を実施している。

また、著者らが Sarcoidosis 患者から分離し、市販の同定キットでは、菌種の決定が困難で、菌種レベルでの同定を控えて *Propionibacterium* spp. とした菌株のより正確な解析により、新しい“If-Then Rules”が抽出される可能性があることから、東京医科歯科大学の江石助教授らとの遺伝子レベルでの菌種の確定を行っている。

表1 罹患年数と菌検出の関係

罹患年数〔年〕	菌検出無	菌検出有	合計
1	11	9	20
2	3	10	13
3	7	3	10
4	7	0	7
>5	12	3	15
合計	40	25	65
%	61.54	38.76	
p 値	0.004075	<0.01	

表2 調整化残差の算出

罹患年数〔年〕	菌検出無	菌検出有
1	-0.72236	0.722361
2	-3.18689	3.186887
3	0.597913	-0.59791
4	2.214276	-2.21428
>5	1.675709	-1.67571

結 論

Sarcoidosis 患者の糞便からの *Propionibacterium* の分離培養成績のデータマイニングによる客観的な解析結果から、Sarcoidosis 罹患年数1～2年の患者糞便から、有意に高率に *Propionibacterium* が分離されるとの仮説を得ることができた。

参考文献

- 1) Ishige I, Usui Y, Takemura T, Eishi Y: Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. Lancet 354: 120-123, 1999
- 2) S Yokoyama K Matsuoka, S Tsumoto, M haroa, T Yamakawa, K Sugahara, C Nakahama, S Ichiyama, K Watanabe: Study on the Association between the Patients' Clinical Background and the Anaerobes by Data Mining in Infectious Diseases Database. Biomedical Soft Computing and Human Sciences, 7 (1) : 69-75, 2001
- 3) 渡邊邦友, 田中香お里: 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～, 厚生省特定疾患対策研究事業ーびまん性肺疾患研究班, 平成12年度研究報告書 2001; 53-5
- 4) 渡邊邦友, 田中香お里, 石井良樹他: 消化管内における *Propionibacterium* の生態に関する研究ー新規に開発した選択培地を用いたサルコイドーシス患者糞便での検討ー 厚生省特定疾患対策研究事業ーびまん性肺疾患研究班, 平成13年度研究報告書 2002; 60-4

末梢肺と縦隔リンパ節の常在菌としての *Propionibacterium acnes* に関する検討

石下 郁夫¹ 小林 寅詔² 中田 光^{3**} 永岡 栄⁴
武村 民子^{5**} 渡邊 邦友^{6**} 江石 義信^{1*}

【目的】これまでのサルコイドーシス(サ症)病因に関する研究の過程で *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) が非サ症肺組織およびリンパ節に常在している可能性が示唆された。そこで今回は末梢肺組織およびリンパ節における *P. acnes* の常在の有無および他菌種の存在の有無に関して検討するために、Video-assisted thoracoscopic surgery 法により切除された末梢肺組織および外科手術により切除された癌非転移所属リンパ節からの細菌分離培養を試みた。さらに、各種正常臓器から分離された *P. acnes* 株の遺伝子的差異を検討する目的で Random Amplified Polymorphic DNA 法を用いて遺伝子タイピングを行った。【対象と方法】細菌分離培養の検体として VATS 切除された末梢肺組織 43 例、外科手術により切除された癌非転移所属リンパ節 43 例を用いた。無菌的に採取された組織の重量を測定し、GAM broth 中でホモジナイズした懸濁液を 5 種類の平板培地に塗布し、好気および嫌気下にて培養した。その後、肉眼上同一なコロニーをカウントすると同時に同定試験を実施した。細菌数は組織 1g あたりの colony forming unit として評価した。RAPD 法による遺伝子タイピングの対象菌株として細菌分離培養において分離された正常肺分離株 24 株および正常リンパ節分離株 21 株に加え、健常人皮膚分離株 35 株、健常人結膜分離株 16 株および健常人腸管(糞便)分離株 16 株を使用した。各菌株から DNA を抽出し、2 種類のランダムプライマーを用いて PCR およびアガロースゲル電気泳動を実施した。各株の泳動パターンから解析ソフトを用いて各株間の類似係数を算出し、系統樹を作成した。【結果】分離培養の結果、*P. acnes* が高率に肺(24/43)および肺所属リンパ節(8/11)から分離されると同時に、それらの大部分は *P. acnes* のみの単独分離であった。一方、胃所属リンパ節および大腸所属リンパ節からも本菌が分離されたが、大部分は多量の腸内細菌を中心とした他菌種の分離を伴っていた。また、遺伝子タイピングの結果、系統樹解析において各株は由来臓器ごとにクラスターを形成する傾向が見られ、類似係数の比較においても同種の臓器から分離された株間での類似係数は異なる臓器から分離された株間の類似係数に比べ有意に高いことが示された。【考察】*P. acnes* は末梢肺組織および肺所属リンパ節に高率に常在し、それらは各臓器ごとに異なる遺伝子型を有することが示唆された。

***Propionibacterium acnes* is the most common indigenous bacteria in the lungs and mediastinal lymph nodes.**

Ikuro Ishige¹, Intetsu Kobayashi², Koh Nakata³, Sakae Nagaoka⁴
Tamiko Takemura⁵, Kunitomo Watanabe⁶, Yoshinobu Eishi¹

¹ Department of Human Pathology, Tokyo Medical and Dental University

² Chemotherapy Division, Mitsubishi Kagaku Bio-Clinical Laboratory

³ Division of Respiratory Disease, Research Institute, International Medical Center of Japan

⁴ Department of Surgery, Japanese Red Cross Medical Center

⁵ Department of Pathology, Japanese Red Cross Medical Center

⁶ Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University

It has been suggested by our previous studies that *Propionibacterium acnes* may reside normally not only on the skin but also in the lungs and lymph nodes in individuals without sarcoidosis, which may be why lungs and mediastinal lymph nodes are frequently involved in sarcoidosis. However, little information has been available for normal flora in peripheral lungs, because of contamination of flora in upper respiratory tracts. In this study, peripheral lung specimens were obtained directly using video-assisted thoracoscopic surgery in order to investigate normal flora in the peripheral lung without contamination. Both aerobic and anaerobic cultures were performed on these specimens and also on lymph node specimens resected surgically, *P. acnes* was isolated solely from 24 of 43 lungs and 8 of 11 draining lymph nodes of the lung, and no bacterium from the rest of specimens. *P. acnes* was also isolated from some draining lymph nodes of stomach and those of colon, however, most of them were accompany with the isolation of much enteric bacteria. Using random amplified polymorphic DNA analysis, we found that *P. acnes* in the peripheral lungs were genetically sequestered from not only other organs including skin, conjunctiva, and intestine but also the draining lymph node of the lung. These data suggested that *P. acnes* in the peripheral lung were common indigenous bacterium forming a unique population genetically.

5日間培養を行った後、アネロコロンビアウサギ血液寒天培地、フェニルエチルアルコール5%ヒツジ血液寒天培地に接種し、同様な操作を行った。培養後の各平板培地に発育した肉眼的に同一な集落をカウントし、同定確認後、組織1gあたりの菌量を求めた。同定試験は肉眼的に異なる各集落を釣菌し、グラム染色性を確認後 Manual of Clinical Microbiology 7th ed. (American Society of Microbiology) に記載された標準法に準じて行った。また、*Propionibacterium* の同定には VITEX system (日本ビオメリュー) を用いた。

2. RAPD 法による遺伝子タイピング

遺伝子タイピングの対象として細菌培養にて分離された正常肺分離株24株および正常リンパ節分離株21株(肺所属リンパ節8株、胃所属リンパ節10株、大腸所属リンパ節3株)に加え、健康人皮膚分離株35例、健康人結膜分離株16株および健康人腸管(糞便)分離株16株を使用した。皮膚および結膜分離株は三菱化学BCL小林寅話先生より、腸管分離株は岐阜大学嫌気性菌実験施設渡邊邦友教授より、それぞれ分与していただいた。各菌株をGAM brothに接種し、37℃、嫌気下で2日間培養後、遠心して菌を回収した。得られたペレットより、ISOPLANT(ニッポンジーン)を用いてDNAを抽出した。抽出したDNAに対し、2種類のランダムプライマー(AP12: AGAAGCGATG, AP20: AATCACACCC)を用いてPCR増幅を行った。PCR条件は95℃30秒、37℃30秒、72℃1分を5サイクル、95℃30秒、40℃30秒、72℃1分を40サイクルとした。PCR産物を1.5%アガロースゲル内で冷却しながら8時間泳動し、0.1%エチジウムブロマイド溶液で染色した。泳動パターンをDNA finger printing 解析ソフトDENDRON 3.0 (Solltech Inc.)にて解析し、得られた類似係数に基づいて系統樹を作製した。

結 果

1. 細菌分離培養

肺および各所属リンパ節からの細菌分離培養の結果を表2に示す。*P. acnes* は末梢肺組織では43例中24例(56%)、肺所属リンパ節では11例中8例(73%)、胃所属リンパ節では20例中10例(50%)、大腸所属リンパ節では12例中3例(25%)において分離された。末梢肺組織および肺所属リンパ節において*P. acnes* が分離された症例のうち肺の2例および1例で *Staphylococcus* spp. が同時に分離された以外は、すべて *P. acnes* が単独で培養され、それぞれの単独培養率は51%、64%であった。これとは対照的に、胃および大腸の各所属リンパ節においては、*P. acnes* が分離された症例の大部分で多量の腸内細菌を中心とした他菌種の分離を伴い、*P. acnes* の単独培養率はそれぞれ20%、0%であった。

表1 細菌培養対象患者背景および切除部位

Organ	Disease	No. of cases	Gender (M/F)	Mean age (years, range)	Location			
					LUL ¹	LLL ²	RUL ³	RLL ⁴
Lung	Primary Lung Cancer	14	9/5	60 (44-74)	3	2	9	0
	Adenocarcinoma	4	3/1	61 (50-73)	0	1	1	2
	Squamous cell carcinoma							
	Metastatic lung tumor							
	Bladder carcinoma	1	0/1	67	0	1	0	0
	Bone sarcoma	1	0/1	70	0	0	1	0
	Testicular carcinoma	1	1/0	65	0	0	0	1
	Colon cancer	1	1/0	63	0	0	1	0
	Thymic cancer	1	1/0	40	1	0	0	0
	Emphysematous bullae	12	11/1	41 (19-66)	4	0	8	0
	Interstitial pneumonia	4	3/1	58 (36-73)	0	2	2	0
	Miscellaneous	4	3/1	66 (57-76)	0	2	1	1
Lymph node	Lung Cancer	11	8/3	59 (44-76)				
	Gastric cancer	20	14/6	65 (47-80)				
	Colorectal cancer	12	7/6	63 (52-78)				

¹ Left upper lobe, ² Left lower lobe, ³ Right upper lobe, ⁴ Right lower lobe.

表2 末梢肺組織および各所属リンパ節からの細菌分離培養結果

Tissue	n	<i>P. acnes</i>		Other bacteria (Isolation, Range)
		Isolation	<i>P. acnes</i> range (log ₁₀ CFU/g)	
Lung	43	24/43 (56%)	22/43 (51%)	<2-4 <i>S. epidermidis</i> (1/45, 2)
Lung LN	11	8/11 (73%)	7/11 (64%)	<2-2 <i>S. epidermidis</i> (1/11, 2), CNS (1/11, 3)
Stomach LN	20	10/20 (50%)	4/20 (20%)	<2-2 <i>Streptococcus</i> sp. (8/20, 2-5), <i>Enterococcus</i> sp. (2/20, 3), <i>Pseudomonas</i> sp. (2/20, <2-3), <i>S. epidermidis</i> (2/20, 1), <i>Candida</i> sp. (1/20, 3), <i>Flavobacterium</i> sp. (1/20, 2), <i>Neisseria</i> sp. (1/20, 3), <i>Acinetobacter</i> sp. (1/30, 3), <i>Morganella</i> sp. (1/20, 2), <i>Citrobacter</i> sp. (1/20, 3), <i>Corynebacterium</i> sp. (2/20, 2-3), NFR (1/20, 3),
Colon LN	12	3/12 (25%)	0/12 (0%)	<2-2 <i>E. coli</i> (4/13, 3-5), <i>Bacteroides</i> sp. (2/13, 5-8), <i>Pseudomonas</i> sp. (3/13, 2-5), <i>Streptococcus</i> sp. (5/13, 3-5), <i>Klebsiella</i> sp. (3/13, 2-5), <i>Listeria</i> sp. (4/13, 4-5), <i>Staphylococcus</i> sp. (1/13, 4), <i>Scheffella</i> sp. 2/13, 2-5), <i>Citrobacter</i> sp. (2/13, 4-5), <i>Proteus</i> sp. (1/13, 5)

2, RAPD 法による遺伝子タイピング

今回使用した2種類のプライマーによって得られたすべての株間の類似係数は有意に相関していた ($r=0.87, P=0.001$) ことより, これら2種類のプライマーは以降の解析において遺伝子的差異を検討するに適していた. それぞれの株間の類似係数に基づいて系統樹を作成したところ, 両プライマーにおいても由来臓器ごとに各株がクラスター(集団)を形成する傾向が見られた(図1). また, 各株間の類似係数の平均値を比較すると, 皮膚分離株・結膜分離株間を除けば, 同種の正常臓器から分離された株間においては, 異なる正常臓器から分離された株間においてよりも有意に(すべて $P < 0.001$) 高い平均値を示した(図2).

考 察

今回の研究の目的は末梢肺における正常細菌叢を明らかにすることであり, 今回の結果は *P. acnes* が高率に末梢肺組織に常在しており, それらは他臓器から分離される菌株と異なる遺伝子型を有することを示唆するものであった.

病的な肺組織からいくつかの細菌が分離されているにもかかわらず, これまで末梢肺組織は無菌であると考えられてきた. Halperin ら⁵⁾は下部気道における細菌叢を検索するために plugged double catheter system を用いて採取した下部気道のサンプルからの細菌培養を試みた. その結果, 25 検体中 21 例で, 52 ケ所中 38 ケ所で細菌が分離されたが, その構成は鼻咽腔の細菌叢に比べ, α 溶血性 *Streptococcus* の割合が高く, *Staphylococcus* の割合が低い以外は類似していた. これらは, 鼻咽腔の細菌叢を特徴付ける菌種であることから, ここで, 検出された菌は上部気道からのコンタミネーションであると考えられた. 今回の研究ではコンタミネーションを避けるために VATS 法を用いて直接, 末梢肺組織の検体を採取した. その結果, 半数弱の肺においては細菌が分離されず, 肺組織の清浄性が証明されたが, 半数以上の検体から *P. acnes* が分離された. このことは, *P. acnes* が正常末梢肺に常在していることを示唆するものであり, さらに, これら分離された株が他の臓器から分離された株と遺伝子的に異なることから, 今回の分離は他の

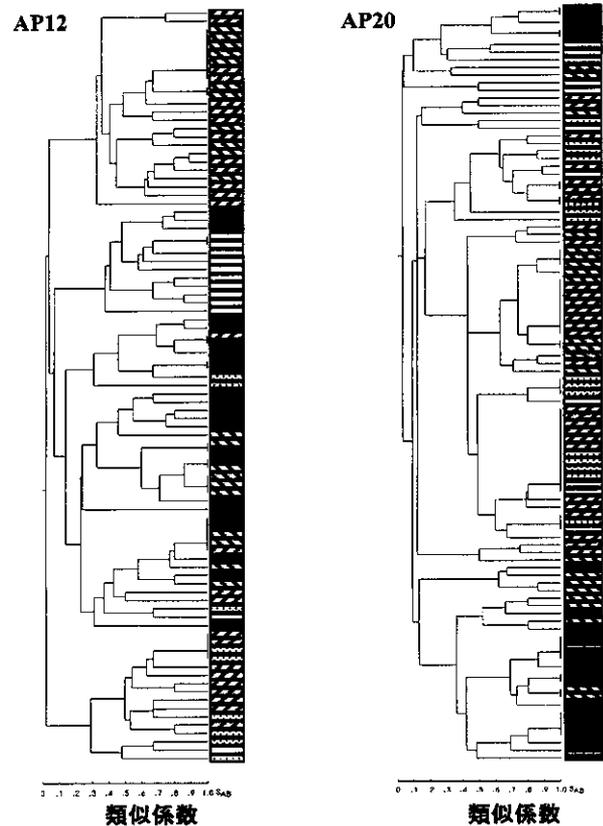


図1 RAPD 法による系統樹解析結果
リンパ節分離株(■), 肺分離株(//), 皮膚分離株(⊞), 結膜分離株(≡), 腸管分離株(≡).

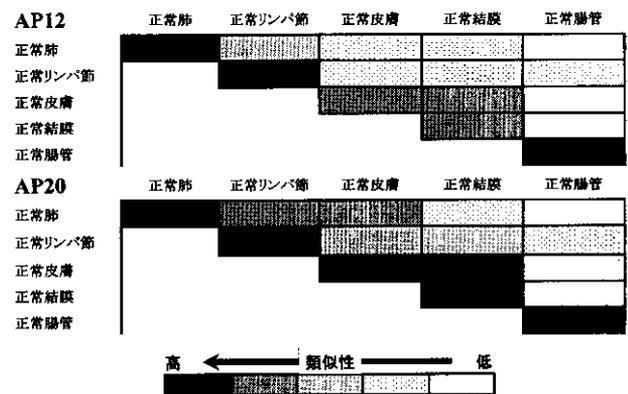


図2 各分離株間の類似性の比較

部位からのコンタミネーションによるものではなく, 確かに末梢肺組織に常在している株由来であることを示している. これまでの報告においても好気培養および嫌気培養の両方を行っているにもかかわらず *P. acnes* の分離は報告されていない. この理由として, 検体の採取箇所の違いが考えられる. これまでのカテーテルを用いて下部気道検体として採取されたものは, 気管支レベルの粘膜や

粘液であるのに対して、今回 VATS 法を用いて採取した検体は間質や血管を含めた末梢肺組織の一部である。Ioanas¹¹⁾らは気管支からブラシによって採取した検体から分離される細菌と生検によって得られた検体から分離された細菌を比較しており、その結果、それぞれから分離される細菌の種類はまったく異なるものであことを報告している。

これまでの *Porphyromonas gingivalis* や大腸菌における各種臓器からの分離株に対する遺伝子タイプングの結果は、個体ごとに遺伝子型は異なるが、同一個体から分離される株は同じ遺伝子型を有すると報告されている^{12,13)}。しかしながら、今回の *P. acnes* 分離株においては臓器ごとに異なる遺伝子型を有することが示唆され、この原因としては以下の2点が推測される。ひとつは、臓器ごとの環境の違いによって、その環境に適合した *P. acnes* 株が存在し、その株が臓器ごとに増殖（常在）している。あるいは、菌株ごとに特異的な移動経路が存在する。たとえば、ある菌株は血管を経由して他臓器に移動し、ある菌株はリンパ管を経由して移動している可能性がある。

サ症病因に関する研究の過程で阿部ら⁶⁾はサ症病変部リンパ節から *P. acnes* が唯一高率かつ多量に分離されることを報告したが、本菌が健常人皮膚の常在菌であることやサ症以外の対照リンパ節からも分離されたことから本菌をサ症の原因としては結論付けられなかった。近年、我々は本菌 DNA が国内外のサ症病変部リンパ節から高率かつ多量に検出され^{7,8)}、さらにこれら DNA はサ症肉芽腫内に集積していることを報告した¹⁴⁾。この報告は *P. acnes* がサ症原因物質のひとつである可能性を示唆するものであるが、サ症病変の主要部位である肺や肺所属リンパ節をはじめとする多くの臓器での *P. acnes* の分布については明確ではなかった。本研究において、我々は *P. acnes* が高率に肺や肺所属リンパ節に分布していることを示した。サ症を、結核と結核菌に代表される体外から侵入した病原菌に対する外因性感染症ではなく、正常細菌叢に存在する *P. acnes* に対する内因性感染症であると仮定した場合、今回の結果は肺および肺所属リンパ節に主要な病変を有するというサ症の病態に矛盾するものではない。

参考文献

- 1) Zang P, Summer WR, Bagby GJ, Nelson S. Innate immunity and pulmonary host defense. *Immunol Rev*, 173: 39-51, 2000
- 2) Lees AW, McNaught W. Bacteriology of lower-respiratory-tracts secretions, sputum, and upper-respiratory-tracts secretion in "normal" and chronic bronchitis. *Lancet*, 1959: 1306-9, 1959
- 3) Laurenzi GA, Potter RT, Kass EH. Bacteriologic flora of the lower respiratory tracts. *New Eng J Med*, 265: 1273-8, 1961
- 4) Potter RT, Rotman F, Fernandez F, McNeill TM, Chamberlain JM. The bacteriology of the lower respiratory tract. *Am Rev Respir Dis*, 97: 1051-61, 1968
- 5) Halperin SA, Suratt PM, Gwantney JM Jr., Groschel DH, Hendley JO, Eggleston PA. Bacterial cultures of the lower respiratory tracts in normal volunteers with and without experimental rhinovirus infection using a plugged double catheter system. *Am Rev Respir Dis*, 125: 678-80, 1982
- 6) Abe C, Iwai K, Mikami R, Hosoda Y. Frequent isolation of *Propionibacterium acnes* from sarcoid lymph nodes. *Zentralbl Bakteriol Hyg A*, 256: 541-7, 1984
- 7) Ishige I, Usui Y, Takemura T, Eishi Y. Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. 354: 120-3, 1999
- 8) Eishi Y, Suga M, Ishige I, Kobayashi D, Yamada T, Takemura T, Takizawa T, Koike M, Kudoh S, Costabel U, Guzman J, Rizzato G, Gambacorta M, du Bois R, Nicholson AG, Sharma OP, Ando M. Quantitative analysis of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese and European patients with sarcoidosis. *J Clin Microbiol*. 40: 198-204, 2002
- 9) Burkhart CG, Burkhart CN, Lehmann PF. Acne: a review of immunologic and microbiologic factors. *Postgrad Med J*. 75: 328-331, 1999
- 10) Brook I. Anaerobic gram-positive nonsporeforming bacilli. In: Mardell G, Douglas RG, Bennett JE,

- eds. Principle and practice of infectious disease. New York: Churchill Livingstone; 1995, p. 2206-2208
- 11) Ioanas M, Angrill J, Baldo X, Arancibia F, Gonzalez J, Bauer T, Canalis E, Torres A. Bronchial bacterial colonaization in patients with resectable lung carcinoma. *Eur Respir J.* 19: 326-332, 2002
- 12) Saarela M, Stucki AM, von Troil-Linden B, Alaluusua S, Jousimies-Somer H, Akikainen S. Intra- and inter-individual comparison of *Porphyromonas gingivalis* genotype. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 6: 99-102, 1993
- 13) Jantunen ME, Saxen H, Lukinmaa S, Ala-Houhala M, Siitonen A. Genomic identity of pyelonephritogenic *Escherichia coli* isolated from blood, urine, faeces of children with urosepsis. *J Med Microbiol.* 50: 650-652, 2001
- 14) Yamada T, Eishi Y, Ikeda S, Ishige I, Suzuki T, Takemura T, Takizawa T, Koike M. In situ localization of *Propionibacterium acnes* DNA in lymph nodes from sarcoidosis patients by signal amplification with catalyzed reporter deposition. *J Pathol.* 198: 541-547, 2002

肺の肉芽腫性免疫応答における樹状細胞の役割

彌永 和宏 川村 宏大 菅 守隆*

樹状細胞 (DC) はナイーブな T 細胞を活性化し得る唯一の抗原提示細胞 (APC) であり, 様々なサイトカインを産生し免疫応答の誘導と調節を行う。しかし, 肺, 特に肺実質における DC の動態や機能についてはいまだ不明の点が多い。我々は, 「肺局所での初期免疫応答を有効に開始・誘導し得る APC はマクロファージではなく DC である」という仮説をたて, マウス肉芽腫モデルを作成し検証した。PPD/CFA で免疫した C57BL/6 マウスに PPD 被覆セファロースビーズを尾静脈より投与し, Th1 偏向性の肺肉芽腫を作成した。対照として非免疫のマウスを用いた。肺組織を免疫組織学的に検討すると, 静注 1 日後 (Day 1), PPD 免疫群では非免疫群に比べ肉芽腫は大きく細胞成分に富み, MHC class II⁺/CD11c⁺-DC は肉芽腫局所に存在し, 周囲に CD4⁺ T 細胞の集簇を伴っていた。Day3 では成熟した類上皮細胞肉芽腫が形成されたが免疫/非免疫群間の差違は減少していた。肺および縦隔・肺門リンパ節より各々 DC を単離し, あらかじめ樹立した PPD 抗原特異的な感作リンパ球を用いた Antigen Presentation Assay を行った。Day 1 の肉芽腫肺より単離した DC は, 新たな PPD 抗原の添加なしに有意なリンパ球増殖反応を誘導し得た。一方, 所属リンパ節より単離した DC は Day 1 および 3 ともに有意な抗原提示能を示した。In situ hybridization 法によりビーズ周囲の DC に IL-12 p40 mRNA の発現を認めた。また, 肺組織より RNA を抽出し Protection Assay を行い Th1 サイトカインの有意な発現を確認した。肺の肉芽腫性免疫応答の初期段階で, DC は肺局所に存在し, APC としての機能を担い, Th1 サイトカイン産生細胞として免疫応答の誘導と調節に寄与している。DC は肺の肉芽腫性免疫応答を誘導する重要な APC である。

Dendritic Cells in Granuloma Formation in Lungs

Kazuhiro Iyonaga, Kodai Kawamura, Moritaka Suga

First Department of Internal Medicine, Kumamoto University School of Medicine

To determine the role of dendritic cells (DC) in the initiation of a granulomatous immune response in the lung, C57BL/6 mice, non-immunized (NI) or immunized (IM) with purified protein derivative of *Mycobacterium bovis* (PPD), were intravenously injected with PPD-coupled Sepharose-4B beads. Twenty-four h later the granulomas of the IM mice were 3.1-fold larger than those of NI mice. They had 3.2- and 14.1-fold greater numbers of MHC class II⁺ and CD3⁺ cells, respectively. These differences declined by 3d when the granulomas of IM mice were 1.7-fold larger than in NI mice and both MHC class II⁺ and CD3⁺ cells were 1.4-fold higher in IM than in NI mice. DC isolated from lungs of IM mice injected with PPD-coated beads 24 h earlier induced a 2.4 - 5.0-fold higher proliferative response by PPD-sensitized T-cells in the absence of exogenously added antigen, than did DC isolated from the lungs of mice injected with non-coupled beads. Control hen egg lysozyme (HEL) immune T-cells did not respond to DC isolated from PPD granulomas. Immuno-labeling with anti-IL-12 mp40 mAb identified cells with a DC morphology within the granulomas. In situ hybridization using digoxigenin-labeled cRNA probe for IL-12 mp40 indicated that IL-12 p40 mRNA was expressed in the granulomas. Since DCs are among the first cells detected in newly formed granulomas, we suggest that they play a critical role in initiating the immune response elicited by immobilized PPD. In addition to priming naive T-cells, DC-derived IL-12 may be important in promoting Th1 differentiation with the subsequent production of IFN- γ by activated Th1 T-cells.