

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshiya Tahashi, Koichi Matsuzaki, Masataka Date, Katsunori Yoshida, Fumiko Furukawa, Yasushi Sugano, Masanori Matsushita, Yasuo Himeno, **Yutaka Inagaki**, Kyoichi Inoue: Differential regulation of TGF- β signal in hepatic stellate cells between acute and chronic rat liver injury. *Hepatology* 35: 49-61, 2002
- 2) Takuro Kinbara, Fumiaki Shirasaki, Sigeru Kawara, **Yutaka Inagaki**, Benoit de Crombrughe, Kazuhiko Takehara: Transforming growth factor- β isoforms differently stimulate pro α 2(I) collagen gene expression during wound healing process in transgenic mice. *J Cell Physiol* 190: 375-381, 2002
- 3) **Yutaka Inagaki**, Tomoyuki Nemoto, Atsuhito Nakao: Transcriptional regulation of type I collagen gene expression by transforming growth factor- β /Smad signaling and its antagonistic factors. *Connective Tissue* 34: 139-146, 2002
- 4) Kiyoshi Higashi, **Yutaka Inagaki**, Noriyuki Suzuki, Shinichi Mitsui, Alain Mauviel, Hideo Kaneko, Iwao Nakatsuka: Y-box binding protein YB-1 mediates transcriptional repression of human α 2(I) collagen

gene expression by interferon- γ . *J Biol Chem* 2003 (in press)

2. 学会発表

- 1) 稲垣 豊、根本朋幸：インターフェロン (IFN) α によるコラーゲン遺伝子の転写抑制機構の解析。第38回日本肝臓学会総会、2002年6月13日、大阪
- 2) 稲垣 豊、根本朋幸：TGF- β /Smad シグナリングからみた肝線維化治療のストラテジー。第6回日本肝臓学会大会シンポジウム(5)「肝線維化治療のストラテジー」、2002年10月24日、横浜
- 3) Kiyoshi Higashi, **Yutaka Inagaki**, Noriyuki Suzuki, Atsuhito Nakao, Hideo Kaneko and Iwao Nakatsuka: Interferon-gamma interferes with transforming growth factor-beta signaling through direct interaction of YB-1 with Smad3. 第74回日本生化学会大会、シンポジウム、2002年10月17日、京都
- 4) **Yutaka Inagaki**, Tomoyuki Nemoto, Tetsu Watanabe, Isao Okazaki: Interferon α antagonizes transforming growth factor- β -stimulated collagen gene transcription and represses promoter activation. 53th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, 2002. 11. 3, Boston, MA

H. 知的所有権の出願・登録状況

なし

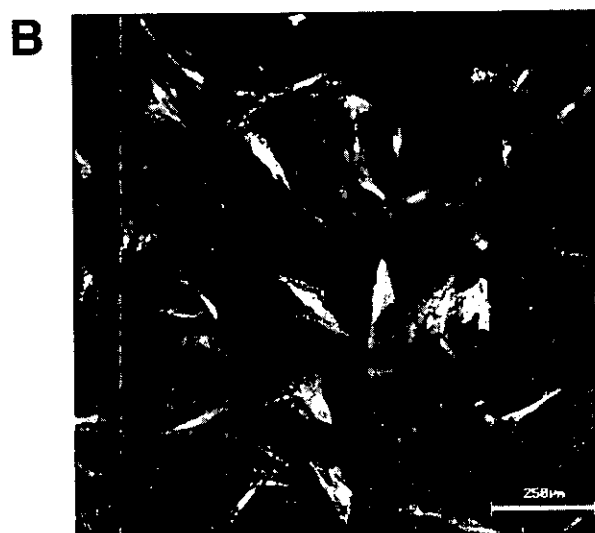
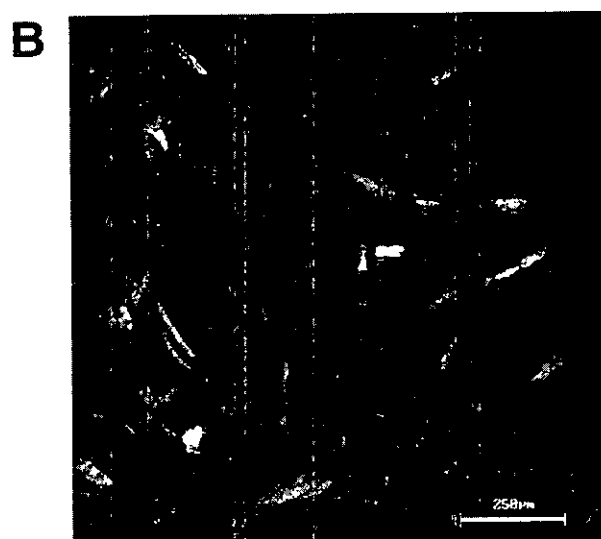
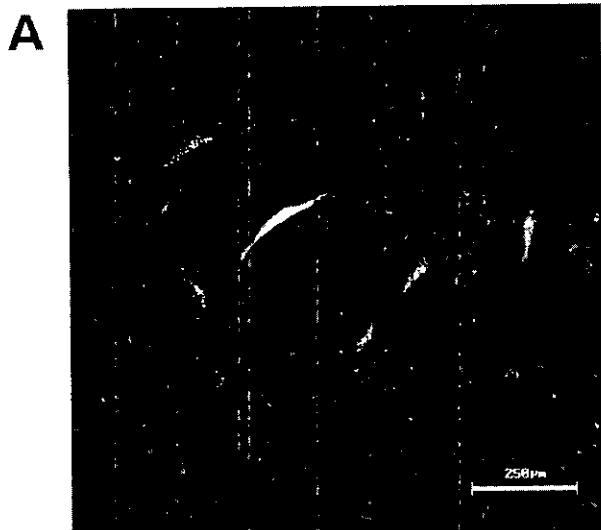


図1:COLIA2 エンハンサー・プロモーターにより制御される GFP の発現

COLIA2 の転写開始部位の上流、-17 kb から -15,5 kb 間のエンハンサーおよび-350 から+54 塩基間のプロモーターによって GFP を発現させるアデノウイルスベクター (17.0COL/GFP) を皮膚線維芽細胞 CF37 に感染させ、GFP の蛍光を非刺激 (A) あるいは TGF- β 刺激下 (B) で観察した。

図2:CAG 発現ユニットにより制御される GFP の発現

陽性コントロールとして、CAG 発現ユニットを用いて GFP を強制発現させるアデノウイルスベクター (CAG/GFP) を作製し、図1と同様 CF37 に感染後に GFP の蛍光を非刺激 (A) あるいは TGF- β 刺激下 (B) で観察した。

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

気管支肺胞洗浄液細胞所見による強皮症関連間質性肺炎の病態
解析

研究協力者 安井正英 金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学講師
研究分担者 佐藤伸一 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学助教授
主任研究者 竹原和彦 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学教授

研究要旨

強皮症（SSc）において間質性肺炎（IP）は重要な予後因子となっている。気管支肺胞洗浄液（BALF）細胞所見は、肺局所の炎症病態を反映することから、様々なIPに関して治療上の参考所見となっている。しかし、SSc-IPでは、BALF細胞所見が日常臨床に応用されていない。そこで、BALF細胞所見上臨床的に有用な指標を見いだすことを目的として、BALF細胞比率と呼吸機能（%FVC,%DLco）および血清マーカー（KL-6, SP-D）との関連を検討した。BALF好中球は、%FVCおよび%DLcoと有意な負の相関を示し、KL-6およびSP-Dとは有意な正の相関を認めた。また、BALFリンパ球比率を10%で分類すると、高値群では%FVCおよび%DLcoが有意に高値であり、SP-Dは有意に低値を認めた。以上より、SSc-IPにおいて、BALF好中球比率がIPの病態と関連し、臨床的に有用な指標となることが示唆された。

A. 研究目的

強皮症（SSc）において、間質性肺炎（IP）は、合併率が高くかつ重要な予後規定子となっている¹。SSc-IPは、特発性肺線維症（IPF）に比べれば極めて予後が良好であるが、病理組織学的分類としてはIPFと同様 usual interstitial pneumonia（UIP）が主体であると考えられてきた。しかし、近年 Bourosら³は、強皮症では90%がNSIPであり、残り10%がUIPもしくは進展し分類不能のIPであることが報告された²。これは臨床的には、極めて受け入れやすい結果で

ある。すなわち、特発性間質性肺炎（IIP）においては、nonspecific interstitial pneumonia（NSIP）はUIPよりもステロイド治療反応性や予後の点で良好であることが報告されており³、NSIPが主体のSSc-IPがIPF（UIP）に比べ予後がよいことが説明しやすい。したがって、SSc-IPに関しては、ほとんどがNSIPであり、NSIPをさらに分類し治療方針を考えることが必要となってきた。Idiopathic NSIPに関しては、cellular NSIP（cNSIP）とfibrosing NSIP（fNSIP）に大きく分類され、前者がステロイド反応

性が極めてよいことが報告されている⁴。
しかし、SSc-IPにおいては、cNSIPとfNSIPの間には予後に差は認められていない³。現時点では、病理学的分類もSSc-IPの治療方針決定にはあまり参考となる可能性は低く、さらに患者に対する侵襲性も大きい。したがって、これに変わりうる指標を見いだすことが重要である。気管支肺胞洗浄液 (BALF) は、肺内の細胞や液性成分を採取したものであり、肺局所病態に関する臨床および基礎的研究に極めて有用な情報が含まれている。また、BALF細胞分画であれば一般病院においても施行可能である。したがって、BALF細胞所見を参考にしてSSc-IPの治療方針を決定できれば、臨床的に非常に有用となる。

IPの進展に応じて、呼吸機能上FVCおよびDLcoが低下していくことから、IPの進展度の指標となる。一方、近年肺胞上皮細胞由来のKL-6およびサーファクタントプロテイン-D (SP-D) が登場し、その血中濃度はSSc-IPにおいても有用な活動性の指標となることが報告されている^{5,6}。以上より、SSc-IPにおけるBALF細胞所見と呼吸機能 (%FVC,%DLco) および血清マーカー (KL-6,SP-D) との関連性を検討し、SSc-IPの治療方針決定に結びつくBALF細胞所見を見いだすことを目的に研究を行った。

B. 研究方法

1) 対象患者

金沢大学医学部附属病院皮膚科において入院精査が行われたSSc患者の内、呼吸機能

検査、KL-6,SP-DおよびBALF細胞所見が検討できた27例 (男性4例、女性23例、平均年齢 56 ± 11 歳) を対象とした。

2) KL-6, SP-Dの測定

KL-6は、エイテストKL-6を用いELISA法にて測定を行った。SP-Dは、SP-Dキット「ヤマサ」EIAを用いて測定を行った。

3) 呼吸機能検査

呼吸機能検査値としては、予測値に対する努力肺活量のパーセント (%FVC) および予測値に対する拡散能のパーセント (%DLco) を解析に用いた。

4) 気管支肺胞洗浄液細胞所見の解析

BALF は、気管支鏡先端を IP の存在する区域気管支に挿入し、生理的食塩水 50 ml を注入・吸引する操作を計 3 回行い回収した。各フラクションごとに回収した BALF に関して、細胞数を求め、サイトスピン標本作製後ギムザ染色を行なった。各フラクションごとの標本を光学顕微鏡 1000 倍下に 300 個カウントし、細胞比率を算出した。フラクション 3 を肺胞領域の BALF 細胞所見として解析に用いた。

C. 研究結果

- 1) Total skin score (TSS) と呼吸機能、血清マーカーおよびBALF細胞分画との関連
まず、TSSについて、呼吸機能 (%FVC, %DLco)、血清マーカー (KL-6, SP-D) およびBALF各細胞比率との関連を検討したが、いずれも有意な相関を認めなかった。
- 2) BALF細胞分画と呼吸機能

BALFリンパ球比率は、%FVCおよび%DLcoと有意な相関は認められなかった。しかし、リンパ球比率10%未満(LL)群と10%以上(LH)群に分類した場合、LH群では%FVCおよび%DLcoが有意に高値であった。(図1)

BALF好中球比率は、%FVCおよび%DLcoと有意な負の相関を認めた。また、好中球比率5%未満(NL)群と5%以上(NH)群に分類した場合、NH群では%FVCおよび%DLcoが有意に低値であった。(図2)

BALF肺胞マクロファージ比率および好酸球比率に関しては、呼吸機能と有意な相関は認められなかった。

3) BALF細胞分画と血清マーカー

BALFリンパ球比率は、KL-6およびSP-Dと有意な相関を認めなかった。しかし、LL群に比べ、LH群ではSP-Dが有意に低値であった。(図3)

BALF好中球比率は、KL-6およびSP-Dと有意な負の相関を認めた。また、NL群に比べ、NH群ではKL-6およびSP-Dは有意に低値であった。(図4)

BALF肺胞マクロファージ比率および好酸球比率に関しては、いずれもKL-6およびSP-Dとは有意な相関は認められなかった。

4) BALF細胞分画と自己抗体

抗トポイソメラーゼI (Topo-I) 抗体陽性群と陰性群に分類し、BALF細胞比率を比較すると、陽性群において好中球比率が有意に高値であった。(図5)

D. 考 案

SScにおいては、高頻度にIPの合併が認められ、皮膚と肺は共通の機序で線維化が進展すると考えられている。しかし、今回の検討では、TSSと呼吸機能および血清マーカーの間には、有意な相関関係は認められなかった。すなわち、IPは皮膚病変との関連性は乏しく、両者は別々に治療方針をたてる必要がある。

BALFは肺局所の炎症病態を反映し、IPに関しては日常的に評価されている。

BALF細胞所見から重要な指標を見いだす方法としては、IPの進展度および活動性と関連している項目が重要であると思われる。

そこで、IPの進展度の指標として呼吸機能を用い、活動性の指標にはKL-6とSP-Dを用いて評価を行った。そして、今回の検討結果からは、BALF好中球比率が呼吸機能および血清マーカーと最も関連していることが判明した。すなわち、好中球が増加しているほど、IPは進展しかつ活動性が高い結果がえられた。一方、BALFリンパ球に関しては、逆にIPの障害範囲が狭くかつ活動性が低いことと関連している傾向がみられた。したがって、SSc-IPのBALF細胞所見においては、好中球比率とリンパ球比率、特に前者に注目して判断することが重要であることが考えられた。

SSc-IPに関しては、BALF好中球比率は、CT上のIPの拡がり⁷や呼吸機能の悪化⁸と相関することが報告され、今回の結果は矛盾しないと考えられる。さらに、BALF好中球比率は抗Topo-I抗体陽性群において有意に

高値であった。Witizら⁸もBALF好中球比率が抗Topo-I抗体と相関することを報告している。したがって、SSc-IPの中で、肺内に好中球浸潤が生じる病態と抗Topo-1抗体は何らかの関連があることが推測される。

一方、Bohrら⁹は、SScにおけるBALF細胞所見に関して、BALFリンパ球比率15%以上または好中球比率5%以上を認めた場合をactive BALFと判断し、積極的治療を行うべきであると述べている。しかし、今回の結果からは、BALFリンパ球と好中球の増加している意義は異なり、両者を同様に扱うことは適切ではないと考える。

本研究結果から、BALF細胞所見としては、好中球比率が最も重要であり、5%がおおよその基準と思われる。また、リンパ球比率に関しても10%が目安とはなるが、好中球比率の方がより重要視すべきであろう。ただし、今回の研究では、治療に対する反応性や長期的予後に関しては検討していない。今後これらの点も含めてBALF細胞所見の検討を行ない、SSc-IPの治療指針の一助となる基準を確立していく必要がある。

E. 結 論

SSc-IPにおいて、BALF好中球比率がIPの進展度および活動性と関連し、臨床的に有用な指標となることが示唆された。

F. 文 献

1. D'Angelo WA, Fries JF, Masi AT, Shulman LE: Pathologic observations in systemic sclerosis (scleroderma). a study

of fifty-eight autopsy cases and fifty-eight matched controls. *Am J Med* 1969,46:428-440

2. Flaherty KR, Toews GB, Travis WD, Colby TV, Kazerooni EA, Gross BH, Jain A, Strawderman III RL, Paine R, Flint A, Lynch III JP, Martinez FJ: Clinical significance of histological classification of idiopathic interstitial pneumonia. *Eur Respir J* 2002, 19:275-283

3. Bouros D, Wells AU, Nicholson AG, Colby TV, Polychronopoulos V, Pantelidis P, Haslam PL, Vassilakis DA, Black CM, du Bois R: Histopathologic subsets of fibrosing alveolitis in patients with systemic sclerosis and their relationship to outcome. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 165:1581-1586

4. Travis WD, Matsui K, Moss J, Ferrans VJ: Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia: prognostic significance of cellular and fibrosing patterns: survival comparison with usual interstitial pneumonia and desquamative interstitial pneumonia. *Am J Pathol* 2000, 24:19-33

5. Sato S, Nagaoka T, Hasegawa M, Nishijima C, Takehara K: Elevated serum KL-6 levels in patients with systemic sclerosis: association with the severity of pulmonary fibrosis. *Dermatology* 2000, 200:196-201

6. Asano Y, Ihn H, Yamane K, Yazawa N, Kubo M, Fujimoto M, Tamaki K: Clinical

significance of surfactant protein D as a serum marker for evaluating pulmonary fibrosis in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2001, 44:1363-1369

7. Wells AU, Hansell DM, Rubens MB, Cullinan P, Haslam PL, Black CM, du Bois RM: Fibrosing alveolitis in systemic sclerosis: bronchoalveolar lavage findings in relation to computed tomographic appearance. *Am J Respir Crit Care Med* 1994, 150:462-468

8. Witt C, Borges AC, John M, Fietze I, Baumann G, Krause A : Pulmonary involvement in diffuse cutaneous systemic sclerosis: bronchoalveolar fluid granulocytosis predicts progression of fibrosing alveolitis. *Ann Rheum Dis* 1999, 58:635-640

9. Behr J, Vogelmeier C, Beinert T, Meurer M, Krombach F, Konig G, Fruhmann G: Bronchoalveolar lavage for evaluation and management of scleroderma disease of the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 154:400-406

H. 知的所有権の出願・登録
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

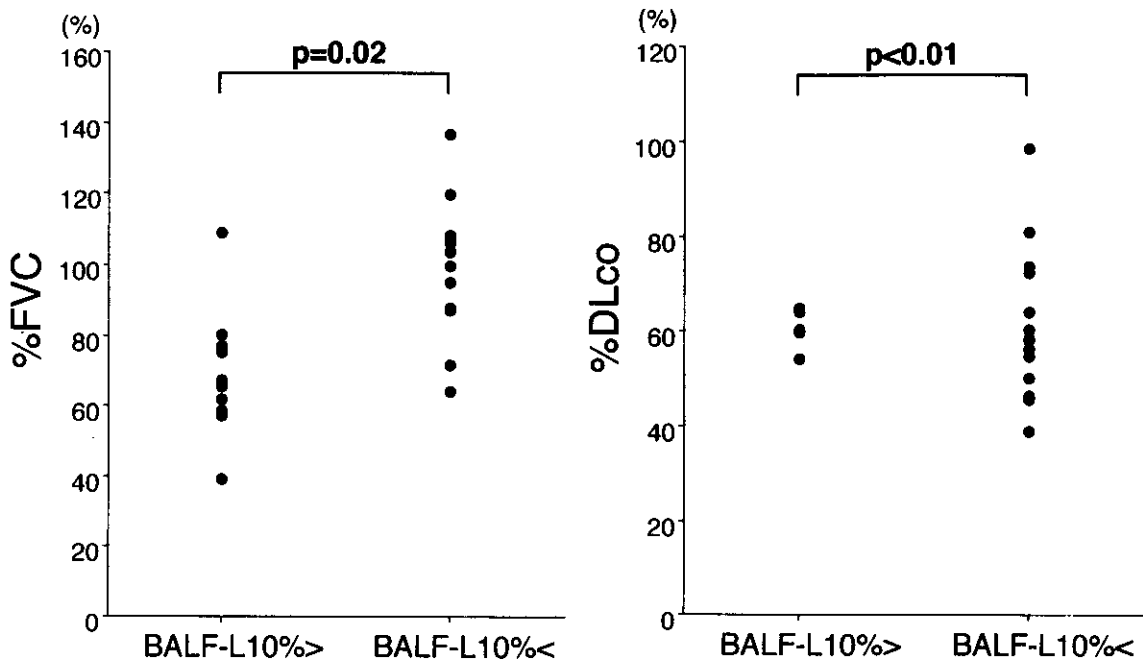


図1 BALFリンパ球比率による呼吸機能の比較

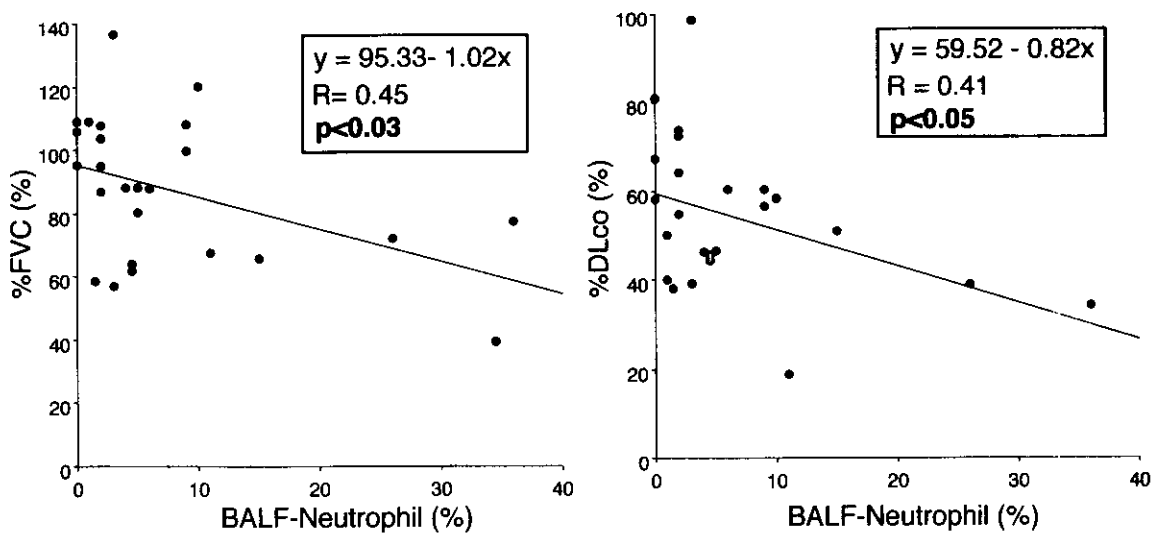


図2 BALF好中球比率と呼吸機能の相関

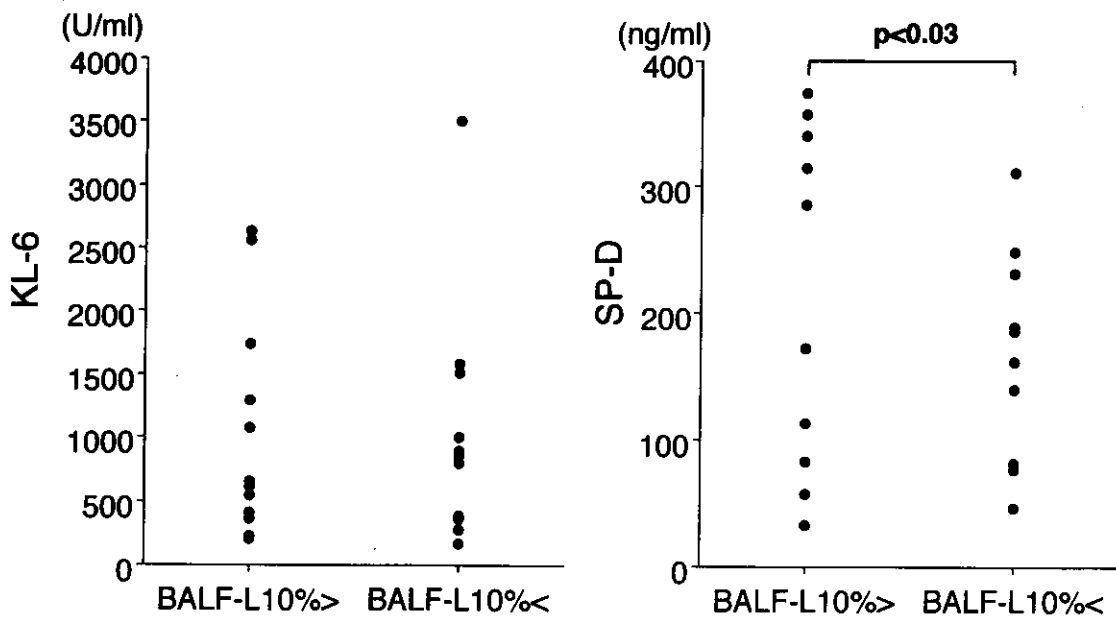


図3 BALFリンパ球比率によるKL-6およびSP-Dの比較

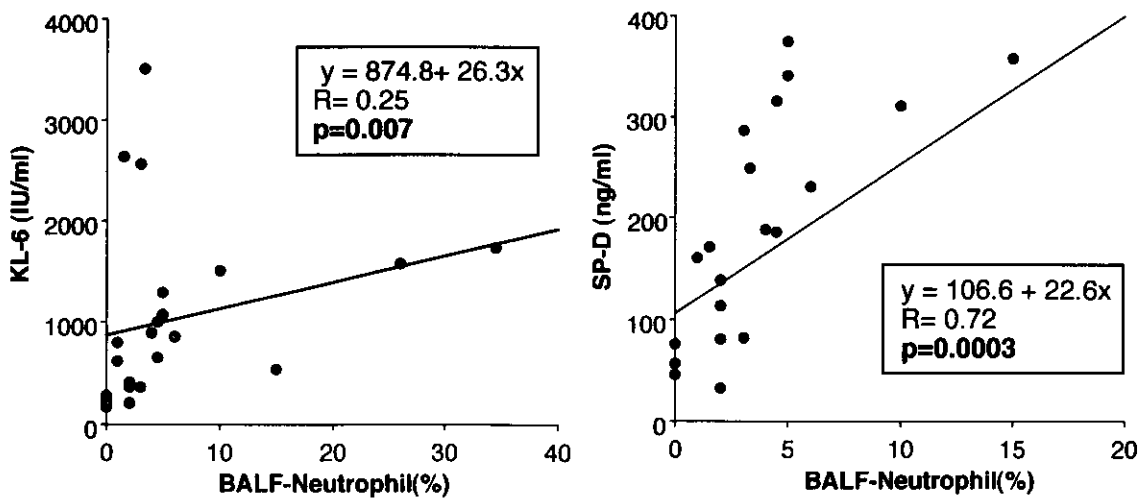


図4 BALF好中球比率とKL-6およびSP-Dの相関

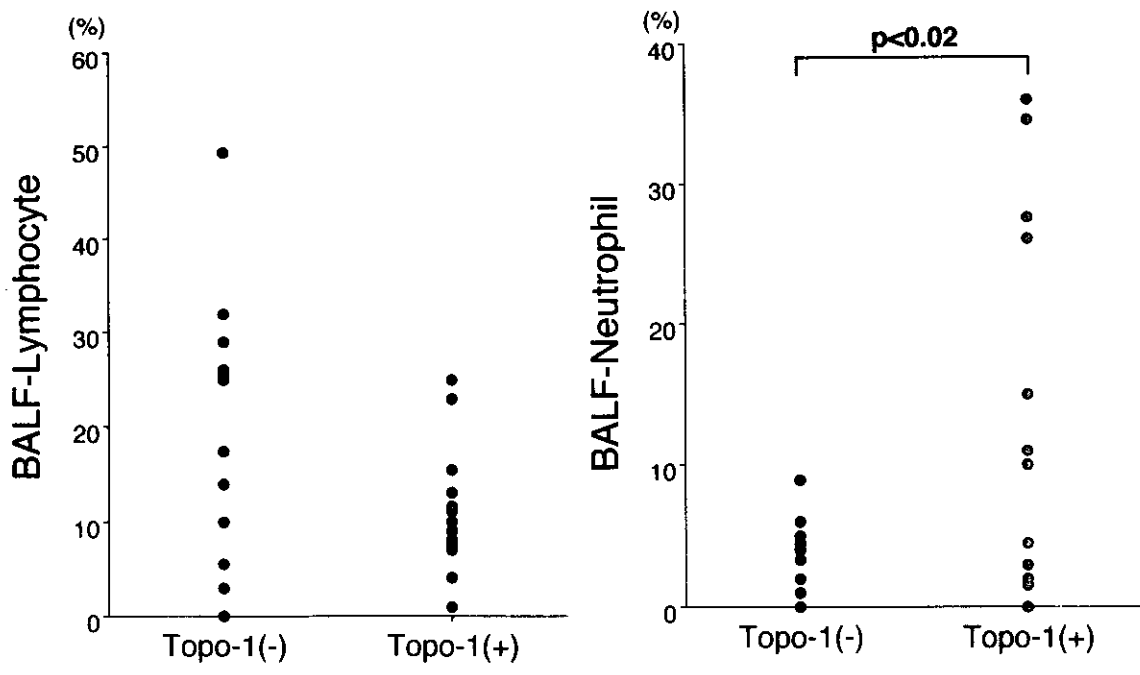


図5 抗トポイソメラーゼI抗体によるBALF好中球比率の比較

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

全身性強皮症における肺線維症と
血清 KL-6 値の経時的変化に関する研究

分担研究者 佐藤伸一 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学助教授
協力者 築場広一 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学特別研究生
協力者 濱口儒人 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学大学院生
協力者 長谷川稔 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学助手
主任研究者 竹原和彦 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学教授

研究要旨

全身性強皮症 39 例の血清 KL-6 値を ELISA で測定し経時的変化を検討した。抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性 4 例で肺線維症（PF）の発症、増悪に伴い急激な上昇を示した。活動性の低い PF を伴った 4 例では、初診時は KL-6 高値を示したものの経過中大きな変化は示さなかった。その他 31 例では正常域内で安定しており PF の発症、増悪は見られなかった。血清 KL-6 値は PF の活動性を反映し、急激な上昇は PF の発症、増悪を表すと考えられた。

A. 研究目的

全身性強皮症（systemic sclerosis: SSc）には、約半数以上において肺線維症（pulmonary fibrosis: PF）を合併し、また死因として最も高率であるため、その評価は臨床的に極めて重要である。PF を評価する方法としては気管支肺胞洗浄、高解像度 CT（high resolution computed tomography: HRCT）等が用いられているが、簡便性、侵襲において問題がある。よって簡便で非侵襲的かつ鋭敏な血清学的

指標が確立されれば、SSc における PF の活動性を把握していく上で大きな助けになると考えられる。

KL-6 は Kohnno らによって同定された糖蛋白抗原であり、主に II 型肺胞上皮細胞、呼吸細気管支上皮細胞に発現している¹。KL-6 はまた特発性間質性肺炎、過敏性肺臓炎、放射線肺臓炎、膠原病に伴う間質性肺炎等の間質性肺疾患の患者血清中で増加していることが見いだされており、これらの疾患の診断上有用な血清学的指標と

考えられている²⁻⁴。さらに間質性肺疾患では血清 KL-6 値は非活動性の患者に比べ、活動性を有する患者で有意な上昇が見られることが報告されている。以上より、KL-6 は間質性肺疾患の診断のみならず、その活動性の評価にも有用な血清学的指標となる可能性がある。

最近の研究では、血清 KL-6 値は PF を伴う SSc 患者で、PF を伴わない SSc 患者に比べて有意に上昇していることが示されている⁵。しかし長期間にわたって血清 KL-6 値の変化を評価した研究はない。それ故、SSc 患者における血清 KL-6 値が PF の発症や増悪を反映して変化するかどうかは不明である。今回の研究では SSc 患者、特に高率に PF を合併する抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性患者における血清 KL-6 値を経時的に検討し、PF の活動性との相関性について検討した。

B. 研究方法

1. 対象患者

対象患者は SSc 39 例(女性 33 例、男性 6 例)であり、年齢は 49 ± 19 歳であった。病型別では limited cutaneous SSc (lSSc) が 14 例、diffuse cutaneous SSc (dSSc) が 25 例であった。自己抗体別では抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性例が 25 例、抗セントロメア抗体陽性例が 11 例、抗 RNA ポリメラーゼ抗体

陽性例が 3 例であった。コントロールとして健常人 32 例、全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus: SLE) 患者 20 例について検討した。経時的検討では、SSc 39 例からの 250 検体を用いてレトロスペクティブに行った。観察期間は 2.9 ± 1.5 年であった。

2. ELISA

血清 KL-6 値は市販されている ELISA キットを用いて検出した (Eitest KL-6, Eisai, Tokyo, Japan)。簡潔に述べると、抗 KL-6 抗体にてコートした 96 穴のマイクロプレートにて、200 倍に希釈した血清を 20°C で 2 時間反応させた。検出にはペルオキシダーゼ標識抗マウス KL-6 抗体を用いた。カットオフ値は 500U/ml である。

C. 研究結果

1. 初診時における血清 KL-6 値

我々はまず初診時における血清 KL-6 値について検討した (図 1)。SSc における血清 KL-6 値は、健常人、SLE と比較して有意に高値であった。SLE と健常人との間には有意差は見られなかった。さらに抗トポイソメラーゼ陽性 SSc における血清 KL-6 値は、抗セントロメア抗体陽性 SSc、抗 RNA ポリメラーゼ抗体陽性 SSc、SLE、健常人と比較して有意に上昇していた。抗セントロメア抗体陽性 SSc、抗 RNA

ポリメラーゼ抗体陽性 SSc、SLE、健康人との間に有意差は見られなかった。

血清 KL-6 値は PF を伴う抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性 SSc における血清 KL-6 値は、PF を伴わない抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性 SSc に比べて有意に高値を示した。さらに抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性 SSc における血清 KL-6 値は、%VC、%DLco と負の相関を示していた (図 2)。このように血清 KL-6 値は抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性 SSc において、PF の存在とその重症度に比例することが分かった。

2. 血清 KL-6 値の経時的検討

血清 KL-6 値が PF の発症や増悪と相関しているかどうかを検討するために、39 例の SSc 患者から採取した血清 250 検体を用いてレトロスペクティブに経時的検討を行った (図 3)。39 例の SSc 患者のうち 25 例が抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性であり、その他に抗セントロメア抗体陽性 SSc が 11 例、抗 RNA ポリメラーゼ抗体陽性 SSc が 3 例であった。血清 KL-6 値の変動パターンにより抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性 SSc は、3 群に分けることが出来た。最初の群は血清 KL-6 値が急激な変動を示した群であり、4 例が分類された。第 2 群は初診時に KL-6 が高値を示したものの経過中大きな変動を見せなかったもので、4 例が分類

された。残りの 17 例は第 3 群に分類され、初診時からほぼ一定して正常値以下にて推移していた。抗セントロメア抗体陽性 SSc 11 例、抗 RNA ポリメラーゼ抗体陽性 SSc 3 例は第 4 群に分類した。

第 1 群に分類された 4 例はみな経過観察中に急激な血清 KL-6 値の上昇を示しており、4 例すべてが亜急性に PF の増悪を伴った。CASE 1 は初診時には軽度の KL-6 高値 (554U/ml) を示しており、軽度の PF を認めた (図 3A、4A)。当初皮膚硬化に対してプレドニゾロン 15mg/日による治療を行っていたが、4 か月後に KL-6 値が 1,463U/ml と急激に上昇すると共に、PF の亜急性増悪を認めた。胸部 CT では両中下肺野にかけてスリガラス状陰影と共に網状陰影が見られた (図 4A)。ステロイドパルス療法を行ったが PF の進行は止まず、初診から 3.2 か月後に死亡した。CASE 2 は、初診時は 55U/ml と KL-6 は正常値を示しており、胸部 CT にて PF は認められず肺機能も正常であった (図 3A、4B)。皮膚硬化に対しプレドニゾロン 20mg/日による治療を開始したが 6 か月後に KL-6 値が 956U/ml と急激に上昇すると共に、胸部 CT 上で両下肺野にスリガラス状陰影、網状陰影が出現した。肺機能も %VC56、%DLco39

と著明に低下していた。その後 PF の進行は止んだが、3 年後には低酸素血症のため在宅酸素療法の導入が必要となった。CASE 3 は初診時に KL-6 が 1,191U/ml と高値であり、軽度の PF を認めた (図 3A)。%VC 77、%DLco44 と肺機能の低下も見られていた。当初プレドニゾン 20mg/日による治療を行ったが、6 か月後に KL-6 が 1,693U/ml と急上昇すると共に PF の増悪が見られ、%VC57、%DLco35 と肺機能も著明に低下した。しかし約 1 年後になると PF の進行が止むと共に KL-6 値も低下した。CASE 4 は、初診時には 368U/ml と KL-6 は正常値を示しており、胸部 CT にても異常陰影は見られなかった (図 3A、4C)。皮膚硬化に対し、プレドニゾン 20mg/日による治療を開始したが、初診から 2 か月後に突如 KL-6 が 886U/ml と上昇すると共に、胸部 CT にて両下肺野にスリガラス状陰影が見られた。初診から 8 か月後には KL-6 は 1,311U/ml と更に上昇し、胸部 CT 上のスリガラス陰影は更に増悪したため、シクロフォスファミドパルス療法を行ったところ、PF の進行が止むと共に KL-6 値も 996U/ml と低下を見せた。このように、急激な KL-6 値の上昇は SSc における PF の増悪と相関を見せていた。

第 2 群に分類した 4 例では KL-6 値は初診時より上昇しており、観察期間中も高値のまま推移した (図 3B)。CASE 5、6 においては KL-6 値は 1,000U/ml を越える高値であったが、これらは罹病期間が 6 年を越えており胸部 CT 上は中等度の PF を伴っているものの honey-comb pattern を示しており活動性は低いものと考えられた。%VC、%DLco も初診時からほとんど変化を見せなかった。CASE 7、8 では KL-6 値は高値ではあるが 1,000U/ml 以下であり、胸部 CT でもごく軽度の活動性のない PF 像を示すのみで、観察期間中もほとんど変化は見られなかった。罹病期間は、CASE 7 では 5.0 年、CASE 8 では 0.4 年であった。

第 3 群の 17 人では観察期間中、KL-6 値はほぼ正常範囲にて推移した (図 3C)。うち 11 人はごく軽度の活動性のない PF を伴っており、6 人は PF を伴っていなかった。肺機能に大きな変化は見られなかった。抗セントロメア抗体陽性例と抗 RNA ポリメラーゼ抗体陽性例では、観察期間中 KL-6 は正常範囲内で安定しており、肺機能低下、PF の増悪は見られなかった (図 3D)。

D. 考案

今回の研究では、血清 KL-6 値が SSc、特に抗トポイソメラーゼ I 抗

体陽性例で高値を示し、更に PF の合併、肺機能低下と相関していた。経時的検討では、25 例の抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性例のうち 4 例で KL-6 値の急激な上昇が見られ、PF の発症、増悪と相関していた。更に、それら 4 例での PF の発症、増悪時期はいずれも SSc の発症から 2 年以内であった。以上から KL-6 値の急激な上昇は、抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性 SSc の早期において PF の発症、増悪に伴って起こることが明らかとなった。

KL-6 は間質性肺疾患における再生、増殖した II 型肺胞上皮細胞において、正常の II 型肺胞上皮細胞よりも強く発現していた^{1,2}。更に気管支肺胞洗浄液中の KL-6 値は間質性肺疾患において上昇しており、気管支肺胞洗浄液中の KL-6 値は血清 KL-6 値と有意に相関していた^{2,5}。これらの結果から、間質性肺疾患では増殖した再生 II 型肺胞上皮細胞が大量の KL-6 を産生し、それが血液中に流入することによって血清 KL-6 値の上昇を引き起こしていると考えられるため、血清 KL-6 値の上昇は肺胞の傷害、炎症を直接反映し、PF の活動性を表すと推測される。今回の検討では CASE 1 において PF の急性増悪に対してステロイドパルス療法を行っても、KL-6 は高値を維持したままであり PF も進行し続けた。

これと同じく過去の報告においてもステロイドの単独投与では PF に対しては効果が見られていない^{6,7}。一方、ステロイドとシクロフォスファミドによる治療が SSc における PF に効果的であったとの報告がある⁷⁻¹⁰。CASE 4 ではシクロフォスファミドパルス療法とステロイド投与により KL-6 は低下し、PF も安定を見せた。今回の検討ではわずかに 1 例であったが、シクロフォスファミドとステロイドによる治療が SSc における PF に効果的である可能性が示唆される結果となった。これについては更なる検討が必要と思われる。

第 2 群の 4 例では、初診時に KL-6 高値を示し経過中も高値のまま大きな変化を示さず、PF の増悪も見られなかった (図 3B)。うち 4 例中 3 例では初診時において既に発病から 5 年以上が経過していた。このことから KL-6 が高値を示した場合でもその値に大きな変化が見られない場合には PF の活動性は低いと考えられる。これは II 型肺胞上皮細胞の増殖により KL-6 が産生されるため、安定した KL-6 の高値は長期にわたる PF の再構築のプロセスを反映しているためと推測される。以上より、たとえ KL-6 が 1 回だけ高値を示したとしてもそれが PF の活動性を示すとは限らず、経時的に KL-6

値を測定しその変化を評価していくことが重要であると考えられた。

E. 結論

血清 KL-6 値は SSc において PF の活動性を鋭敏に反映し、その急激な上昇は PF の発症、増悪を示唆することが明らかとなった。血清 KL-6 値の測定は非常に簡便であり非侵襲的であることから、発症早期の SSc、特に抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性例において定期的に測定し PF の評価を行っていくことが重要であると考えられた。

F. 文献

1. Kohno N, Akiyama M, Kyoizumi S, Hakoda M, Kobuke K, Yamakido M: Detection of soluble tumor-associated antigens in sera and effusions using novel monoclonal antibodies, KL-3 and KL-6, against lung adenocarcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 1988; 18: 203-16.
2. Kohno N, Kyoizumi S, Awaya Y, Fukuhara H, Yamakido M, Akiyama M. New serum indicator of interstitial pneumonia activity: sialylated carbohydrate antigen KL-6. *Chest* 1989; 96:68-73.
3. Kobayashi J, Kitamura S. KL-6: a serum marker for interstitial pneumonia. *Chest* 1995; 108: 311-5.
4. Hamada H, Kohno N, Akiyama M, Hiwada K. Monitoring of serum KL-6 antigen in a patients with radiation pneumonia. *Chest* 1992; 101: 858-860.
5. Sato S, Nagaoka T, Hasegawa M, Nishijima C, Takehara K. Elevated serum KL-6 levels in patients with systemic sclerosis: association with the severity of pulmonary fibrosis. *Dermatology* 2000; 200: 196-201.
6. Rossi GA, Bitterman PB, Rennard SI, Ferrans VJ, Crystal RG. Evidence for chronic inflammation as a component of the interstitial lung disease associated with progressive systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 612-7.
7. Steen VD, Lanz JK, Jr., Conte C, Owens GR, Medsger TA, JR. Therapy for severe interstitial lung disease in systemic sclerosis. A retrospective study. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1290-6.
8. Silver RM, Warrick JH, Kinsella MB, Staudt LS, Baumann MH, Stranger C. Cyclophosphamide and low-dose prednisolone therapy in patients with systemic sclerosis (scleroderma) with interstitial lung disease. *J Rheumatoln* 1993; 20: 838-44.
9. Pakas I, Ioannidis JP, Malagari K, Skopouli FN, Moutsopoulos HM,

- Vlachoyiannopoulos PG. Cyclophosphamide with low or high dose prednisolone for systemic sclerosis lung disease. *J Rheumatol* 2002; 29: 298-304.
10. White B, Moore WC, Wigley FM, Xiao HQ, Wise RA. Cyclophosphamide is associated with pulmonary function and survival benefit in patients with scleroderma and alveolitis. *Ann Intern Med* 2000; 132: 947-54.
- G. 研究発表
1. 論文発表
なし
2. 学会発表
第 66 回日本皮膚科学会東京支部学術大会
「全身性強皮症における肺線維症と血清 KL-6 値の経時的検討」
平成 15 年 2 月 15 日
- H. 知的所有権の出願、登録状況
なし

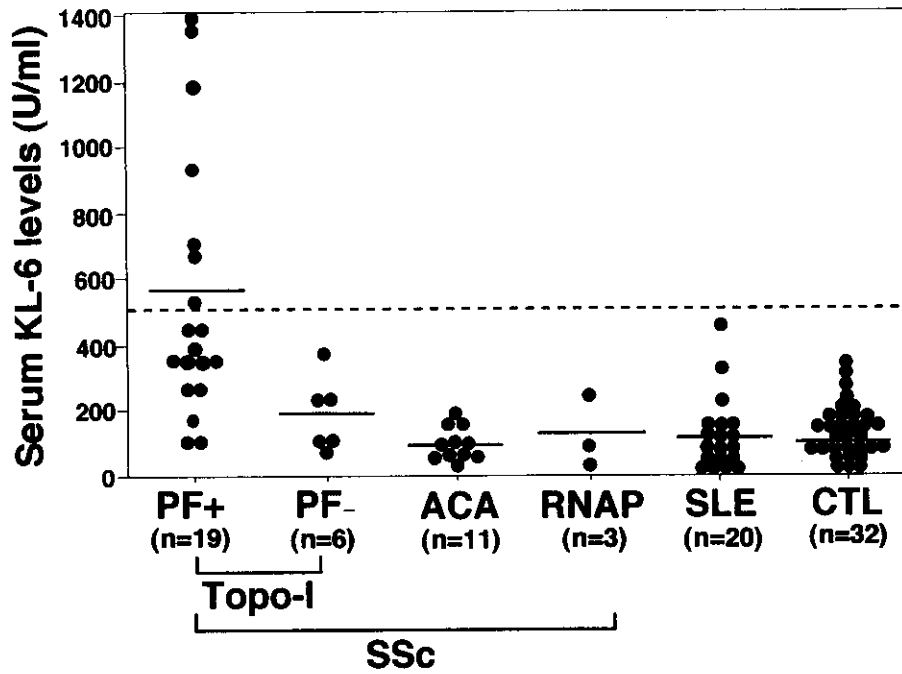


図1. 抗トポイソメラーゼI抗体 (Topo-I) 陽性SSc、抗セントロメア抗体 (ACA) 陽性SSc、抗RNAポリメラーゼ (RNAP) 陽性SSc、全身性エリテマトーデス (SLE)、健常人 (CTL) における血清KL-6値。Topo-I陽性SScについては肺線維症 (PF) を伴うもの (PF+)、伴わないもの (PF-) とPFの有無によって別々に示してある。破線はカットオフ値 (500U/ml) を示す。

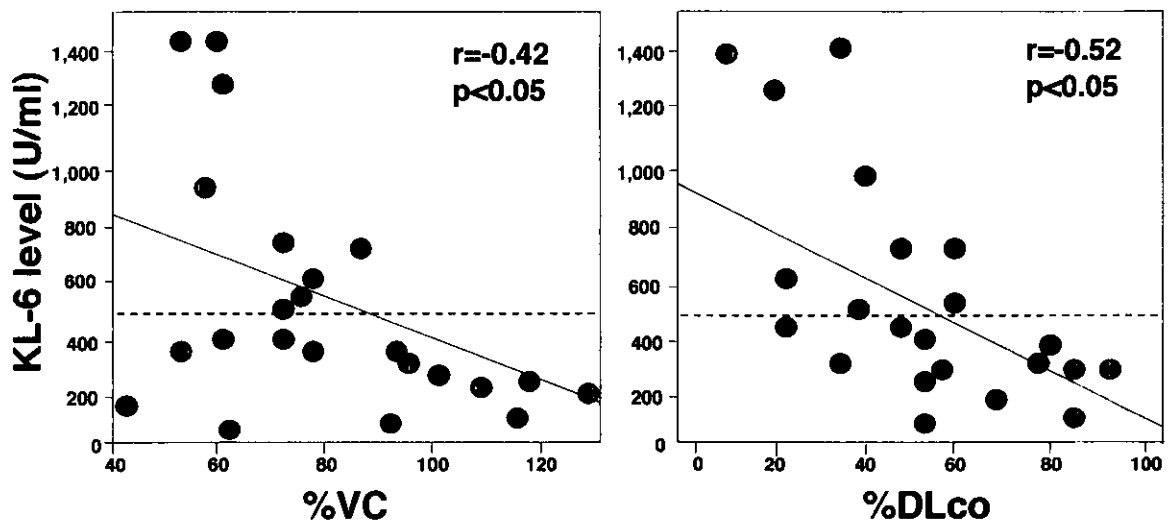


図2. 血清KL-6値と%VC、%DLcoとの相関。破線はカットオフ値 (500U/ml) を示す。

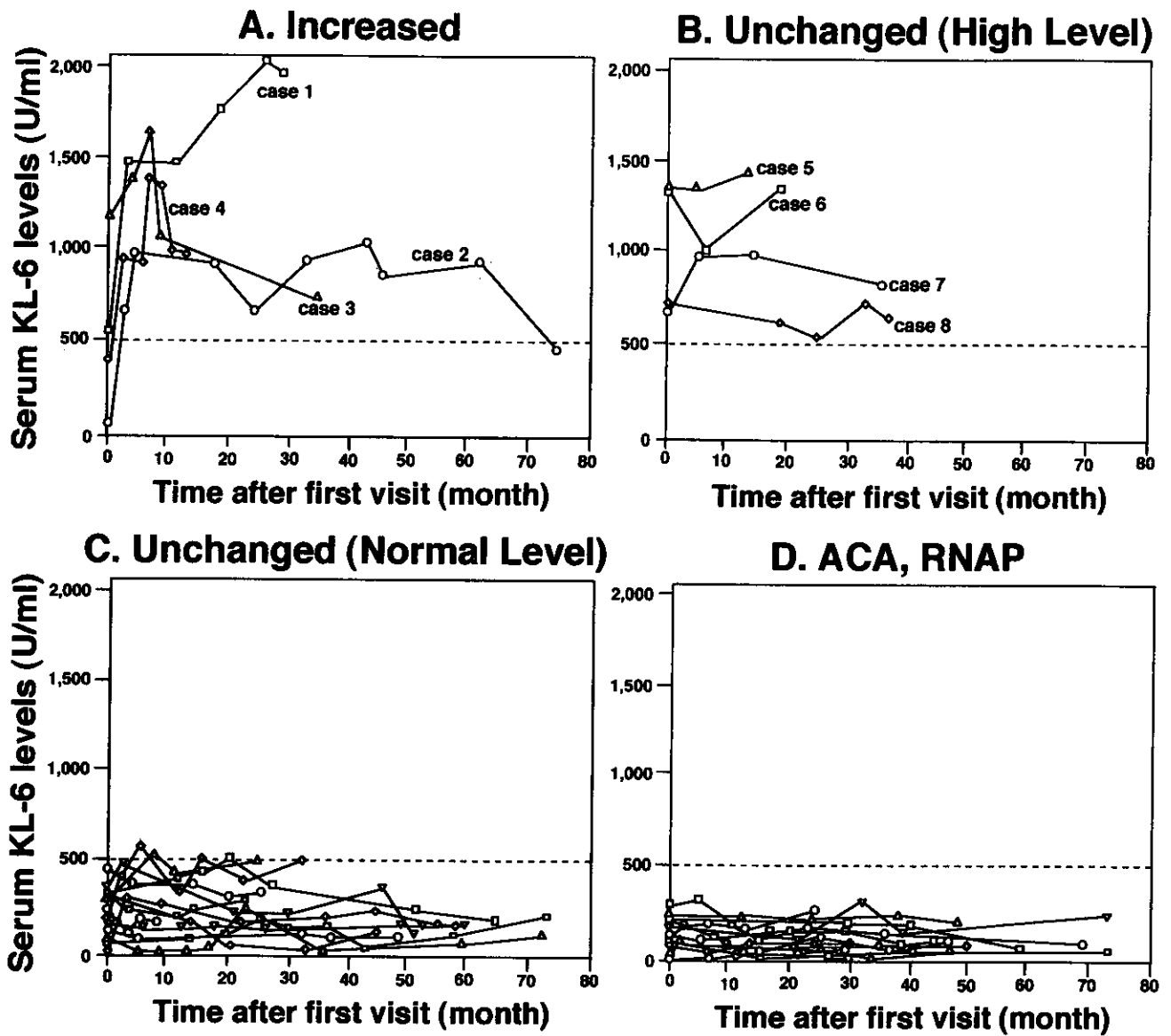
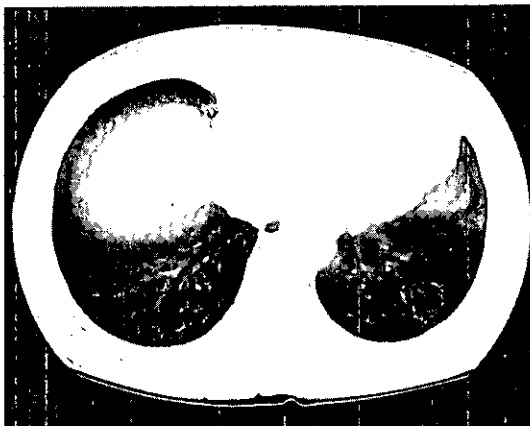


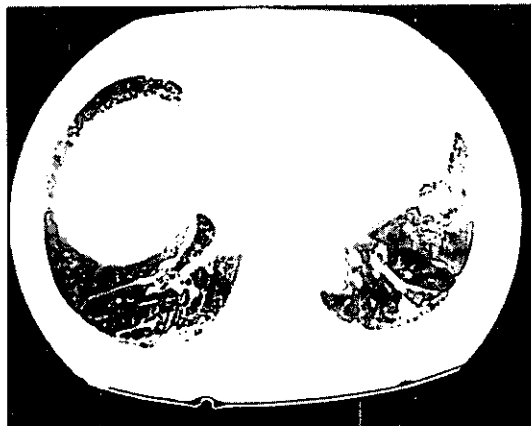
図3. 全身性強皮症における血清 KL-6 値の経時的変化。抗トポイソメラーゼ抗体陽性例は KL-6 の変化パターンから 3 群に分けられている。A は血清 KL-6 値が急激な上昇を示した群、B は高値を示したものの大きな変化は示さなかった群、C はおおむね正常範囲で安定していた群である。D は抗セントロメア抗体陽性例、抗 RNA ポリメラーゼ抗体陽性例である。破線はカットオフ値 (500U/ml) を示す。

A. Case 1

First visit



KL- 6 increased

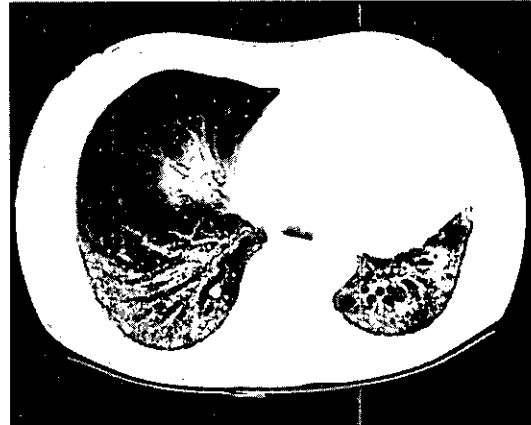


B. Case 2

First visit

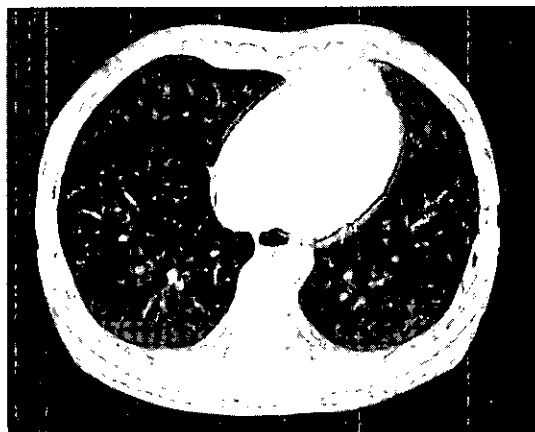


KL- 6 increased



C. Case 4

First visit



KL- 6 increased



図4. 図3AのCASE1, 2, 4における胸部HRCT像。左は初診時で右はKL-6が急激に上昇した時点での像であり、CASE1では初診から24か月後、CASE2では11か月後、CASE4では8か月後である。