

はじめに

家族性間質性肺炎という言葉は、歴史的には 50 年以上もまえに地理的にも、生育環境も全く異なる双子の姉妹とその子供にも間質性肺炎が発症しはじめて使用され、何か遺伝的素因が発症に関わるのではないかと考えられる 1 つの根拠となってきたが、有力な因子はいまだ確定できてはいない¹⁾。最近になって米国の 2 つのグループから家族性間質性肺炎にサーファクタントプロテイン C (sp-C) 遺伝子異常が存在することが報告され、にわかに注目を集め症例集積が行われつつある²⁾³⁾。Sp-C は、sp-B と共に肺胞の内面を覆おう表面活性物質である。SP-C, SP-B は、SP-A, SP-D と異なり疎水性蛋白であり表面活性の発現と維持に関わる重要な役割を果たしている。SP-B は、クララ細胞と II 型肺胞上皮細胞で発現分泌されるが SP-C は、II 型肺胞上皮細胞のみで発現分泌される 34 から 35 個のアミノ酸からなる分子量 3.5 kDa の、N 末端側に疎水性の性質を付加する 2 つのパルミチン酸化された cysteine 残基をもつ蛋白である。SP-C は、分泌型である成熟 SP-C が完成するまでいくつかの細胞内修飾を受ける (図 1)。SP-C 遺伝子は、第 8 染色体 8p23.1 に少なくとも 3500 塩基の広がりの中に 6 つの exon と 5 つの intron で構成され、0.86 kb の mRNA へと転写される。そして、その mRNA は、直接的に 22 kDa の proSP-C へ翻訳された後、翻訳後修飾をうけ C 末

側 58 番目の leucine 以降がまず切り離され、最後に N 末側 Phenylalanine 以降が切り離され成熟型 SP-C となる。ProSP-C の N 末端から 22 個のアミノ酸は、SP-C の細胞内 trafficking に関わる重要な部分であることも明らかになっている。今回米国より報告のあった家族性間質性肺炎の SP-C 異常は exon4, exon5 に認められ、この部分は ProSP-C の細胞内 trafficking に関わる部分であり、症例によってはサーファクタントの細胞内凝集がおき、その機能障害も生じている²⁾³⁾⁵⁾⁶⁾。ごく最近の報告では、exon4, exon5 に限らず他の部位にも存在することが明らかになってきている (図 2)。以上のような状況を基に当科における家族性間質性肺炎症例の臨床的解析と SP-C 遺伝子異常の解析を行った。

対象, 方法

1990 年から 2003 年 12 月までに特発性間質性肺炎で順天堂大学呼吸器内科受診及び入院となった症例の中から家族性間質性肺炎と考えられる症例を抽出し、可能な限り面接を行い調査した。家族性間質性肺炎は、同一家系内に 2 名以上の特発性間質性肺炎を認めるものという定義 (Marshall RP, et al. Thorax 2000; 55: 143-146) を採用した。診断については、CT による画像所見と病理所見によった。また、インフォームドコンセントにより協力の得られた症例については、

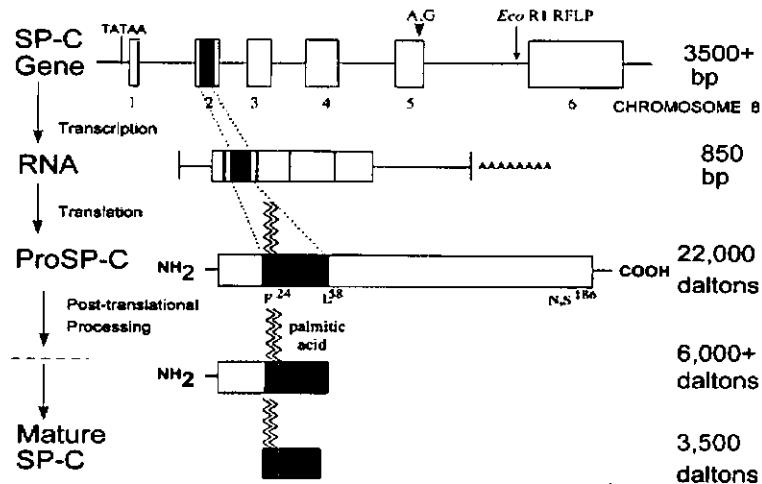


図 1 SP-C gene, mRNA, proprotein and processing

順天堂大学医学部呼吸器内科

* びまん性肺疾患調査研究班 研究協力者

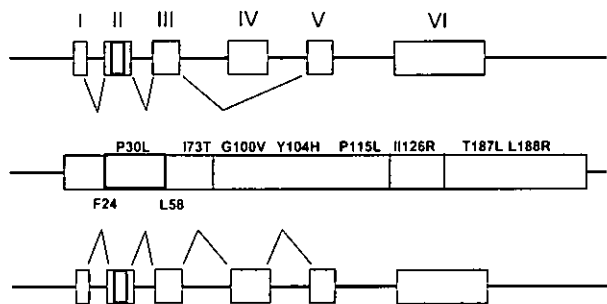


図2 Mutation in SP-C gene (Familial IPF)

血液サンプル或いは病理組織サンプルから DNA の抽出をおこない遺伝子解析用として保存した。Sp-C 遺伝子解析については、NCBI Accession AY337315 をもとにプライマーを設計し、BigDye Terminator v1.1 cycle sequencing kit (ABI) を使用し塩基配列を決定した。

結 果

集積された家族性間質性肺炎症例は 9 家系 19 症例 (表 1) で、診断時年齢は、47.2 (14.4 歳 (16 歳から 60 歳)) と特発性間質性肺炎より低い傾向にあり、診断名は UIP 9 例、IIPs 9 例、COP 1 例 (病理診断 11 例、画像診断 8 例) であった。男女比は 1.5 : 1.0、死亡時年齢は 51.4 (15 歳 (18 歳から 65 歳)) で死因は肺癌 1 例、脳内出血 1 例、呼吸不全 10 例、平均生存期間は、6.9

(4.0 年であった。8 家系が兄弟姉妹発症、内 1 家系が異母兄妹発症、1 家系が親子発症であった。画像的特徴は、上葉優位の間質影を認める症例が 49% (9/19) と上肺優位に胸膜直下に嚢胞をみとめる症例 (図 3, 4) が 37% (7/19)、全肺野に蜂巣状所見を示した症例が 1 例 (図 5) 存在した。これらの症例は、特発性肺線維症の画像所見と異なっていたが病理学的所見ではいずれも UIP であった。Sp-C 遺伝子解析は、FIP1-1、FIP1-2、FIP2-2、FIP3-3、FIP4-2 の 5 症例と FIP1 のご家族について Exon2 から Intron5 について行い、これまで報告されているような変異は認められなかったが、図 6 に示すような多型が存在した。コドン 186 については健常者 16 名についても調べ、S186N が家族性間質性肺炎では 11% の頻度であったが健常者では 88% の頻度であった。

考 察

本施設で集積した家族性間質性肺炎は、調査した 15 年間に 9 家系 19 症例であった。これらの症例は特発性間質性肺炎と比較して大きな相違は、病変の分布が異なっていることである。画像上約半数が上葉優位の間質影を認め、また約 40% が上葉優位に胸膜直下に嚢胞性変化を呈した。上葉優位の病変分布という点から職業、また生活環境についても調査したが有害物質への吸入暴露は明らかでなかった。嚢胞性変化について

表 1 順天堂大学呼吸器内科における家族集積性を認めた特発性間質性肺炎 (2003.12)

家系	性別	家族関係	発症時年齢	転帰	現在及び死亡時年齢	診断
1-1	M	兄	20	死亡	34	剖検(UIP)
1-2	M	弟	28	生存	32	VATS(UIP)
2-1	F	姉	51	死亡	54	CT(IIP)
2-2	F	妹	54	死亡	62	CT(UIP)
3-1	F	姉	48	死亡	52	CT(IIP)
3-2	F	妹	58	死亡	61	CT(IIP)
3-3	M	弟	56	生存	58	CT(IIP) VATS予定
4-1	M	異母兄	55	死亡	61	剖検(UIP)
4-2	F	異母妹	45	死亡	55	TBLB CT(IIP)
5-1	M	兄	54	死亡	56	CT(IIP)
5-2	M	弟	58	死亡	65	CT(UIP)
6-1	F	姉	60	生存	64	CT(IIP)
6-2	F	妹	59	生存	62	VATS(UIP)
7-1	M	父	54	死亡	60	剖検(UIP)
7-2	M	長男	26	死亡	32	剖検(UIP)
8-1	M	兄	48	死亡	62	CT(IIPs) 剖検
8-2	M	弟	59	生存	62	TBLB, CT, (IIPs), VATS
9-1	M	兄		生存	72	TBLB (IIPs) BAL
9-2	M	弟		生存	69	TBLB(IIPs)

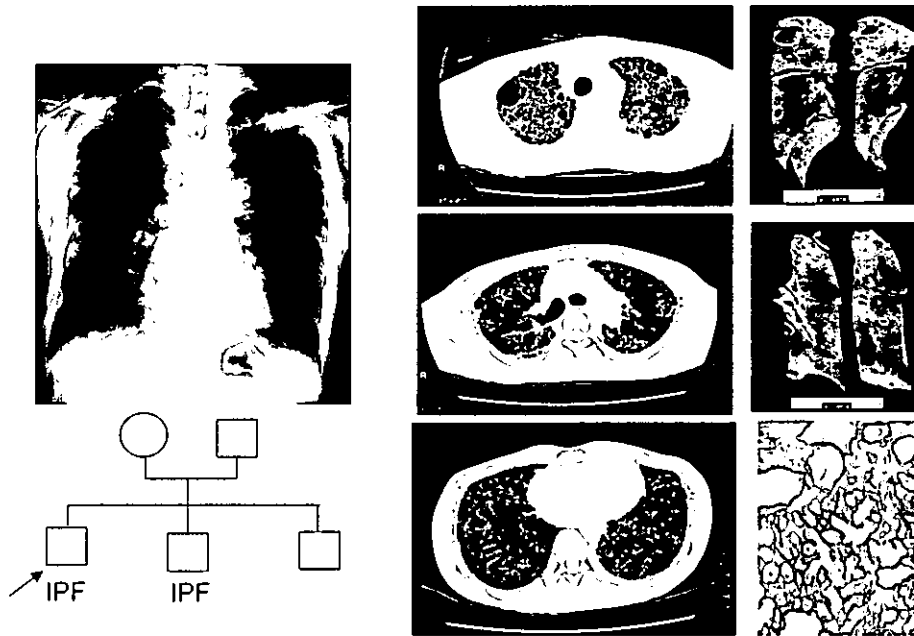


図3 FIP 1-1 34 yrs old. Male

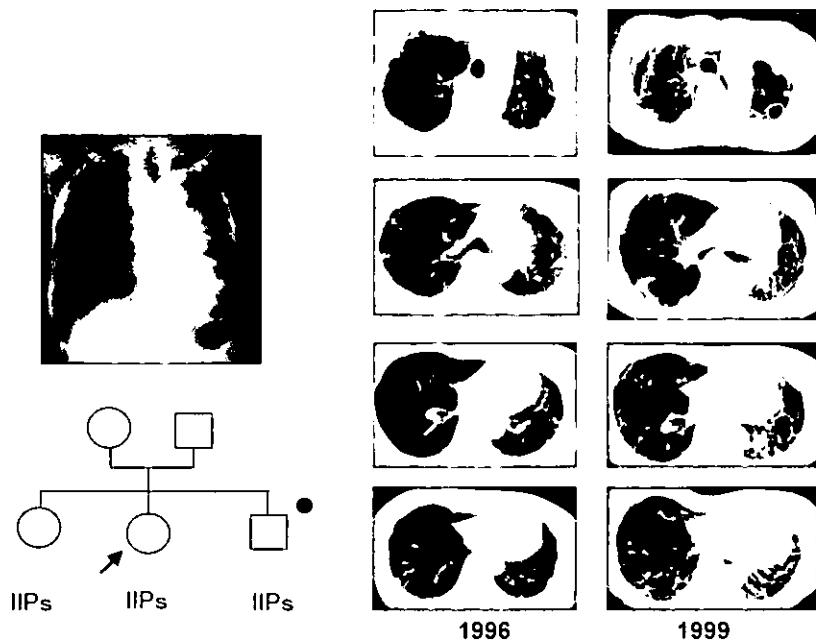


図4 FIP 3-2 58 yrs old. Female

は、蜂巣状変化を呈した部分が徐々に囊胞化となったと考えられる部分と線維化した部分に囲まれた正常組織の部分が囊胞化したような部分がみられ、細気管支領域の閉塞機転やプロテアーゼ等による破壊機転が推測された。FIP7-2は親子症例であるが、初診時は画像上、細かな一様な大きさの囊胞或いは輪状影が上葉から下葉まで一様にみられ、陰影の性状は異なるが Langhans cell histiocytosis も疑われたが、開胸肺生検、

死亡後の剖検所見においても UIP の診断となった。病理組織学的診断の着いた 11 症例中 10 例が UIP との診断であったが、これまでの UIP の画像所見、病変分布とは異なることや発症年齢が若いことなどから遺伝的な要因も関わっていることが強く示唆された。米国で報告されている家族性間質性肺炎については、UIP、NSIP という病理学的診断名のみで画像、またマクロの病理学的特徴が記載されておらず、本症例と比

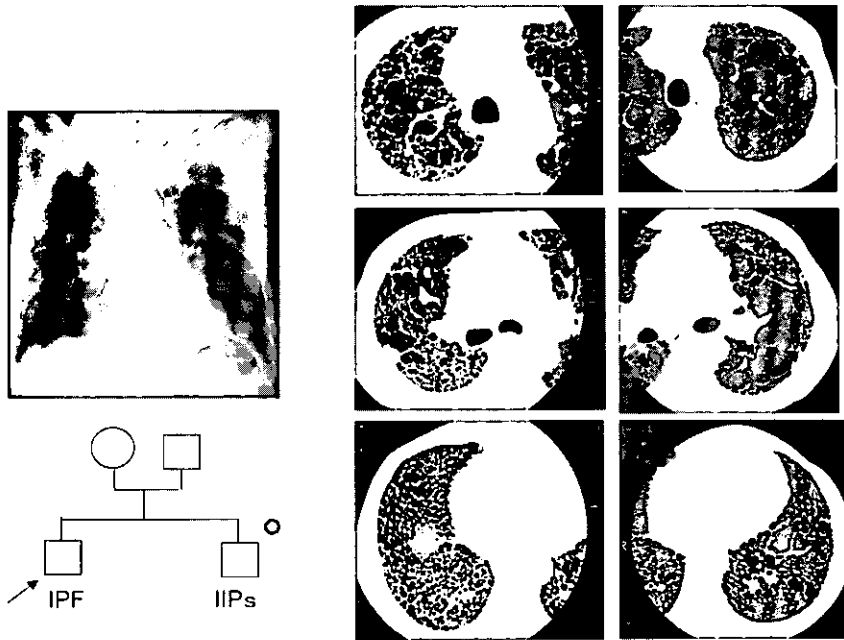


図5 FIP 8-1 62 yrs old. Male

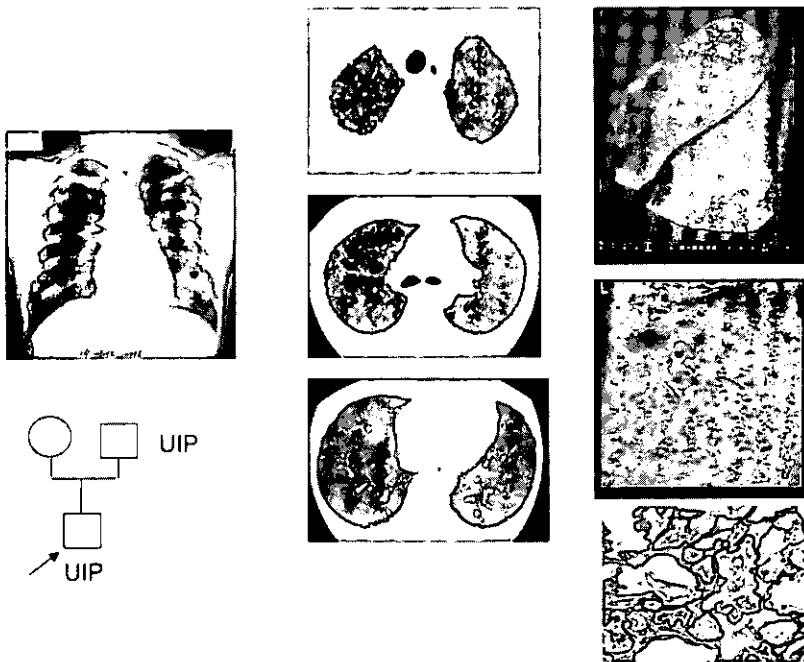


図6 FIP 7-2 32 yrs old. Male

較検討することはできなかった。

SP-C 遺伝子について5症例について exon2 から intron5 間の塩基配列を決定したが mutation は見つからなかった。一方複数の多型を認め、なかでもコドン 186 については欧米で報告されている頻度とは異なりコドン 186 がセリンに置換しているのは家族性間質性肺炎症例や特発性間質性肺炎に偏り、健常者ではアスパラギンへ偏りが認められた。しかし、これが

proSP-C の構造に変化をもたらす病的な意味合いを帯びるのかどうかは、今後の症例の蓄積と解析が必要と考えられ、また、これまで報告されている SP-C 遺伝子多型は欧米からであり表 2 に示したようにドイツと米国でも頻度、部位が異なるところもあり民族間における多型の偏りも予想され、日本人健常者における多型の頻度も今後調べてみる必要があると考えられた。

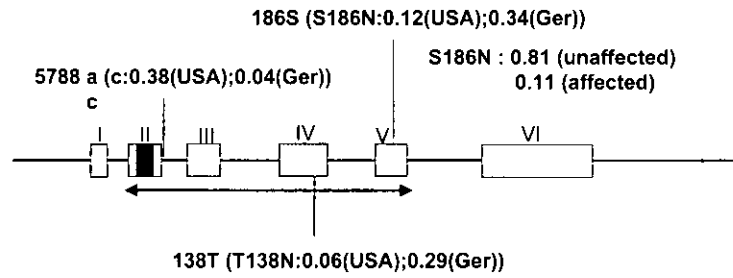


図 7 SP-C gene analysis

表 2 欧米に於ける SP-C 遺伝子多型

	Variation	nucleotide	Frequency		
			USA	Germany	
Exon1			N	N	
Intron1	4912	A	0.04	0.04	
	4916	A	N		
	5105	A	N	0.01	
	5211	A	0.02	N	
	5224	C	0.04	N	
	5236	A	0.01	N	
	5306	A	0.29	0.31	
	5387	A	0.27	0.27	
	5494	T	0.01		
5529	A	N	0.01		
5560	C	0.42	0.41		
5753	A	0.06	N		
Exon2	N		N	N	
Intron2	5753	A	N	0.02	
	5787	C	N	0.04	
	5788	C	0.38	N	
	5847	G	0.01	N	
	5854	A	0.03	N	
Exon3	N		N	N	
Intron3	N		N	N	
Exon4	6531	A	0.06	0.29	T138N
Intron4	6624	A	0.07	0.03	
	6701	T	0.05	0.01	
	6783	T	0.23	0.16	
	6882	G	0.29	0.19	
Exon5	6994	G	N	0.01	L181V
	7011	A	0.12	0.34	S186N
Intron5	7235	A	0.77	0.35	
Exon6	7378	A	0.22	0.35	
	7428	T	0.25	0.14	
	7429	A	N	0.33	
	7437	C	0.12	N	
	7471	T	0.01	N	
	7541	T	0.39	N	

文 献

- 1) Reaboy, Hayes IPF: Its occurrence in identical twin sisters. *Dis Chest* 18 : 333-344, 1950
- 2) Nogee LM, et al. A mutation in the surfactant protein C gene associated with familial interstitial lung disease. *New Engl J Med* 344 : 573-579, 2001.
- 3) Thomas AQ, et al. Heterozygosity for a surfactant protein C gene mutation associated with usual interstitial pneumonitis and cellular nonspecific interstitial pneumonitis in one kindred. *Am J Respir Crit Care Med* 165 : 1322-1328, 2002.
- 4) Nogee LM. Genetics of the hydrophobic surfactant proteins. *Bioch Biol Acta* 1408 : 323-333, 1998.
- 5) Weaver TE. Synthesis, processing and secretion of surfactant protein B and C. *Bioch Biol Acta* 1408 : 173-179, 1998.
- 6) Keller A, et al. The C-terminal domain of the pulmonary surfactant protein C precursor contains signals for intracellular targeting *Am J Respir Cell Mol Biol* 6 : 601-608, 1992.

剝離性間質性肺炎の気管支肺胞洗浄液のプロテオーム解析

中田 光^{1*} 寺川 貴裕¹ 濱野 栄美¹ 内田 寛治¹
渡辺 雅人¹ 武村 民子^{2*} 山内 広平³ 別役 智子⁴
西村 正治⁴ 慶長 直人^{1**}

剝離性間質性肺炎 (DIP) は肺胞腔内の肺胞マクロファージが異常増殖し、II型上皮の過形成で起こるとともに乾湿の肥厚・線維化が進行する稀な疾患である。DIPでは、早期から肺底部において肺胞虚脱を示唆するベルクロラ音が聴取される。我々は、この原因が肺胞を覆っているサーファクタント成分の変性にあるのではないかと考え、患者気管支肺胞洗浄液と健常気管支肺胞洗浄液のプロテオーム解析を試みた。その結果、DIPでは、 $\alpha 1$ アンチトリプシン、 $\alpha 1$ アンチキモトリプシン、イムノグロブリン、MMP-12、変性アルブミンなどが増加していた反面、健常者に見られる house keeping 蛋白である SP-A, D, haptoglobin, apolipoprotein A1 など肺ホメオスターシスを保つのに重要な蛋白が減少していた。DIPにおけるサーファクタント成分の異常は、病態形成に深く関わっている可能性がある。

Proteomic Analysis of Proteins in Broncho Alveolar Lavage Fluid from Patients with Desquamative Interstitial Pneumonia

K Nakata, T Terakawa, T Takemura, K Yamauchi,
K Uchida, E Hamano, M Watanabe, and N Keicho

Department of Respiratory Diseases, Research Institute, The International Medical Center of Japan

Desquamative interstitial pneumonia (DIP) is a rare lung disease characterized by abnormal increase of alveolar macrophages in the alveoli and terminal bronchiole followed by hypertrophy of alveolar type II cells and interstitial fibrosis. The cause for the abnormal increase of AM is not clear, but it may alter alveolar microenvironment drastically, because AM catabolize surfactant proteins and lipids *in vivo*. To elucidate this, we performed a differential 2D-electrophoresis of proteins in broncho alveolar lavage fluid from the patients and normal volunteers using 2D-DIGE system. Semiquantitative change of each protein spot was analysed by a computer. We found that $\alpha 1$ -antitrypsin, $\alpha 1$ -antichymotrypsin, immunoglobulin, MMP-12, and denatured albumin were increased in DIP, whereas various house keeping proteins, such as surfactant protein A, -D, haptoglobin, transferrin, lipoprotein A1 were decreased. Thus, drastic change of protein component may proceed in alveolar microenvironment in patients with DIP.

はじめに

DIP 患者の多くは中年以降の喫煙者であり、発病率は、10万人に5人程度と言われている。その臨床経過は慢性で、5年生存率が73%、平均余命は12年である。DIPは肺胞および終末気管支に、肺胞マクロファージが異常に増加し、肺胞II型上皮の増生、間質の線維化が進行する。炎症が進むと肺胞間質が肥厚し、肺胞の形も不整となり、肺胞のコンプライアンスが低下する。その結果、肺活量が落ちると同時に、毛細血管への酸素透過性が低下する。さらに進行すると、肺胞は線維性成分の固まりとなり、この部分での肺としての機能が失われる。比較的病状早期から吸気時に聴診上Velcroラ音が聴かれるが、これは虚脱した肺胞に空気が入る音である。この肺胞虚脱の原因として、肺胞を覆っているサーファクタントの表面張力の低下が予想されるが、これはサーファクタントの質的量的変化に原因があるのかもしれない。またDIPにおける肺胞マクロファージの異常な増加の原因は明らかになっていないが、病理学的には大型の成熟した肺胞マクロファージが肺胞腔内に集塊となって観察される。このように、DIP BALFタンパク質組成は、健常者のBALFタンパク質組成とプロテオーム解析により比較した場合、十分な差が見られることが予想された。

目 的

- 気管支肺胞洗浄液の蛋白組成がDIP肺と健常肺でどのように異なるかを知る。
- 現在用いられているプロテオーム解析技術を用いて上記の目的がどこまで達成できるかを知る。
- 気管支肺胞洗浄液から得られる情報をDIPの病態解明に役立てる。

健常者BALFとDIP患者BALFの2D-DIGEによる比較

2001年にアマシャムバイオサイエンスにより開発された2D-DIGEシステムは、異なる吸収波長を持つ複数の蛍光色素を用いて、比較したい複数のタンパク質を標識し、同一ゲル上で2次元電気泳動展開する技術で、異なる検体間での同一タンパク質のスポット位置のずれはなく、また、異なる励起波長によって励起した別々の蛍光を測定することにより検体間の同一タンパク質スポットの量的な差を検出することができ、別々のゲルで泳動していたこれまでの解析に比べ、より精度の高いディファレンシャルディスプレイ解析が可能である。本項では、この技術を健常者BALFとDIP患者BALFのタンパク質組成の相違を検出するために用いることを試みた。

材料と方法

材料

27名の健常者ボランティアのBALF、7例のDIP患者BALF、および7例の健常喫煙者BALFを採取後速やかに -80°C に保存されていたものを試料とした。使用時には 4°C で静置して解凍した。前述したように健常者BALFには個体差が見られたので、患者BALFと比較するためには、健常者BALFを規格化する必要がある。そこで、健常者27名のBALFを等量プールし混合したものを芳醇健常者BALFとした。

泳動タンパク質標識

2D-DIGEはあらかじめ泳動するタンパク質試料を蛍光色素Cy2、Cy3、Cy5(アマシャムバイオサイエンス販売)によって標識しておく。このため、泳動した後に染色する必要はなく、専用の画像取り込み装置Master Imager(アマシャムバイオサイエンス、試作品)によって蛍光色素を励起させ、励起光をCCDカメラで検出して泳動像を可視化した。今回使用した蛍光色素について以下に概略を示した。

2D-DIGEのための1次元目等電点電気泳動

1次元目の等電点電気泳動装置は、IPG Phor(アマシャムバイオサイエンス)を用いた、IPGストリップは泳動等電点範囲3-10NL(Non Linear)24cm1次元ストリップ(アマシャムバイオサイエンス)を使用

¹ 国立国際医療センター研究所 呼吸器疾患研究部

² 日赤医療センター 病理部

³ 岩手医科大学 第三内科

⁴ 北海道大学 第一内科

* びまん性肺疾患調査研究班 研究協力者

** びまん性肺疾患調査研究班 分担研究者

した。

泳動試料は 3.1.2 の方法により処理したタンパク質 50 μg が含まれるよう調整したタンパク質溶液に対して 500 pmol の Cy 色素をよく混合し、氷上で 30 min 静置して標識した。その後比較対象となる異なる Cy Dye で標識済みのもう一方のタンパク質と混合した後、2 倍濃度の泳動バッファーを標識タンパク質溶液と等量体積加え、さらに終容量 450 μl になるように 1 倍泳動バッファーを加えて 1 次元目泳動試料液とした。この試料液を 1 次元目泳動セルに均等に添加し、泳動等電点範囲が 3-10 NL の 24 cm 1 次元ストリップを 12 時間膨潤させた。1 次元目終了後のゲルは平衡化せず、なるべく光に当てないようにして速やかに 2 次元目電気泳動に供した。

5.2.1.4 2D-DIGE のための 2 次元等電点電気泳動

Cy 色素によって標識した試料は 1 次元目電気泳動終了後、ただちに 2 次元目電気泳動を行った。24 cm の 1 次元目 IPG ストリップの 2 次元目 SDS-PAGE の場合は、2 次元目の電気泳動ゲルは、21 cm \times 27 cm の EttanDALT (アマシャムバイオサイエンス) を用いて自作した。アクリルアミドゲルゲル硬度は 12.5% に統一した。ゲル作製に用いたアクリルアミド、ビスアクリルアミド、TEMED、APS はアマシャムバイオサイエンスのものを使用した。SDS-PAGE バッファー調製に使用した、SDS、グリシン、Tris は生化学用ないしは特級の和光純薬製を使用した。泳動槽は専用の EttanDALTsix (アマシャムバイオサイエンス) を用いて、2 W 一定の印加条件で 17 時間泳動した。泳動中

は、泳動槽底部にある熱交換器と泳動槽内攪拌ポンプによって泳動槽内の泳動バッファー温度を一定温度に保った。

健常非喫煙者標準 BALF と DIP 患者 BALF の 2D-DIGE 法による比較

27 例のプールした健常非喫煙者 BALF と 5 例の個別の DIP 患者 BALF の 2D-DIGE 法によるディファレンシャル 2 次元電気泳動の結果を参考データとして以下に示した (図 1)。

健常非喫煙者 BALF 27 例を等量 1 ml ずつプールして規格化した BALF および 5 例の DIP 患者 BALF よりタンパク質を抽出し、その 50 μg を pI 範囲 3-10 non linear で 1 次元目の泳動を行った。2 次元目の PAGE 終了後、MasterImager (アマシャムバイオサイエンス: 試作品) により CCD カメラによって蛍光を撮影し可視化した。取り込んだ画像は画像解析ソフト PD-Quest によってディファレンシャルディスプレイのため重ね合わせた。泳動スポットの色は、健常非喫煙者 BALF は緑色、DIP 患者 BALF は赤色に処理した。このため、両者で共通のスポットは黄色に表示される。

A~E までの泳動を相互に観察すると、健常者を規格化して統一した場合でも、5 例の泳動像にはある程度のばらつきが散見された。DIP 患者の A, B, D, E ではイムノグロブリン H 鎖, L 鎖の双方が患者側で強く発現していた。予想どおり、アルブミンがゲルの中央付近で目立ったスポットとなっていた。DIP 患者 C のアルブミンのスポットが他の泳動像のアルブミンの

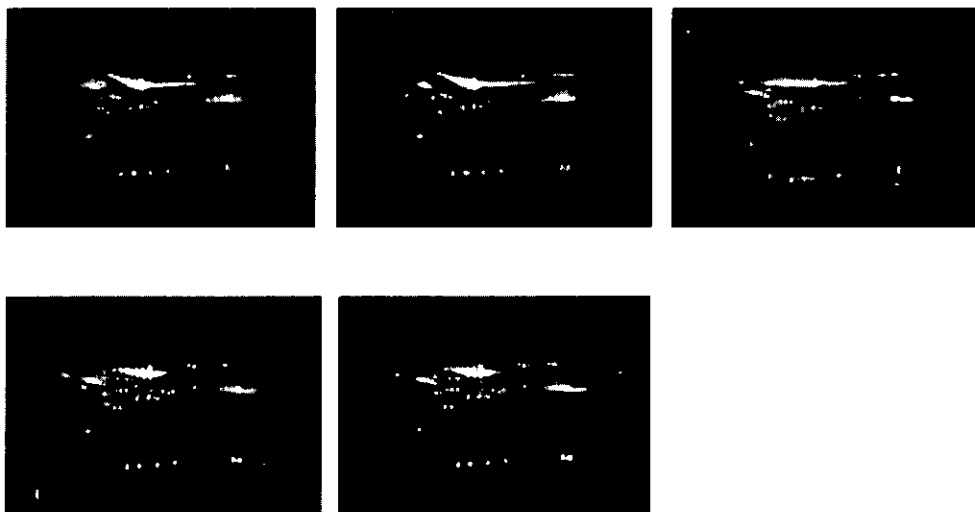


図1 健常規格化 BALF と 5 例の疾患 BALF の 2D-DIGE によるディファレンシャルディスプレイ解析

スポットと比較するとその形が平坦になっていたことから、他のアルブミンと等電点が異なっていることが考えられた。また、DIP 患者 A, B, D では $\alpha 1$ -アンチトリプシン、 $\alpha 1$ -アンチキモトリプシンが患者で強く発現していた。また、全般的に銀染色と比較して、酸性側のスポット検出が悪いように思われた。その理由としては、Cy 色素がリジン残基に結合して蛍光標識されるため、酸性側とアルカリ側で蛍光強度が異なることが考えられた。

プールした健常非喫煙者 BALF と規格化した 5 例の DIP 患者 BALF の 2D-DIGE による比較

前項で健常非喫煙者と 5 例の個別の DIP 患者 BALF を泳動して比較したが、DIP 患者の間でもばらつきがあったことから、DIP も 5 例の BALF をまとめてプールすることで規格化をはかり、DIP 患者 BALF 総体としての健常非喫煙者 BALF との違いを明らかにすることを考えた。規格化した健常非喫煙者 BALF タンパク質と同様に 5 例の DIP 患者 BALF をタンパク質量として等量プールして規格化し、健常者規格化 BALF 50 μg を Cy3 で、DIP 患者規格化 BALF 50 μg を Cy5 色素によって標識し、2D-DIGE によるディファレンシャルディスプレイ解析を行った。

プールした健常非喫煙者 BALF、プール健常喫煙者 BALF とプール DIP 患者 BALF の 2D-DIGE による相互比較

DIP が喫煙者による疾患であることから、前述した健常非喫煙者 BALF と DIP BALF の間のタンパク質組成の相違は、疾病によるものではなく、喫煙によるものである可能性がある。このことを検証するため、健常非喫煙者、健常喫煙者、DIP 患者相互の 2D-DIGE 法によるディファレンシャルディスプレイ解析を行った。

DIP 患者は喫煙者であるため、5.3.2 の 2D-DIGE の結果を考える上で、喫煙による変化と病気による変化が区別できないという問題を解決するため、健常喫煙者と健常非喫煙者の BALF 2次元電気泳動像をディファレンシャルディスプレイによって表示した結果、健常喫煙者は、炎症性タンパク質である $\alpha 1$ -アンチトリプシンと肺サーファクタントプロテイン A が健常非喫煙者と比較して、強く発現していた。また、DIP BALF と健常喫煙者 BALF を比較した場合でも、健常喫煙者において肺サーファクタントプロテイン A の増加が見られた。逆に、DIP 患者において $\alpha 1$ -アンチキモトリプシン、イムノグロブリン H 鎖、L 鎖が健常喫煙者よりも増加していた。

以上のことから、DIP 患者 BALF における肺サー

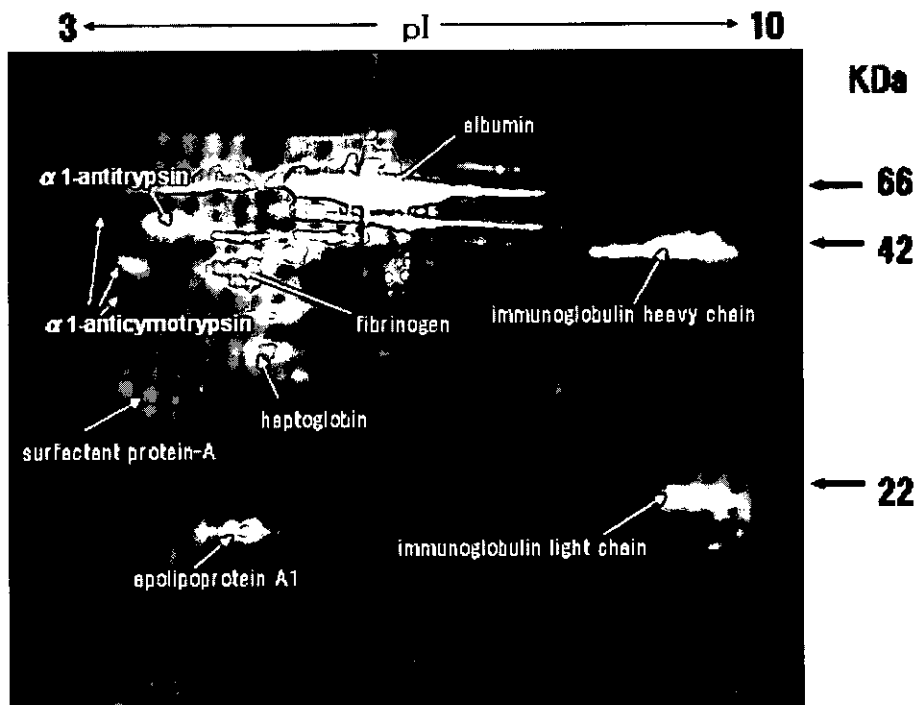


図 2 2D-DIGE による規格化した健常者と DIP 患者 BALF のディファレンシャルディスプレイ解析結果

ファクタントプロテイン-Aの減少, α 1-アンチトリプシン, α 1-アンチキモトリプシンの増加, イムノグロブリン H 鎖, L 鎖の増加は疾病による変化であると考えられた。以下に結果をまとめた。

DIP BALF と 健常喫煙者 BALF を比較して DIP BALF で増加していたタンパク質

健常喫煙者 BALF で増加していたタンパク質

α 1-antichymotrypsin

Pulmonary surfactant protein A

Immunoglobulin heavy chain γ

Immunoglobulin light chain κ , I

健常非喫煙者 BALF と 健常喫煙者 BALF を比較して

健常非喫煙者 BALF で増加していたタンパク質

健常喫煙者 BALF で増加していたタンパク質

α 1-antichymotrypsin

α 1-antitrypsin

Immunoglobulin heavy chain γ

Pulmonary surfactant protein A

Immunoglobulin light chain κ , I

アルブミン, およびグロブリンを除去したプール健常非喫煙者 BALF と プール DIP 患者 BALF の 2D-DIGE による相互比較

これまでの解析結果から, アルブミンは健常喫煙者, 健常非喫煙者, DIP 患者のそれぞれの BALF においても主要な成分として存在し, 大きな違いのないことがわかった。また, イムノグロブリンに関しては, DIP 患者 BALF において増加している様子が観察された。これらの泳動像を見ても明らかのように, BALF の 2次元電気泳動像で pI 5.5-6.0, M.W. 66 kDa 付近にアルブミンが多量に含まれており, また, イムノグロブリン H 鎖と L 鎖がそれに次いで多い。2次元電気泳動による BALF タンパク質分離には, これら2つのタンパク質によって, 等電点, 分子量が近いその他のタンパク質の検出が困難となっている問題がある。特に pI 6-7 付近のタンパク質スポットはアルブミンおよびグロブリンのフラグメントの夾雑によって解析が困難であった。この問題を解決するため, アルブミンとイムノグロブリンの除去を行い, 微量に含まれているがまだ検出できていないタンパク質の検出を目的としたディファレンシャル2次元電気泳動展開を

行った。除去にはヒトアルブミンおよびイムノグロブリンのモノクローナル抗体結合カラム (アマシャムバイオサイエンス) を用いた。この処理後に泳動して切り出した2次元スポットを番号化し, 前述したように LC-MS による同定作業を行った。

材料と方法

前項で処理した健常非喫煙者および DIP 患者 BALF 試料を, アルブミン IgG 除去キット (アマシャムバイオサイエンス) のヒトモノクローナルカラムに通し, アルブミンと IgG を除去したのち, -20°C 冷アセトンで沈澱させ, アルブミン, IgG 除去試料とした。この試料を $50\ \mu\text{g}$ Cy 色素でラベルして, 2D-DIGE 法による泳動を行った。

アルブミン, グロブリン除去した試料による 2D-DIGE 結果

図に示したように, アルブミンとイムノグロブリン H 鎖, L 鎖に特徴的なスポットがほぼ除かれ, これまで検出できなかった微量なタンパク質スポットを新たに検出することが可能となり, これによって同定できるタンパク質が増えるものと期待された。

タンパク質同定のためのスポットの切り出しとゲル消化, マススペクトルによる同定

これまではインターネット上に公開されているデータベースによって視認できる同定を試みていたが, LC-MS を使用できる環境が整ったので, LC-MS によるペプチドシーケンス解読とデータベースサーチによるスポットの同定を試みた。

材料と方法

スポット同定のために 2D-DIGE ゲルと同じ条件でスポットピックゲルを泳動した。アルブミンと IgG を除去した健常 BALF および DIP 患者 BALF を等量混合したのち, 1, 2次元電気泳動した。泳動後 SYPRO Ruby stain (BioRad) によってゲルを染色したのち, MasterImager (アマシャムバイオサイエンス) によって泳動画像を得たのち, 画像解析ソフトウェア BVA, DIA (アマシャムバイオサイエンス) によって解析を行い, 同定対象とするスポットを選択した。対

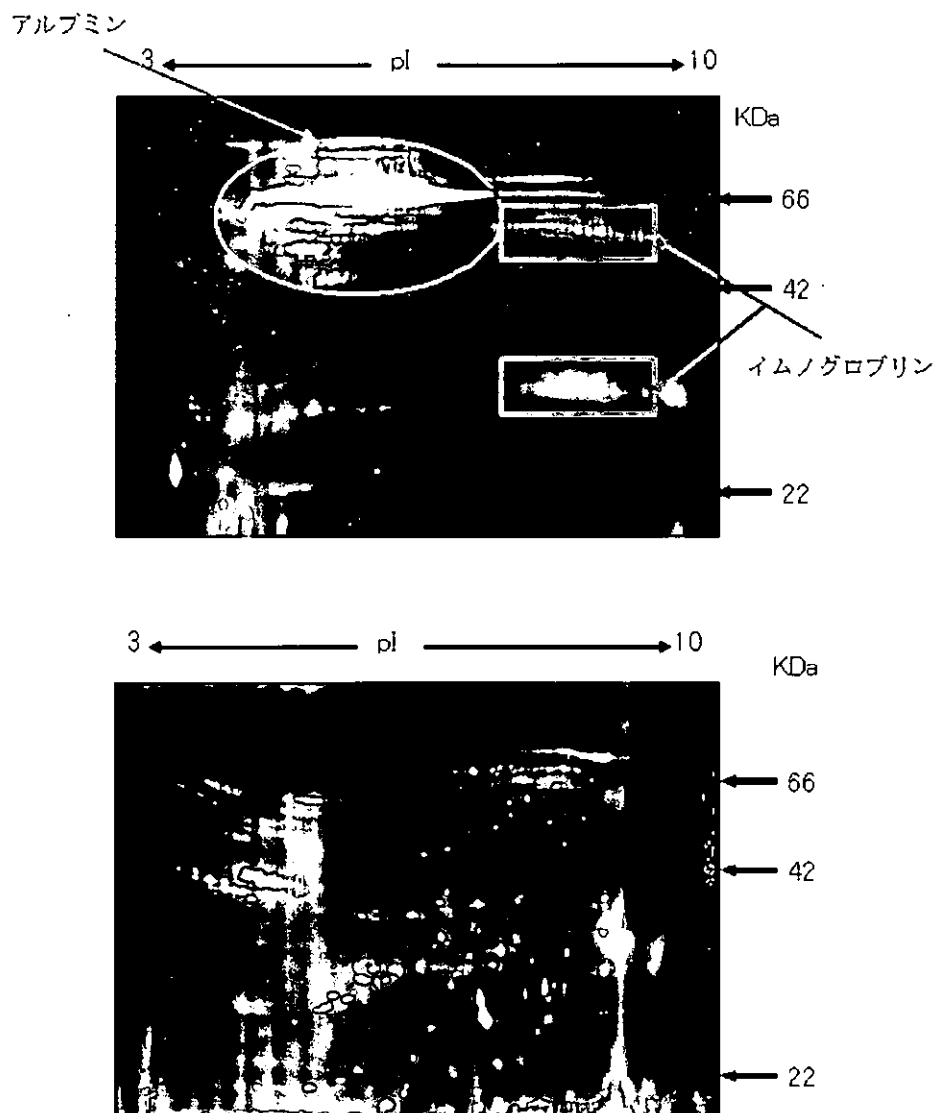


図3 アルブミンとIgGを除去する前と後の2次元電気泳動像の比較
 上: アルブミン, IgG 除去前の2D-DIGE泳動像
 下: アルブミン, IgG 除去後の2D-DIGE泳動像

象となったスポットはゲルピッカー (アマシャムバイオサイエンス) による自動切り出しによって直径2mmのゲルディスクとして96ウェルのV字型プレートに1個ずつ回収した。得られたゲルは脱色, 脱水, トリプシンによるタンパク質消化を行ったのち, LC-MSによるマススペクトルの測定を行った。使用したLCはMAGIC2002 (AMR社) とMSはThermoFinnigan LCQ-DecaXpの組み合わせであった。得られた測定結果は, Mascot (MatrixScience) によるデータベースサーチを行い, それぞれのスポットのタンパク質をスコアリングして予測した (図4)。

1. LDL related protein; alpha-2-macrog-

lobulin.

2. fibrillin3 or ATP-binding cassetteA5.

3. hemopexin precursor.

4. Human serum albumin in A complex with myristic acid and tri-iodobenzoic acid

5. serum albumin.

6. serum albumin.

7. transferrin [Homo sapiens]

8. transferrin.

9. transferrin.

10. transferrin.

11. PRO1400 [Homo sapiens] (transferrin)

12. transferrin.

- | | |
|---|--|
| 13. transferrin. | 42. Haptoglobin-1 precursor |
| 14. transferrin. | 43. PRO1400 [Homo sapiens] (transferrin [Homo sapiens]) |
| 15. transferrin. | 44. complement component 3 precursor |
| 16. transferrin. | 45. cyclin-dependent kinase-like 5. serine/threonine kinase 9 |
| 17. laminin alpha 3 subunit isoform 1 | 46. Chain A. Annexin V |
| 18. Chain A. Crystallographic Analysis of The Human Vitamin D Binding Protein | 47. Vitamin-D binding protein precursor |
| 19. Vitamin D-binding protein precursor (DBP) (Group-specific component) (GC-globulin) (VDB) | 48. myosin IXA or Fibrillin 1 |
| 20. N.D | 49. transferrin |
| 21. Chain A. Human Serum Transferrin. Recombinant N-Terminal Lobe. Apo Form | 50. transferrin |
| 22. ① unnamed protein product [Homo sapiens] | 51. transferrin |
| ② microtubule-associated protein 1B isoform 1 | 52. immunoglobulin lambda light chain VLJ |
| ③ VAV-3 protein beta isoform [Homo sapiens] | 53. N.D. |
| 23. serum albumin | 54. polymerase (DNA directed) |
| 24. serum albumin | 55. macrophin 1 isoform 2 |
| 25. transferrin | 56. LDL related protein; alpha-2-macroglobulin |
| 26. N.D | 57. Vitamin-D binding protein precursor |
| 27. transferrin | 58. Human serum albumin in A complex with myristic acid and tri-iodobenzoic acid |
| 28. Human serum albumin in A complex with myristic acid and tri-iodobenzoic acid | 59. Human serum albumin in A complex with myristic acid and tri-iodobenzoic acid |
| 29. LDL related protein; alpha-macroglobulin | 60. Human serum albumin in A complex with myristic acid and tri-iodobenzoic acid |
| 30. transferrin | 61. Tenascin N precursor |
| 31. transferrin [Homo sapiens] | 62. serum albumin precursor |
| 32. meraloproteinase 12 | 63. haptoglobin alpha 1s |
| 33. serum albumin | 64. haptoglobin |
| 34. transferrin | 65. complement component 3 precursor |
| 35. transferrin | 66. haptoglobin-1 precursor |
| 36. transferrin | 67. haptoglobin-1 precursor |
| 37. complement component 3 precursor; acylation-stimulating protein cleavage product [Homo sapiens] | |
| 38. complement component 3 precursor; acylation-stimulating protein cleavage product [Homo sapiens] | |
| 39. Haptoglobin-1 precursor | |
| 40. Haptoglobin-1 precursor | |
| 41. Haptoglobin-1 precursor | |

このピックゲルの解析結果をアルブミン、グロブリン除去後の中性付近のタンパク質スポットの 2D-DIGE による解析結果と重ね合わせて同定した結果を図 3 に示した。緑色は健常者優位のスポット、赤色は DIP 患者に優位のスポット、黄色は両者共通に現れたスポットである。下表にこれらのスポットのタンパク質同定結果をまとめ、そのプロフィールを示した。

- 健常者 BALF で優位であったタンパク質スポット
3. hemopexin precursor

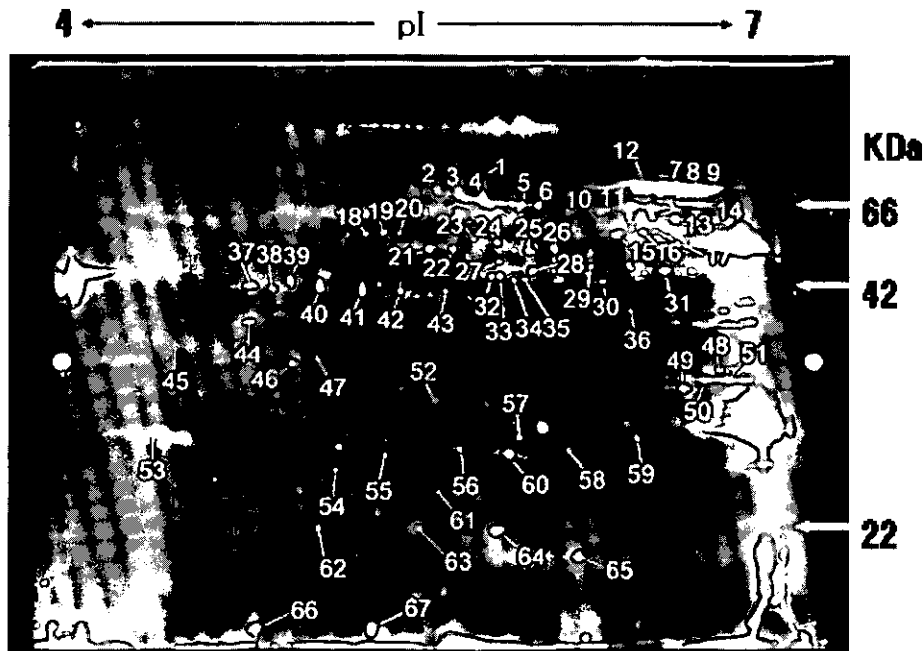


図4 タンパク質同定のためのピックゲル画像

- 8. transferrin
- 10. transferrin
- 15. transferrin
- 25. transferrin
- 34. transferrin
- 63. haptoglobin alpha 1s
- 64. haptoglobin
- 65. complement component 3 precursor

DIP 患者で優位であったタンパク質スポット

- 28. serum albumin
- 29. LDL related protein ; alpha-2-macroglobulin
- 32. metaloproteinase-12
- 52. immunoglobulin lambda light chain VLJ
- 56. LDL related protein ; alpha-2-macroglobulin
- 58. Human serum in A complex with myristic acid and tri-iodobenzoic acid
- 59. Human serum in A complex with myristic acid and tri-iodobenzoic acid

両者に共通のタンパク質スポット

- 57. Vitamin-D binding protein precursor
- 60. Human serum in A complex with myristic acid and tri-iodobenzoic acid

健常者 BALF で増加していたタンパク質のうち、トランスフェリンの鉄の貯蔵、運搬に關与する分子量 80,000 の鉄結合性糖タンパク質である。ヘモペキシンはヘム結合タンパク質であり、体内でヘムの運搬を担う。また、後述するマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の構成成分である。MMP の基本的な一次構造は、シグナルペプチド、プロドメイン、触媒ドメイン、ヒンジ、ヘモペキシンドメインからなる。ハプトグロビンは肝臓から血液中に分泌される糖タンパク質で、遊離状態のヘモグロビンと特異的に結合する。溶血で減少し、炎症性疾患で血中に増加する。complement component 3 precursor (C3) は、分子量 19 万で 2 本のポリペプチド鎖からなる糖タンパク質である。血中補体成分の中では最も高濃度に存在する。主として肝臓で産生されるほか、単球やマクロファージにおいても産生される。C3 は膠原病や自己免疫疾患、腎疾患など補体系、免疫系がその病態に關与すると考えられる疾患の診断や治療効果、経過の觀察などを目的として測定する。また、疾患に優位であったタンパク質のうち LDL α 2-マクログロブリンは血中に最も多量に存在しているプロテアーゼインヒビターである。特に注目すべきは、マトリックスメタロプロテアーゼ 12 (MMP-12) が検出されたことである。MMP-12 の過剰産生は、肺気腫や肺線維症において報告されている。肺胞構造の破壊や、線維化過程での MMP-12 は、

主としてマクロファージから分泌され、肺と破壊と、修復への関与が示唆されている。MMP-12 は 1981 年に炎症性マクロファージにより分泌されるエラスチン分解性金属プロテアーゼとして精製された (Banda ら, 1981)。MMP-12 は活性中心に亜鉛イオンを含み、マクロファージメタロプロテアーゼとして知られており、53 kDa のプロエンザイムが分解を受けて約 22 kDa の活性型酵素となる。この酵素は、肺の組織構築、および生理機能に重要な役割を演じているエラスチンを特異的に分解する。MMP-12 は I 型コラーゲンに対しては全く活性がないが、ファイブロネクチン、ラミニン、ビトロネクチン、IV 型コラーゲン、ヘパリン硫酸などに対する分解活性を示す (Chandler ら, 1996)。このことから、MMP-12 は炎症時に基底膜を破壊し、炎症巣へのマクロファージや白血球の遊走を容易にすると考えられている。イムノグロブリン L 鎖には κ (カッパ) 鎖と λ (ラムダ) 鎖の 2 種類があり、それぞれの H 鎖とはいずれも結合するが、イムノグロブリン 1 分子を構成する 2 本の L 鎖は、 κ 、 λ のいずれか一方のみに決まっている。アルブミンは肝臓で合成され、分子量 66,000、586 個のアミノ酸からなるペプチド鎖で、糖鎖をもたない均一な単純タンパク質である。生体でのアルブミンは、血漿膠質浸透圧力の保持や、各種物質の運搬に関与している。アルブミンと結合する主な物質は、脂肪酸、二価遷移金属イオンである、銅、カルシウム、マンガン、亜鉛、水銀、鉛などの金属やホルモン、アミノ酸である。今回同定されたアルブミンのうち、58, 59 のミリスチン酸結合ヒト血清アルブミンは、脂肪酸であるミリスチン酸と結合するタイプのアルブミンであり、前処理に用いたアフィニティカラムによって除去されなかったアルブミン誘導体である。共通に検出されたタンパク質であるビタミン D 結合タンパク質は、ビタミン D と特異的に結合して体内でビタミン D を輸送する役割を持ち、アルブミンと α フェトプロテインに相同性が高い。このタンパク質は肺胞内での免疫に関係しているという報告がある (Sandford ら, 2001)。

まとめ

アルブミンを除去した 2D-DIGE 法による解析によって、健常者と患者の相違解析の精度が向上し、違いのあるスポット同定が可能となり、67 のスポットを同定した。その中で、DIP 患者 BALF で増加している

タンパク質の中で代表的なものは、 α 1-アンチトリプシン、 α 1-アンチキモトリプシンなどの炎症性タンパク質であり、逆に DIP 患者 BALF で減少しているタンパク質には、サーファクタントプロテイン A、D があった。これらが直接病因病態に関連しているかどうかはこの解析結果のみでは断定することはできないが、このような違いが BALF を 2 次元電気泳動することにより検出できたことで、呼吸器疾患領域に新たな解析方法を提示できたと考える。この方法の信頼性を高めるためには、従来の生化学的な解析法と結果が矛盾しないことが必要であるので、今後は BALF の生化学的解析を行い、今回の結果と相互比較して信頼性の検証を試みることを考えられた。

参考文献

- Alba F.J. and Daban J.R. (1998) Rapid fluorescent monitoring of total protein patterns on sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels and western bolts before immunodetection and sequencing. *Electrophoresis*, 19: 2407-2411.
- Banda M.J. and Werb Z. (1981) Mouse macrophage elastase. Purification and characterization as a metalloproteinase. *Biochem. J.*, 193: 589-605.
- Bartlett G.R. (1959) Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.*, 234: 466-468.
- Bernhard W., Gebert A., Vieten G., Rau G.A., Hohlfeld J.M., Postle A.D. and Freihorst J. (2001) Pulmonary surfactant in birds: coping with surface tension in a tubular lung. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 129: R327-R337.
- Bjellqvist B., Ek K., Righetti P.G., Gianazza E., Gorg A., Westermeier R. and Postel W. (1982) Isoelectric focusing in immobilized pH gradients: principle, methodology and some applications. *J. Biochem. Biophys. Meth.*, 6: 317-339.
- Blanchard J. (1981) Evaluation of the relative efficacy of various techniques for deproteinizing plasma samples prior to high-performance liquid chromatographic analysis. *J. Chromatogr.*, 226: 455-460.
- Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.

Anal. Biochem., 72: 248-254.
Bridges J.P., Davis H.W., Damodarasamy M., Kuroki
Y., Howles G., Hui D.Y. and McCormack F.X.
(2000) Pulmonary surfactant proteins A and D are

potent endogenous inhibitors of lipid peroxidation
and oxidative cellular injury. J. Biol. Chem., 278:
38848-38855.

画像の評価に関する研究

上甲 剛* 澄川 裕充 山本 修司

1. CT 検診を用いた肺気腫・間質性肺炎の疫学調査

近年臨床の場に導入された multi-detector row CT (マルチスライス CT) では 2 mm 以下の thin-slice で 1 回息止め下に胸部 CT の撮影が可能で、低線量でも多列検出器による補間効果のため、微細な陰影の検出が可能である。これを用いた肺癌検診のデータより肺気腫、慢性間質性肺炎（とくに IPF/UIP）の早期病変の検出及び有病率の同定を目的とした検討を行うこととなった。

2. CT を用いた間質性肺炎の画像解析に関する研究

通常型間質性肺炎(UIP)と非特異型間質性肺炎(NSIP)の CT 画像を volume histogram 法を用いて 3 種の特徴量 (Contrast, Variance, Entropy) を算出し、定量的評価を行った。また、撮像条件 (スライス厚と再構成間隔) の違いによっても比較した。UIP, NSIP の特徴量に傾向が見られたが、その解析には薄いスライス厚と再構成間隔を用いる必要があった。

Evaluation of Image Analysis for Idiopathic Interstitial Pneumonia

Takeshi Johkoh, Hiromitsu Sumikawa, Shuji Yamamoto

Department of Medical Physics and Radiology, Osaka University Graduate School of Medicine

1. Cohort study CT for idiopathic interstitial pneumonia and emphysema by CT lung cancer screening

By using multidetector-row CT (MDCT), whole lung thin-section CT with less than 2-mm slice thickness is obtained within one breath-hold. Even if low dose scan is used, faint abnormalities can be depicted due to compensation by multiple detectors. The objective of this study is two-fold: The first one is to survey the frequency of both idiopathic interstitial pneumonias and the second one is to detect early findings of idiopathic interstitial pneumonia

2. Quantitative analysis for CT findings between usual interstitial pneumonia and non-specific interstitial pneumonia using the volume histogram method.

Three special values (Contrast, Variance and Entropy) were calculated for usual interstitial pneumonia (UIP) and non-specific interstitial pneumonia (NSIP). The values were analyzed between thinner and thicker slice scan besides between UIP and NSIP. This method is promising for the automatic diagnosis between UIP and NSIP.

1. CT 検診を用いた肺気腫・間質性肺炎の疫学調査

目的

本研究は呼吸不全班，呼吸器病学会との共同研究である。肺気腫，慢性間質性肺炎（とくに IPF/UIP）の早期病変の検出及び有病率の同定を目的とする。CT 検診の画像により調査研究を行うが，大多数の施設で使用されている single detector の helical CT による低線量 CT 検診はスライス厚が 7-10 mm 厚とぶ厚く，また大きな table pitch を用い，なおかつ低線量のため微細な間質性病変及び肺気腫の検出は困難である。近年臨床の場に導入された multi-detector row CT（マルチスライス CT）では 2 mm 以下の thin-slice で 1 回息止め

下に胸部 CT の撮影が可能で，低線量でも多列検出器による補間効果のため，微細な陰影の検出が可能である。原因不明の間質性肺炎と COPD の有病率は完全には明らかとなっているとは言いがたい。治療薬の開発に向けての市場規模の把握や公的医療補助の規模の決定にあたって有病率を明らかにすることは重要であり，また微細な陰影の検出が可能である MDCT を用いれば未だ未知の原因不明の間質性肺炎の早期像の同定も可能であろう。そこで本研究の目的は，CT 検診の data から原因不明の間質性肺炎と COPD の有病率を明らかにすることと，原因不明の間質性肺炎の早期病変の候補を抽出することである。

対象と方法

平成 15 年 1 月から 12 月までに長野県小諸市の小諸厚生病院の肺癌 CT 検診を受診とした約 1100 例を対象とする。40 mA, 140 kVp の低線量で撮影された全肺 2 mm 厚の連続 CT data を NPO 法人胸部放射線研究機構を通じて派遣された胸部放射線診断医が慢性間質性肺炎の合併の有無，COPD の有無を検討する。慢性間質性肺炎合併例ではその病理組織診断を推定し，すりガラス状陰影，均等影，線状・網状影，蜂巢肺，牽引性気管支拡張の有無と病変の広がりを検討する。肺気腫は Goddard 分類に準じて分類し，気道病変はその及ぶ気管支次元で分類した。さらに bulla が主体のものおよび，paraseptal emphysema 例は特記する。得られた data を統計解析し，有病率を調べ，さらに性

別，年齢，喫煙歴との関係を解析することとする。
研究進行状況とその経過

平成 16 年 2 月 20 日に読影を開始し，3 月末までの data を本年の呼吸器病学会に発表する予定である。

今後の展開

本年中に解析を終了し，慢性間質性肺炎および COPD の有病率を報告する。さらに慢性間質性肺炎の早期病変候補を抽出し，prospective な検討を行うこととする。

2. CT を用いた間質性肺炎の画像解析に関する研究

研究目的

特発性間質性肺炎には多数種類があるが，その中でも通常型間質性肺炎（UIP）と非特異型間質性肺炎（NSIP）との鑑別は画像上重要である¹⁾。これらの CT 画像をコンピューターを用いて解析し，定量的に評価することができれば診断上非常に有用と言える。今回の研究目的はこれらの CT 画像を volume histogram 法を用いて解析を行い，UIP, NSIP において 3 種の特徴量（Contrast, Variance, Entropy）の算出と比較を行い，また，CT 撮像条件の違い（スライス厚，再構成間隔）による特徴量の変化の比較を行う事である。

研究方法

対象は大阪大学医学部付属病院において 2000 年 1 月～2003 年 4 月の間に CT を行い，画像上 UIP もしくは NSIP が疑われた 79 症例（UIP 32 症例，NSIP 47 症例）である。

CT の撮像は Light Speed Ultra, Light Speed (GE Medical Systems, Milwaukee, WI), Aquillion (Toshiba, Tokyo, Japan) の 3 台の multidetector-row CT を用いて，120 kVp, 2000 mA, FOV 34.5 cm, high spatial frequency algorithm にて 1 回の息止め下で全肺ヘリカル CT を行っている。得られた scan data より全肺 thin-section の再構成を行い volume data を作成した。撮像スライス厚と再構成間隔は 5 種類あり，それぞれ (1) 1.25 mm, 0.63 mm, (2) 2 mm, 1 mm, (3) 2.5 mm, 1.25 mm, (4) 2 mm, 2 mm, (5) 2.5 mm, 2.5 mm である。このうち薄いスライス厚と再構成間隔である (1), (2) を group A, 厚いスライス厚と再構成間隔である (3), (4), (5) を group B とした。group A には UIP 20 症例，NSIP 26 症例，group B にはそれぞれ 12 症例，21 症例含まれる。

解析は Virtual Place (医用画像研究所株式会社) を用いて行った。volume data より CT 値-400 を閾値として肺と隣接組織を分離し、肺の volume histogram を作成、特徴量として Contrast (CNT), Variance (VAR), Entropy (EPY) を求めた。各々の特徴量は以下の式で表される²⁾。

$$CNT = \sum_{l=lmin}^{lmax} l^2 p(l)$$

$$VAR = \sum_{l=lmin}^{lmax} (l - MEN)^2 p(l) \quad MEN = \sum_{l=lmin}^{lmax} l p(l)$$

$$EPY = - \sum_{l=lmin}^{lmax} p(l) \log p(l)$$

ここで l は CT 値、 $p(l)$ は頻度の総数で各 CT 値の頻度を割った値とする。

CNT は全体的な濃淡の比率を表し、CT 値の偏りを表す指標として用いることができる。ヒストグラム分布が CT 値 0 より離れて偏っていけばより大きな値となる。VAR は統計学的には分散にあたり、CT 値の分布の度合いを表す指標といえる。つまり、平均値から離れた CT 値の画素が多く存在すれば大きな値を持つ。また、EPY とは、不確定性、乱雑さ、無秩序の度合いであり、CT 値のばらつきを表す指標として用いることができる。そのため、多くの CT 値を持つ画素が存在していると大きな値となる²⁾。

算出した 3 種の特徴量をそれぞれの group ごとに UIP、NSIP 間での比較と group 間での比較を行い、t 検定を用いて評価した。

研究結果

各々の結果を Fig. 1~4 に示す。薄いスライス厚と再構成間隔を用いた group A では VAR で UIP が有意に高かった ($p < 0.05$)。EPY では UIP の方が高かったが、有意差は見られなかった。CNT は両者で差が見られなかった。group B では 3 種とも UIP、NSIP 間で差が見られなかった。

group 間で比較すると UIP は VAR、EPY で group A の方が有意に高かった ($p < 0.05$)。一方 NSIP でも同様に VAR、EPY で group A の方が高かったが有意な差ではなかった。

考察・結論

肺の CT 所見は多数存在するが、CT 値での histogram 分布で考えると、最も低い CT 値として嚢胞、蜂窩肺があり、正常肺、すりガラス状陰影、均等影という順番で CT 値は高くなっていく。各々の CT 所見が

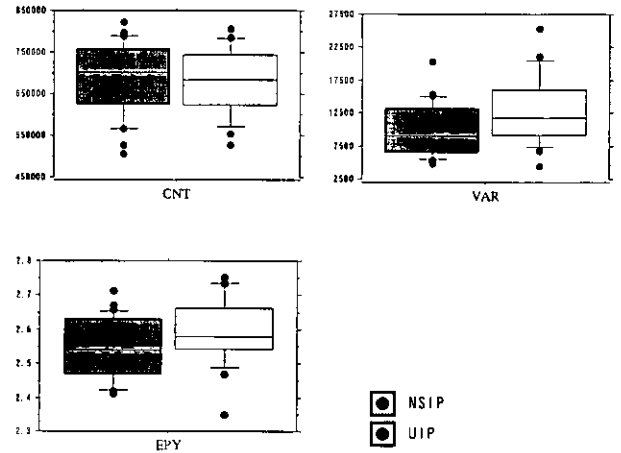


Figure 1 group A における NSIP、UIP 間の特徴量の比較

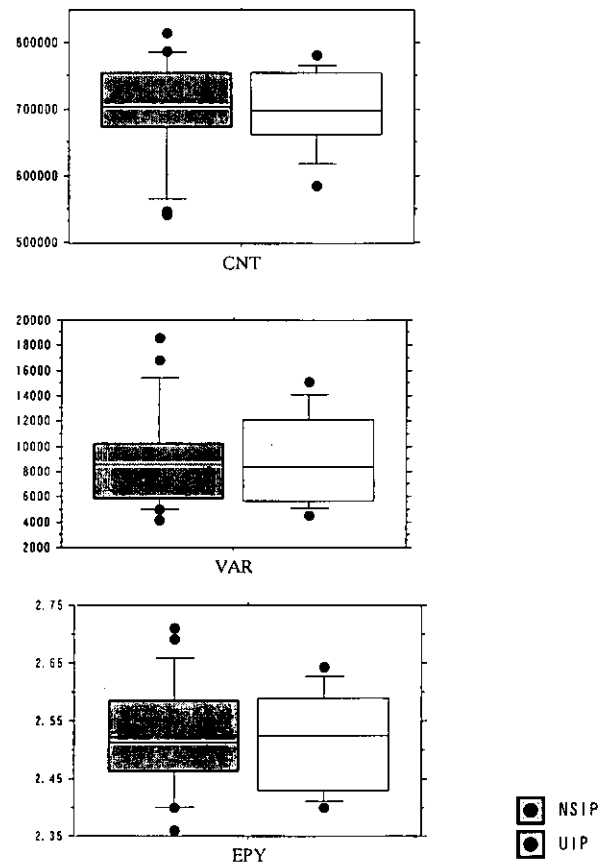


Figure 2 group B における NSIP、UIP 間の特徴量の比較

3 種の特徴量にどのように影響しているかを考えると、CNT は分布が CT 値より離れて偏っていけば上昇、すなわち肺野の濃度が上昇して均等影が増えると CNT は低下することになる。VAR は平均値から離れた CT 値の画素が多ければ上昇するので、嚢胞や均等影が多ければ上昇、一方すりガラス主体であれば低下することになる。EPY は多くの CT 値を持つ画素が存

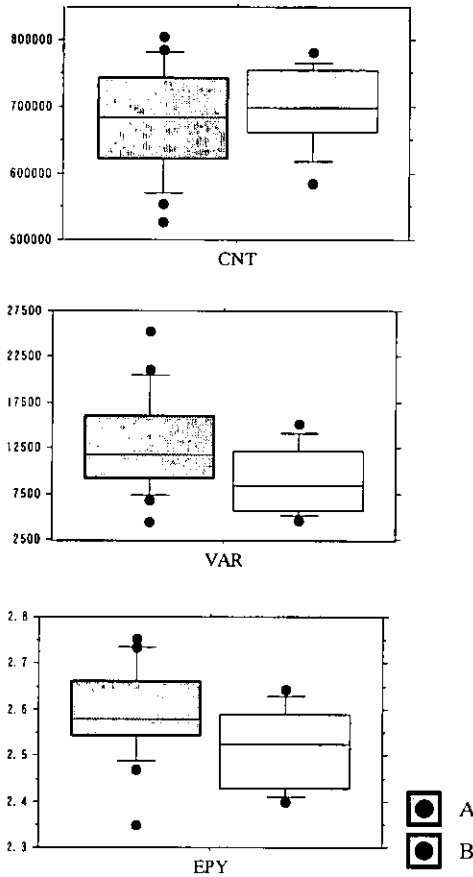


Figure 3 UIPにおける group A, B間の比較

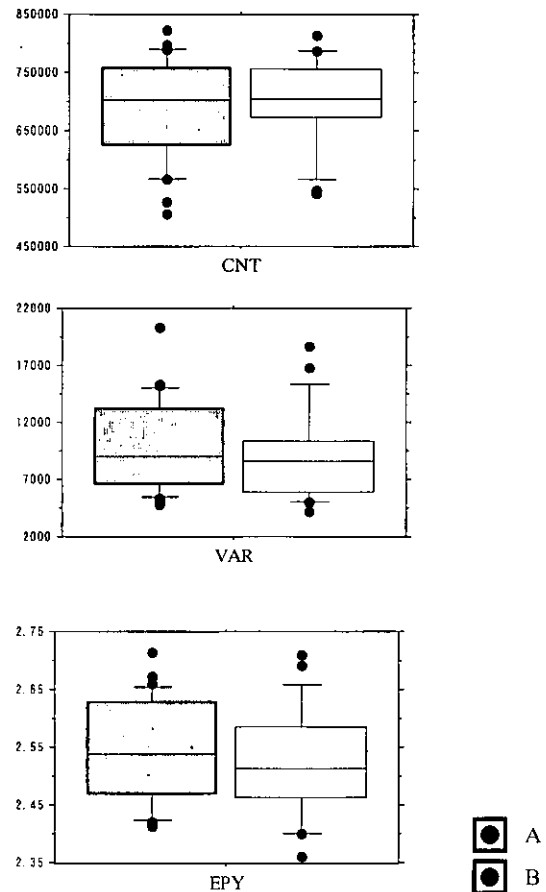


Figure 4 NSIPにおける group A, B間の比較

在していれば上昇するので、嚢胞からすりガラス・均等影まで多彩な所見を呈すれば上昇することになる。

group A に関して UIP, NSIP 間での比較では、両者とも同程度肺野の濃度上昇があるため、CNT では差はでなかった。しかし、VAR では、UIP は蜂窩肺や均等影など histogram の両極に多く画素値が見られたのに対して、NSIP ではすりガラス影などの histogram の中央に画素値が多く存在したため UIP で有意に高くなったと考えられる³⁾。一方で EPY も所見が多彩な UIP の方が高かったが、NSIP でもある程度の所見の多彩さがあるので有意にはならなかったものと思われる。

group B に関して、厚いスライス厚と再構成間隔では partial volume による CT 値の平均化が起こったものと考えられる。そのため CT 値のばらつきは減少し、VAR, EPY 値の減少として表れたと思われる。こうした変化は所見が多彩な (CT 値のばらつきが大きい) UIP でより強く影響し、NSIP ではあまり影響を受けなかったと考えられる。

結論として、volume histogram 法を用いた肺の定量

解析により、UIP, NSIP 間での特徴量に傾向が見られ、自動診断の可能性が示唆された。しかしながら、こうした解析には薄いスライス厚と再構成間隔による volume data を用いる必要がある。

参考文献

- 1) American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. This joint statement of the American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS) was adopted by the ATS board of directors, June 2001 and by the ERS Executive Committee, June 2001. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165: 277-304.
- 2) 画像処理標準テキストブック編集委員会: イメージプロセッシング<画像処理標準テキストブック>。財団法人画像情報教育振興協会: 151-