

- 2) Wilsher ML, et al. Thorax 60: 967-970, 2005. 1999.
- 3) Moodley YP, et al. Eur Respir J 14: 822-827,
- 4) Ziora D, et al. Eur Respir J 24: 609-614, 2004.

D P B

D

P

B

# びまん性汎細気管支炎の疾患感受性遺伝子研究

土方美奈子<sup>1</sup> 松下 育美<sup>1</sup> 大橋 順<sup>2</sup> 徳永 勝士<sup>2</sup>  
本間 栄<sup>3</sup> 田口 善夫<sup>4\*\*</sup> 吾妻安良太<sup>5\*</sup>  
工藤 翔二<sup>5</sup> 慶長 直人<sup>1\*</sup>

びまん性汎細気管支炎 (DPB) の疾患感受性候補領域の中には、ムチン様遺伝子がクラスターで存在しており、これらの遺伝子のエクソン内の VNTR (variable number of tandem repeat) 多型を検討したが、日本人集団では HLA-B\*5401 との関連が非常に強く、これを超える強い関連を有する遺伝的多型は同定されなかった。韓国人集団では DPB は HLA-A11 と非常に強い関連を有することを、この候補領域の遺伝的多型が説明できるのかを今後さらに検討する必要がある。

## Candidate genes and genetic polymorphisms observed in the susceptibility region of diffuse panbronchiolitis

Minako Hijikata<sup>1</sup>, Ikumi Matsushita<sup>1</sup>, Jun Ohashi<sup>2</sup>, Katsushi Tokunaga<sup>2</sup>, Sakae Homma<sup>3</sup>,  
Yoshio Taguchi<sup>4\*\*</sup>, Arata Azuma<sup>5\*</sup>, Shoji Kudoh<sup>5</sup>, and Naoto Keicho<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Department of Respiratory Diseases, Research Institute, International Medical Center of Japan*

<sup>2</sup>*Department of Human Genetics, Graduate School of Medicine, University of Tokyo*

<sup>3</sup>*Department of Respiratory Diseases, Toho University School of Medicine*

<sup>4</sup>*Department of Respiratory Medicine, Tenri Hospital*

<sup>5</sup>*Fourth Department of Internal Medicine, Nippon Medical School*

Diffuse panbronchiolitis (DPB) is a complex genetic disease affecting East Asians and is strongly associated with the class I human leukocyte antigens (HLA)-B54 in Japan and HLA-A11 in Korea. We recently showed that an HLA-associated major susceptibility gene for DPB is probably located within the 200 kb in the class I region 300 kb telomeric of the HLA-B locus on the chromosome 6p21.3. We cloned two novel mucin-like genes G2 and G4 in the candidate region, which form a mucin gene cluster together with two reported genes, AY358415 and DPCR-1. We found an intronic single nucleotide polymorphism (SNP) in G4 gene which is associated with DPB. Though the disease association of the SNP was not so strong as that of HLA-B54 in Japanese, mucin-like gene G4 is one of the candidate genes of DPB susceptibility.

## はじめに

びまん性汎細気管支炎 (diffuse panbronchiolitis, 以下 DPB と略す) は, アジア人にみられる HLA class I 関連疾患である。日本人では HLA-B54 との関連が非常に強いことはいくつかの報告で確認されているのに対し<sup>1)2)</sup>, 韓国人では HLA-B54 との関連はなく, かわりに HLA-A11 との関連が強いとされた<sup>3)</sup>。このことから, HLA そのものが DPB に関連しているのではなく, HLA-B 遺伝子座と HLA-A 遺伝子座の間に DPB の疾患感受性遺伝子が存在するという仮説がたてられ, マイクロサテライトマーカーなどの遺伝マーカーを用いて候補領域が 200 kb までせめられた<sup>4)</sup>。この 200 kb の領域をさらに一塩基多型 (single nucleotide polymorphism; SNP) を用いて検討したところ, 候補領域は 80 kb までせめられたが, この 80 kb の領域は非常に連鎖不平衡の強い領域であるために, 複数の遺伝子多型が同程度に疾患に関連しており, 関連解析によるそれ以上の絞り込みは困難と思われた。一方で我々は候補領域内で新規遺伝子のクローニングを試み, 平成 15 年度研究報告書に記載したように 2 つのムチン様遺伝子 (G2, G4) をクローニングした。データベースに登録されている配列 AY358415 と, 既に報告された DPCR1 遺伝子<sup>5)</sup> をあわせると, 候補領域内は 4 つのムチン様遺伝子がクラスターとなっている。ムチンには繰り返し構造があり, そのユニット数が可変である VNTR (variable number of tandem repeat) 領域がある。今年度は, このムチン様遺伝子のエクソン内の VNTR を中心に解析を加え, DPB との関連を検討した。

## 対象と方法

DPB 患者 92 名と, 健常コントロール 98 名を対象として, 4 つのムチン様遺伝子の VNTR 領域を詳細に検

討した。VNTR 領域は, 繰り返し配列であるために PCR とシーケンスでの解析に困難を伴う場合が多い。VNTR 領域全体を含み両側には非 VNTR 配列が入るように PCR プライマーを設計し, TaKaRa LA Taq を使用して増幅, アガロースゲル電気泳動と EtBr 染色で増幅産物のサイズの多様性を確認した。また, 内部塩基配列の決定のためのプライマーは, 特異性ができるように VNTR 領域に対してホモロジー検索をかけながら設計した。

(倫理面への配慮)「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠した当センターの遺伝子解析に関する倫理委員会の承認を受けている。

## 結 果

## (1) G2 遺伝子の VNTR 多型

4 塩基の insertion/deletion 多型があり, 遺伝子配列から予測される蛋白は, insertion 型ではフレームシフトからストップコドンが生じて, deletion 型よりリピートが 7 つ短く終了することが予測された。

## (2) G4 遺伝子の VNTR 多型

VNTR を含むエクソン 2 領域が長い G4 遺伝子では, 多型による VNTR の長さの違いが著しく, 一番長いものと一番短いものの差は 1,890 塩基あった。一番短いものは, DPB 抵抗性として知られる HLA-B44 と連鎖不平衡状態にあった。

G2 遺伝子と同様に, 1 塩基の deletion でフレームシフトとストップコドンを生じる多型も存在した。

## (3) AY358415 の VNTR 多型

180 塩基の長さの違いがあり, リピート (15 アミノ酸) の数としては 4 リピートの違いがあった。

## (4) DPCR1 の VNTR 多型

予測された遺伝子の一部分が DPCR1 としてクローニングされ報告されているが, この DPCR1 の範囲では, VNTR 多型はなかった。

以上の 4 遺伝子の VNTR 多型と, 昨年までに既にスクリーニングされていた SNPs とを対象に関連解析をした結果, 4 つの遺伝子領域で一番関連が強かったのは, G4 遺伝子の 2 つの SNPs であり (G4 exon4 SNP, OR2.27, 95% CI 1.24-4.18, G4 intron 1 SNP, OR 2.77, 95% CI 1.23-6.22), VNTR 多型でそれら以上に関連が強いものは見出されなかった。1 さらに HLA-B54 (HLA-B\*5401) と比較すると, HLA-B54 の方が

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 大学院医学系研究科 人類遺伝学教室

3 東邦大学 呼吸器内科

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

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 分担研究者

\*\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

G4 遺伝子の SNPs より関連は強かった (HLA-B54, OR 4.64, 95%CI 2.18-9.88). 表 1 に, HLA-B54, 既報<sup>4)</sup>のマイクロサテライトマーカー, G2 遺伝子の 4 塩基の insertion/deletion 多型, G4 の 2 つの SNPs で得られた結果を示す.

## 考案・結論

200 kb の DPB 疾患感受性候補遺伝領域にはムチン様遺伝子が 4 つクラスターをつくっていることがわかった. ムチン遺伝子では VNTR 多型がある場合がよく知られており, 今年度は VNTR について詳細に検討した. しかし, ムチン様遺伝子の VNTR 多型と DPB の関連は特段に強いわけではなく, 既に解析されていた G4 遺伝子の SNPs を超える強い関連を有するものを新たに見出すことはできなかった. しかしながら, この G4 遺伝子の 2 つの SNPs とも, HLA-B54 抗原と DPB との強い関連には及ばなかった. もともと SNPs で絞り込んで来た 80kb の範囲は, 強い連鎖不平衡状態にあり, 関連解析でのそれ以上の絞り込みは困難と思われていたが, VNTR 多型を含めて解析しても, 同様の結果であった.

4 つの遺伝子のうち, G2 遺伝子と G4 遺伝子では, それぞれ 4 塩基, 1 塩基の insertion/deletion 多型があり, フレームシフトからストップコドンを生じ, 塩基

配列から予想される蛋白サイズが大きく異なることがわかった. 特に G4 の場合はストップコドンのためにトランスメンブレン部位がなくなってしまうために, 本来膜型と予想される蛋白の局在が大きく変わると思われる. しかし, この 1 塩基の deletion アリルは, DPB 群でやや多い傾向があるものの, 有意差はなかった. 一方で, G2 遺伝子の 4 塩基の insertion 多型は, 表 1 に示すように疾患群で有意に多い ( $P_c=0.044$ ) 結果が得られたが, 連鎖不平衡の強い 80 kb の領域で幅広く同等に見られる値を超えてはいない.

HLA-B54 を有するもので, 日本人で DPB の疾患感受性ハプロタイプとして推定されているのは, HLA-B54-A24 と HLA-B54-A11 の 2 つである<sup>4)</sup>. これら HLA-B54 を有する疾患感受性ハプロタイプと, G4 遺伝子の SNP との関係を見ると, イントロンの SNP は, 疾患感受性ハプロタイプにのみ乗っていると考えられる変異であるが, 一部この変異を有さない疾患感受性ハプロタイプがあるために, 関連解析では HLA-B\*5401 の方が強い結果となることがわかった.

今後, 韓国人検体で本変異と HLA-A11 との連鎖不平衡があるのか, 韓国における HLA-A11 と DPB の強い関連を説明できるのか, 検証を行うことが必要と考えられた. また, 今後はさらに G4 遺伝子の機能解析を行い, 疾患との関連を追求したい.

表 1 Disease-Associated Marker Alleles

Marker	No. of alleles	Allele name	No. (%) of		$\chi^2$	P	$P_c$
			Patients n=92	Controls n=98			
HLA-B	21	54	34 (37)	11 (11)	17.4	.000031	.00065
C_2_4_4	10	230	82 (89)	73 (74)	6.8	.0093	.093
G2 ins/del	2	ins	82 (89)	75 (77)	5.2	.022	.044
G4 exon4	2	T	67 (73)	53 (54)	7.2	.0074	.015
G4 intron1	2	T	22 (24)	10 (10)	6.4	.012	.024

## 参考文献

- 1) Sugiyama Y, Ohno S, Kano S, Maeda H, Kitamura S. Diffuse panbronchiolitis and rheumatoid arthritis: a possible correlation with HLA-B54. Intern Med. 1994 Oct; 33(10): 612-4.
- 2) 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. 1998 Sep; 158 (3): 846-50.
- 3) Park MH, Kim YW, Yoon HI, Yoo CG, Han SK, Shim YS, Kim WD. Association of HLA class I antigens with diffuse panbronchiolitis in Korean patients. Am J Respir Crit Care Med. 1999 Feb; 159(2): 526-9.
- 4) 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.* 2000 Feb; 66(2): 501-7.

5) Matsuzaka Y, Tounai K, Denda A, Tomizawa M,

Makino S, Okamoto K, Keicho N, Oka A, Kulski JK, Tamiya G, Inoko H. Identification of novel candidate genes in the diffuse panbronchiolitis critical region of the class I human MHC. *Immunogenetics.* 2002 Aug; 54(5): 301-9. Epub 2002 Jul 9.

# ヒト末梢気道上皮細胞のケモカイン発現における エリスロマイシンの効果

滝澤 始\* 高見 和孝 田中 満 出崎 真志 幸山 正  
高橋 宏行 加藤 順 菊地 和彦 長瀬 隆英

びまん性汎細気管支炎 (DPB) などにおけるエリスロマイシン (EM) の作用機構解明の一環として、前年度までにジーンチップを用いた包括的遺伝子発現解析を行い、いくつかの標的遺伝子を検索した。今回は、そのうちケモカイン、サイトカインに焦点を当て、1) 正常ヒト末梢気道上皮細胞における発現と EM による変動、及び 2) 気道疾患症例の EM 療法前後での発現レベルの変化を検討した。1) 前年度の検討により EM 処理で明らかに発現が低下した CCL5 (RANTES), CXCL6 (Granulocyte Chemotactic Protein-2), IL-17C の発現を RT-PCR で検討したところ、前 2 者が無刺激及び TNF $\alpha$  刺激下で検出され、EM 処理により低下した。CCL5 ではタンパクレベルでも確認された。2) 既報の方法 (AJRCCM 1997) により採取された EM 療法前後での DPB 3 例、気管支拡張症 3 例、副鼻腔気管支症候群 2 例、及び COPD (bronchitis type) 3 例の末梢気道上皮細胞において、CCL5, CXCL6 の発現レベルは低下する傾向が認められた。以上から、この 2 者はマクロライド療法の標的遺伝子に含まれることが示唆された。

## The effects of erythromycin on the cytokines and chemokines transcription in human peripheral bronchial epithelial cells : CCL5 and CXCL6 as the new therapeutic targets

Hajime Takizawa, Kazutaka Takami, Mitsuru Tanaka, Masashi Desaki, Tadashi Kohyama,  
Hiroyuki Takahashi, Jun Kato, Kazuhiko Kikuchi, and Takahide Nagase

*The Department of Respiratory Medicine, University of Tokyo, Graduate School of Medicine, Tokyo, Japan*

To investigate the molecular mechanisms of anti-inflammatory actions of macrolide antibiotics, we explored to utilize the array analysis of mRNA transcripts in normal human peripheral airway epithelial cells, and found that therapeutic dosage of erythromycin (EM,  $10^{-6}$  M) showed inhibitory effects on transcription of several genes. These genes included chemokines such as CCL5 (RANTES) and CXCL6 (granulocyte chemotactic protein-2), and IL-17C. We, therefore, studied the effects of EM on the transcription levels of these three cytokines/chemokines in vitro. EM showed a dose-dependent modulatory effects on mRNA levels of CCL5 and CXCL6. Protein levels of CCL5 also decreased by EM treatment. Furthermore, we found that transcription levels of CCL5 and CXCL6 in peripheral airway epithelium decreased by EM treatment in patients with chronic airway disorders.

These findings suggested that these two chemokines might be the therapeutic targets of macrolide therapy.

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<sup>1,2,3)</sup>。これらの多くに共通して重要な転写調節因子 (NF $\kappa$ B, AP-1) の活性化についてもゲルシフトアッセイにより検討し、薬剤と刺激の同時処置では明らかな抑制作用はないが<sup>4)</sup>、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は 24 時間の前処置により、明らかな NF $\kappa$ B, AP-1 の活性化抑制作用を見出した<sup>5)</sup>。さらに、前年度には、マクロライドの抗菌作用を有しない各種誘導体が転写調節因子 (NF $\kappa$ B, AP-1) の活性化を抑制しうること、I $\kappa$ B のリン酸化には直接作用しないこと、を示した<sup>6)</sup>。マクロライドの作用点のひとつに核内結合過程が存在することを示唆する結果も得られた。

しかし、マクロライド抗生物質には、きわめて多彩な作用があることも判明しており、従来候補分子を選んだ研究では把握できない網羅的な遺伝子発現解析の必要性が指摘されていた。びまん性汎細気管支炎の特効薬である 14 員環マクロライド系抗生物質の抗炎症作用を包括的に検討するために、3 年間に渡り詳細に検討した結果、ヒト正常末梢気管支上皮細胞の炎症性刺激 (TNF $\alpha$ ) 下で、エリスロマイシン (EM) 及びその抗菌作用のない類縁体 EM703 を前処置し、遺伝子発現への作用をジーンチップにより包括的に評価したところ、TNF $\alpha$  で 2 倍以上遺伝子発現が上昇した 420 遺伝子のうち、EM で 30% 以上抑制された遺伝子は 72 個で、そのうち EM703 でも同様に抑制されたものが 45 個 (62.5%) あった。さらに EM703 で 25% 以上抑制されたものは 55 個 (76.4%) にのぼった。既知のもので気道炎症に関連性が推測されるものには、CCL5 (RANTES) や CXCL6 (granulocyte chemotactic protein-2) などのケモカイン、IFNAR2 (interferon 受容体), RAB, RAP1A などの Ras 関連分子、mitogen-activated protein kinase 3 などのシグナル

東京大学医学部呼吸器内科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 分担研究者

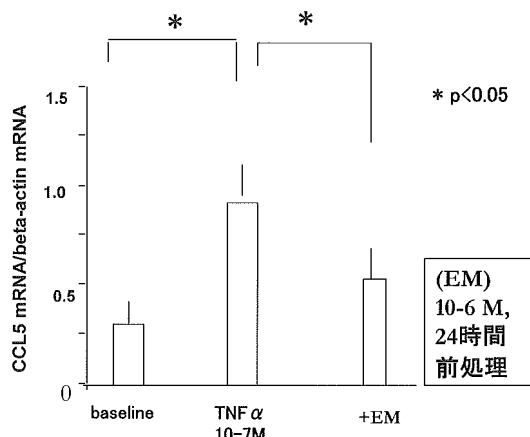


図 1A. ヒト正常末梢気道上皮細胞の CCL5 (RANTES) 発現とエリスロマイシンの効果

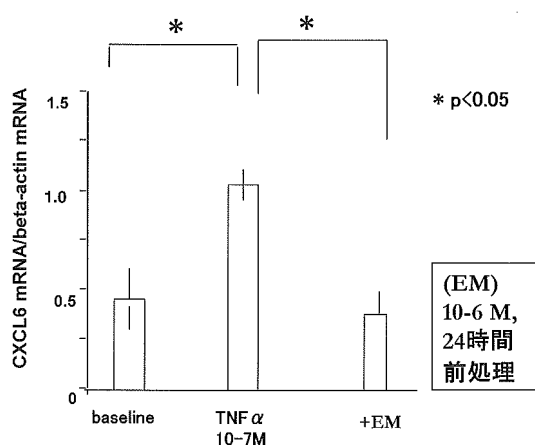


図 1B. ヒト正常末梢気道上皮細胞の CXCL6 (Granulocyte Chemotactic Protein-2) 発現とエリスロマイシンの効果

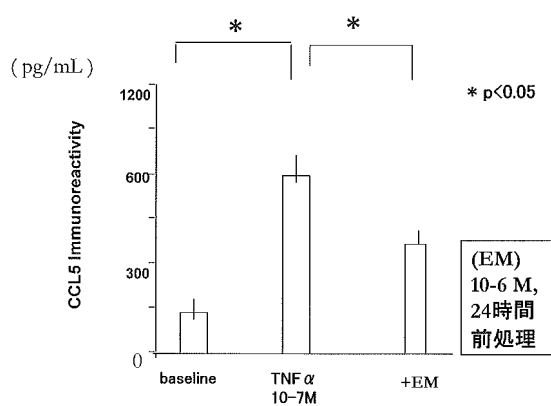


図 2. ヒト正常末梢気道上皮細胞からの CCL5 (RANTES) 産生とエリスロマイシンの効果

関連分子、TCF2 などの転写因子、tissue plasminogen activator や cell death activator CIDE-3 などがあった<sup>7,8,9)</sup>。

そこで今年度は、今回は、そのうちケモカイン、サイトカインに焦点を当て、1) 正常ヒト末梢気道上皮



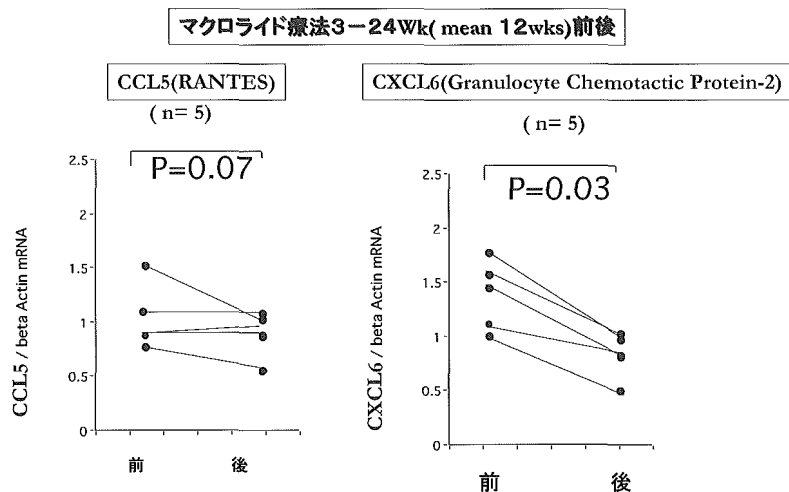


図3. 慢性気道炎症性疾患から得た末梢気道上皮細胞における EM 療法前後のケモカイン発現の変化

細胞における発現と EM による変動、及び 2) 気道疾患症例の EM 療法前後での発現レベルの変化を検討した。

#### 対象と方法

1) ヒト正常末梢気管支上皮 (SAEC, Clonetics-TM) を専用培養液により培養した。コントロール ( $\text{TNF}\alpha$  のみ), または Erythromycin (EM) 10-6M 24 時間前処理したのち, total RNA を抽出し RT-PCR により CCL5 (RANTES), CXCL6 (Granulocyte Chemotactic Protein-2), IL-17C の発現を検討した。

2) ELISA キットが入手できた CCL5 については EM 処理有り無しの培養上清中の濃度を測定した。

3) 既報の方法 (AJRCCM 1997)<sup>2)</sup> により施設承認されインフォームドコンセントを得た後採取された EM 療法前後での DPB 3 例, 気管支拡張症 3 例, 副鼻腔気管支症候群 2 例, 及び COPD (bronchitis type) 3 例の末梢気道上皮細胞において, CCL5, CXCL6 の発現レベルを調べた。

#### 結 果

1) CCL5 (RANTES), CXCL6 (Granulocyte Chemotactic Protein-2), IL-17C のうち, 前 2 者が無刺激及び  $\text{TNF}\alpha$  刺激下で検出され, EM 処理により低下した (図 1)。CCL5 ではタンパクレベルでも確認された (図 2)。

2) 治療前後の末梢気道上皮細胞において, CCL5,

CXCL6 の発現レベルはマクロライド療法により低下する傾向が認められた (図 3)。

#### 考 案

びまん性汎細気管支炎に対する特効的な効果を示す 14 員環マクロライド療法 (15 員環も有効) は, 最近では従来からの慢性副鼻腔炎, 副鼻腔気管支症候群, 気管支拡張症への応用に加え, 欧米ではう胞線維症の標準的治療選択になり, またわが国では COPD の急性増悪を減少するなど, さらに広範囲かつ重要な治療法として注目されつつある。一方で, 肺炎球菌をはじめとする呼吸器感染症起炎菌のマクロライド抗生物質への耐性も問題となっており, 本療法の標的分子の解明, さらに抗菌作用のない誘導体のスクリーニングに期待が集まっている。

これまでの研究により, 14 員環マクロライド抗生物質が, 炎症の局面で重要な各種の分子, すなわち IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-6 などの炎症性サイトカイン, ケモカイン, や接着分子の発現を遺伝子レベルで抑制ないし正常化することがあきらかにされてきた。さらに, これら炎症性サイトカインなどの発現に重要な転写調節因子 ( $\text{NF}\kappa\text{B}$ , AP-1) の活性化を抑制することが明らかになり, びまん性汎細気管支炎の気道炎症を改善する 1 機序として推定されるに到っている。この作用は, 気道上皮細胞のみならずマクロファージ, リンパ球, 線維芽細胞においても認められ<sup>10-12)</sup>, 生体に対するかなり普遍的な作用である可能性がある。一方, マクロライドには, 気道分泌抑制作用, 細胞のアポトー

シスへの作用, リンパ球の増殖抑制作用など, きわめて多面的な作用も示されており, 以上述べた機構だけで薬効を説明しきることはできない。

そこで近年応用が行われているマイクロアレー法により, マクロライド療法の標的遺伝子の抽出を試みた。初年度は, ヒト気管支上皮細胞株である BET-1A 細胞を用いて, さまざまな条件で検討を行い, Affymetrix 社のジーンチップを用いて, 約 2 万以上の遺伝子についてその発現への影響を検討できた。

2 年目では, 既報の報告同様炎症性サイトカインによる刺激をせず, EM を添加したためか, 細胞の生存率は比較的長時間保たれたが, 72 時間を越えると明らかに生存率や細胞数の減少を認めた。また, EM の処理により, 発現が増強する遺伝子が 11 個みられ, 一方減弱する遺伝子が 12 個存在した。どちらも BET-1A で行った昨年度の結果よりも大幅に少ない数であった。最終年度は, 炎症性刺激として  $TNF\alpha$  を用いて, マクロライドの前処理での検討を行った。さらに, 従来の検討で抗炎症作用が認められ, かつ抗菌作用やモチリン様作用をもたない誘導体 EM703 も同様に検討を行った。そして, 解析にあたっては, 昨年度までのものより多数の遺伝子について解析可能な Gene Chip Human Genome U133 Plus 2.0 Array を用いた。

その結果,  $TNF\alpha$  で 2 倍以上遺伝子発現が上昇した 420 遺伝子のうち, EM で 30% 以上抑制された遺伝子は 72 個で, そのうち EM703 でも同様に抑制されたものが 45 個 (62.5%) あった。さらに EM703 で 25% 以上抑制されたものは 55 個 (76.4%) にのぼった。EM と抗菌作用のない誘導体 EM703 に共通する遺伝子は特に有望と思われた。既知のもので気道炎症に関連性が推測されるものには, CCL5 (RANTES) や CXCL6 (granulocyte chemotactic protein-2) などのケモカイン, IFNAR2 (interferon 受容体), RAB, RAP1A などの Ras 関連分子, mitogen-activated protein kinase 3 などのシグナル関連分子, TCF2 などの転写因子, tissue plasminogen activator や cell death activator CIDE-3 などがあった。マクロライドの作用機構を解明する上で, 今回のアプローチは, 同時にほぼ全部の遺伝子発現への影響を網羅的に検出できる点が最大の利点と思われる。

今年度は, EM による発現の減弱がとくに顕著であったサイトカイン, ケモカインとして 3 者を選んで, その検証を行い, CCL5, CXCL6 がマクロライド

療法の標的遺伝子に含まれることが示唆された。

## 結 論

昨年度までのジーンチップによる包括的遺伝子発現の検討により見出されたいくつかの候補遺伝子について, とくにサイトカイン, ケモカインについて見当を行い, CCL5, CXCL6 がマクロライド療法の標的遺伝子に含まれることが示唆された。

## 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国立成育医療センター研究所 免疫アレルギー研究部 中島敏治先生, 月舘利治先生, 斉藤博久先生, 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, et al.: 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 et al.: 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, et al.: 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, 他: 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, et al. 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) Desaki M, Okazaki H, Sunazuka T, Omura S, Yamamoto K, Takizawa H: Molecular mechanisms of an anti-inflammatory action of erythromycin in human bronchial epithelial cells: a possible role in the signaling pathway that regulates nuclear factor-kappa B activation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; May; 48(5): 1581-5.
- 7) 滝澤 始, 中島敏治, 斎藤博久, 梅田 啓: エリスロマイシンの抗炎症作用: 包括的遺伝子発現解析から (第一報). 厚生労働科学研究 特定疾患対策研究事業 びまん性肺疾患研究班 平成 14 年度研究報告書, 203-206.
- 8) 月舘利治, 中島敏治, 斎藤博久, 滝澤 始: エリスロマイシンの抗炎症作用: 包括的遺伝子発現解析から (第二報). 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 びまん性肺疾患調査研究班 平成 15 年度研究報告書, 193-196.
- 9) 滝澤 始, 月舘利治, 中島敏治, 斎藤博久: エリ

スロマイシンの抗炎症作用: 包括的遺伝子発現解析から (第三報) 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 びまん性肺疾患調査研究班 平成 16 年度研究報告書, 243-248.

- 10) Miyahara T, Ushikai M, Matsune S, et al. Effects of clarithromycin on cultured human nasal epithelial cells and fibroblasts. *Laryngoscope* 110: 126-131, 2000.
- 11) Aoki Y, Kao PN: Erythromycin inhibits transcriptional activation of NF-kappa B, but not NFAT, through calcineurin-independent signaling in T cells. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 2678-2684, 1999.
- 12) Kikuchi T, Hagiwara K, Honda Y, et al. Clarithromycin suppresses lipopolysaccharide-induced interleukin-8 production by human monocytes through AP-1 and NF-kappa B transcription factors. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 49(5): 745-55, 2002.

# 狭窄性細気管支炎

# 「アマメシバ」関連閉塞性細気管支炎の全国調査結果と その臨床像および肺病理組織所見

大中原研一 東元 一晃 松山 航 納 光弘\*  
長谷川好規<sup>1</sup>\* 下方 薫<sup>1</sup> 小倉 高志<sup>2</sup>

平成 15 年我々は健康食品「アマメシバ」摂取後に発症した閉塞性細気管支炎の本邦初発例を報告した。その後行われた全国的な疫学調査の結果、アマメシバ摂取に関連して、臨床診断として 8 例の閉塞性細気管支炎と 1 例の気管支炎の症例が報告された。2 年経過した後、追跡調査を行ったところ、生体肺移植 1 例、呼吸不全による死亡 1 例、その他 3 例が低酸素血症のため在宅酸素療法を要していたという結果が得られた。移植および剖検の 2 例より得られた肺組織については病理組織学的検討がなされたが、2 例とも病理学的にも閉塞性細気管支炎と確定診断がなされた。肺移植例の摘出肺組織に関しては免疫組織化学的検討も行い、その結果、matrix metalloproteinase (MMP)-2 が、気管支上皮細胞、肺泡マクロファージに陽性、MMP-9 は気管支上皮細胞、肺線維芽細胞、組織に浸潤する炎症細胞に陽性、また、tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 は、肺線維芽細胞に、TIMP-2 は気管支上皮細胞に強く、肺線維芽細胞にわずかに陽性に染色されるという結果であった。この検討により、MMP/TIMP の不均衡はアマメシバ閉塞性細気管支炎の病態に関与している可能性があると考えられた。

## National Research of *Sauropus androgynus* associated pulmonary disorder in Japan and immunohistochemical analysis of *Sauropus androgynus* associated bronchiolitis obliterans

Kenichi Oonakahara, Wataru Matsuyama, Ikkou Higashimoto, Mitsuhiro Osame  
Kaoru Shimokata<sup>1</sup>, Yoshinori Hasegawa<sup>1</sup>, and Takashi Ogura<sup>2</sup>

*Third Department of Internal Medicine, Kagoshima University Faculty of Medicine, Kagoshima, Japan*

<sup>1</sup>*Respiratory Department of Internal Medicine, Nagoya University Faculty of Medicine, Nagoya, Japan*

<sup>2</sup>*Kanagawa Cardiovascular and Respiratory Center, Yokohama, Japan*

Two years ago, we reported a case of *Sauropus androgynus* associated bronchiolitis obliterans (BO) in Japan and proposed the necessity of national research about *Sauropus androgynus* associated pulmonary disorder in Japan. Here, we report the result about the national research of *Sauropus androgynus* associated pulmonary disorder in Japan. Eight BO cases and one bronchitis case have been discovered. All cases are female and one BO case underwent living-donor lobar lung transplantation and one BO case died because of respiratory failure. Two BO cases were confirmed pathologically. One BO case is suffering from pulmonary aspergillosis and 3 BO cases received home oxygen therapy. No medication, except for living-donor lobar lung transplantation, was effective. We also performed immunohistochemical analysis about matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2 using *Sauropus androgynus* associated BO lungs. Bronchoepithelial cells, pulmonary fibroblasts and alveolar macrophages stained positive for MMP-2. Bronchoepithelial cells, pulmonary fibroblasts and tissue infiltrating inflammatory cells stained positive for MMP-9. Only pulmonary fibroblasts in the lesion stained positive for TIMP-1. Bronchoepithelial cells stained strongly positive for TIMP-2 and pulmonary fibroblasts weakly stained positive for TIMP-2. Imbalance of MMP/TIMP might be associated with the pathogenesis of *Sauropus androgynus* associated BO.

はじめに

平成 15 年、健康食品「アマメシバ」摂取後に発症したアマメシバ関連閉塞性細気管支炎 (*Sauropus Androgynus* associated Bronchiolitis Obliterans) の本邦初発例を緊急報告し<sup>1)</sup>、2 年が経過した。しかし本邦におけるアマメシバ閉塞性細気管支炎の疫学・臨床像などの実態、また、発症機序などの病態は、未だ明らかではない部分も残されている。疫学調査の結果とその臨床像の追加報告及び当科症例摘出肺組織での免疫組織学的検討について報告する。

対象・方法

1) 疫学 (全国調査) および症例の臨床像についての追跡調査

病床数が 200 床以上で呼吸器内科及び外科を標榜する全国の医療機関 1,823 施設を対象に症例調査 (一

次、二次) を実施した。症例調査によって報告された 8 例の閉塞性細気管支炎 (臨床診断) 症例に関して、初回報告から 2 年が経過した平成 17 年 9 月から 12 月にかけて、各担当医に対してその後の臨床症状経過に関する追跡調査を行った。

2) 病理組織学的および免疫組織学的検討

8 症例のうち生体肺移植手術を行った症例および死亡剖検症例の 2 例より得られた肺組織について病理組織学的検討がなされた。

また、肺移植に伴って摘出された 1 症例の肺組織に関しては、免疫組織化学的検討も行った。

摘出肺をホルマリン固定し (4% paraformaldehyde/0.1 M PBS pH 7.4 固定・パラフィン包埋)、avidin biotin immunoperoxidase technique (ABC 法) により免疫染色を行った。(使用抗体; 抗 Matrix Metalloproteinases-2 (MMP-2) 抗体, 抗 MMP-9 抗体, 抗 tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) 抗体, 抗 TIMP-2 抗体, (DAIICHI Fine Chemical Co., Ltd.))

表 1 本邦での「アマメシバ」関連 BO 症例の転帰

症 例	転 帰
1 (鹿児島: 当科) 40 歳代 女性	部分生体肺移植
2 (神奈川: 母) 50 歳代 女性	死亡, 剖検施行
3 (神奈川: 娘) 20 歳代 女性	肺アスペルギルス症
4 (名古屋: 母) 70 歳代 女性	在宅酸素療法
5 (名古屋: 娘) 50 歳代 女性	在宅酸素療法
6 (沖縄) 60 歳代 女性	公表時と著変なし
7 (沖縄) 50 歳代 女性	公表時と著変なし
8 (愛知) 50 歳代 女性	公表時と著変なし

結 果

1) 疫学調査および臨床追跡調査

既報のように、アマメシバ摂取に関連したと考えられる肺障害は 9 例。それらの臨床診断は閉塞性細気管支炎が 8 例、気管支炎 (軽度) が 1 例であった。閉塞性細気管支炎は全例が女性 (気管支炎例は男性) で年齢は 20 歳代から 70 歳代。肺機能検査ではすでに 1 秒量 0.45~1.00 L と低値であった。発見時の報告から 2 年

表 2 組織学的所見が得られた 2 例の比較

症 例	アマメシバ 総摂取量 (乾燥粉末(g))	アマメシバ 摂取期間 (日)	摂取開始から 発症までの 期間 (月)	治療経過	病理所見
1 (鹿児島) 40 歳代 女性	1,000	130	3	生体 肺移植 (症状 出現から 1 年 1ヵ月後)	BO (摘出肺)
2 (神奈川県) 50 歳代 女性	1,440	360	4	死亡, 剖検 (症状出現か ら 2 年 5ヵ月 後)	BO (剖検)

鹿児島大学病院呼吸器内科

<sup>1</sup> 名古屋大学医学部附属病院呼吸器内科

<sup>2</sup> 神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

後の臨床症状の転帰を表1に示す。症例1は、呼吸不全が進行したため生体肺移植手術を行った。移植後の経過は良好で現在の肺機能は1秒量2Lを超え、軽い運動もできるまでに改善している。症例2は経過中、

ステロイド吸入および内服治療中に肺アスペルギルス症を発症。その後呼吸不全が徐々に進行し死亡、剖検が行われた。その他全例、発見診断時より、アマメシバ摂取は中止したものの、少なくとも8例中3例については、呼吸不全症状の悪化が認められ、在宅酸素療法が必要となっている症例は5例に上った。3例については発症時とほぼ変化なしと報告されている。

2) 病理組織学的および免疫組織学的検討

肺組織が得られた症例1,2の比較を表2に示す。いずれも図1に示すとおり細気管支上皮の剥離及び、線維芽細胞と泡沫細胞の浸潤による細気管支内腔の狭窄が見られ、病理組織学的にも閉塞性細気管支炎の確定診断がなされた。

症例1に関して行った免疫組織学的検討では、Matrix metalloproteinases-2 (結果 MMP-2) は細気管支上皮細胞、上皮下の線維芽細胞様細胞、泡沫大食細胞全てに同程度に発現 (図2a)。MMP-9は細気管支上

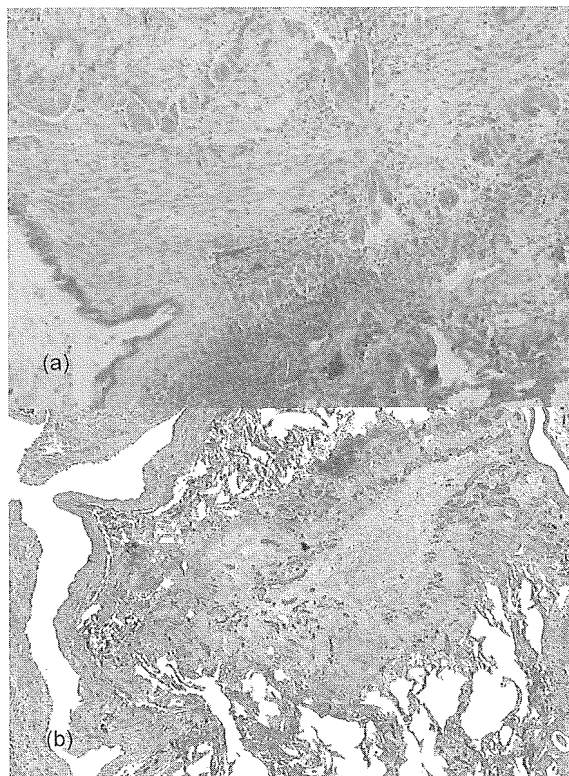


図1 肺病理組織像 (a) 症例1移植時摘出肺 (b) 症例2剖検

表3 摘出組織の免疫組織化学的検討のまとめ

	MMP-2	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
細気管支上皮細胞	+	++	+	++
上皮下の線維芽細胞様細胞	+	++	++	+
泡沫大食細胞	+	+	-	-
小型炎症細胞	-	+	-	-

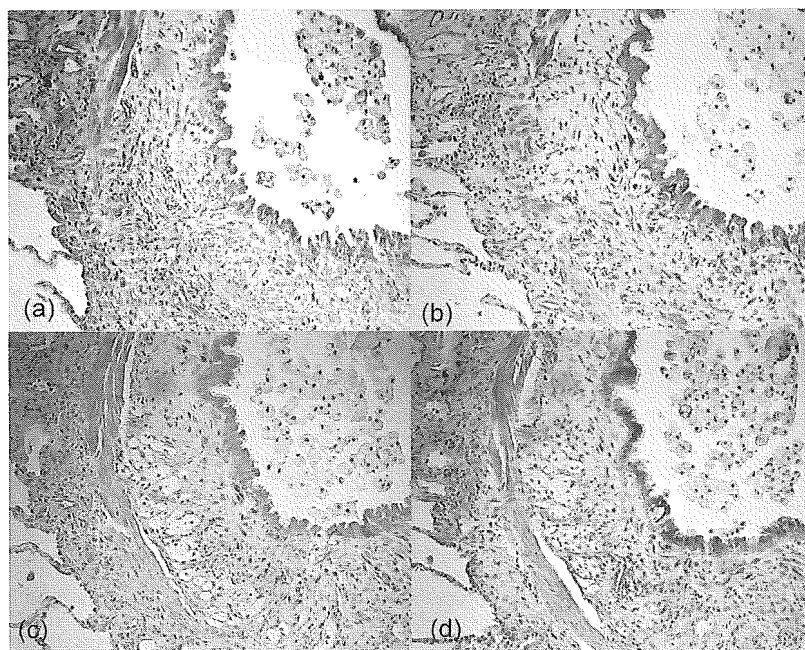


図2 症例1の肺免疫組織化学染色所見 (a) MMP-2 (b) MMP-9 (c) TIMP-1 (d) TIMP-2

皮細胞, 上皮下の線維芽細胞様細胞に強く発現し, 病巣部細気管支周囲の小型炎症細胞にも発現するものが見られた (図 2b). Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) は閉塞部細気管支上皮下の線維芽細胞様細胞のみが強陽性, 細気管支上皮細胞は弱陽性 (図 2c). TIMP-2 は細気管支上皮細胞, 上皮下の線維芽細胞様細胞に発現が見られ, 上皮細胞に発現が強かった (図 2d). それぞれの発現の比較は表 3 に示す.

## 考 察

本邦におけるアマメシバ関連閉塞性細気管支炎は, 全国集計の結果, 当初発表された 8 例以降, 増加してはいない. これは初発例報告以後の早急な発売禁止措置など, 厚生労働省の迅速な対応に寄与するところが大きいと思われる.

初発例報告後に行った全国調査によって判明した 8 例の閉塞性細気管支炎症例は, 報告の時点で肺機能上 1 秒量が 800 ml 以下となっている症例が 5 例存在し, 発見時すでに重症化していた. さらにこれら症例について 2 年を経た時点で追跡調査を行ったところ, 肺移植 1 例, 死亡 1 例のほか, 在宅酸素を必要としていた例が 3 例であり, 保存的治療で ADL が確保されているものは 3 例に過ぎなかった. 臨床的には, 少なくとも 8 例中 3 例において, アマメシバ服用中止にもかかわらず呼吸不全の進行が見られ, その他の症例も診断時とほぼ同等の症状が持続しており, 改善がみられたものはなかった. これは, Lai らによる約 20% の患者でアマメシバ服用中止後も肺機能の低下が進行したという台湾症例 115 例の追跡調査の結果報告とも一致しており<sup>2)</sup>, 通常の薬剤性肺障害と異なる機序が関与していることをうかがわせた.

また, 肺移植を受けた当科症例は外来通院中であるが, これまでのところ経過は良好である. 台湾ではこれまでに十数例の肺移植症例が報告されているが, 移植後一時的に改善しても, 反復感染などによる早期死亡例や, 中長期的には再び閉塞性細気管支炎を発症し, 再移植を必要とする例も少なくないことが示されており<sup>23)</sup>, 今後注意深い観察が必要と考えられる.

また, 本症の病理所見については, これまでに蓄積された台湾症例に関して詳細な検討がなされている<sup>4)</sup>. それによると発症初期には細気管支内腔の粘膜・

粘膜下の炎症, 多核白血球 (細気管支内)・リンパ球および形質細胞 (細気管支周囲の間質) の浸潤 (Proliferative BO) が見られ, 中期には細気管支壁への泡沫大食細胞の浸潤, 細気管支周囲から気管支内腔に及ぶ線維化, 後期では繊維化の進行に伴う細気管支内腔の狭窄 (Constrictive BO) が見られるとの報告がある. 今回, 我々が検討した 2 例の肺検体は中期以降の病変と考えられ, その病理所見も Constrictive BO として矛盾しないものであった.

このように閉塞性細気管支炎の組織学的特徴は, 気道上皮細胞及び上皮組織の傷害や炎症に伴う気道上皮の不十分な再生と異常な組織修復による過剰な線維増殖であるとされる. そこで, われわれは本症の病態に関して, 近年組織再生やリモデリングに関与するものとして注目されている Matrix metalloproteinases (MMPs) に着目し, 検討することとした.

肺移植を行った症例の摘出肺組織を用いて, MMP-2 MMP-9 とその組織内因性阻害因子 TIMP-1 TIMP-2 について免疫染色を行ったが, その結果, MMP-2 は気管支上皮細胞, 肺泡マクロファージに陽性, MMP-9 は気管支上皮細胞, 肺線維芽細胞, 組織に浸潤する炎症細胞に陽性であった. また, TIMP-1 は, 肺線維芽細胞に, TIMP-2 は気管支上皮細胞に強く, 肺線維芽細胞にはわずかに陽性に染色された.

これらの結果がアマメシバとどのように関連しているかは, いまだ不明な部分が多いが, アマメシバ摂取によって細気管支上皮細胞の抗原性が変化する可能性や, T リンパ球などの免疫細胞の反応性に変化を与えることなどが考えられている. その結果として, 細気管支局所において MMP/TIMP の不均衡が生じ, 上皮組織の線維化などアマメシバ閉塞性細気管支炎の病態形成に関与しているのかもしれない. 今後, さらに得られた肺組織に関して, 他の原因による閉塞性細気管支炎との比較なども含めた詳細な検討が必要である.

## 参考文献

- 1) 大中原研一, 堂地ゆかり, 町田健太朗, 東元一晃, 川畑政治, 有村公良, 納 光弘 「アマメシバ」摂取によると思われる閉塞性細気管支炎の本邦での発症 台湾での惨事を繰り返さないための緊急報告 日本医事新報. 4141, 27-30, 2003.



- 2) Lai RS, Chiang AA, Wu MT, Wang JS, Lai NS, Lu JY, Ger LP, Roggli V. Outbreak of bronchiolitis obliterans associated with consumption of *Sauropus androgynus* in Taiwan. Lancet. 1996 Jul 13; 348 (9020): 83-5.
- 3) Luh SP, Lee YC, Chang YL, Wu HD, Kuo SH, Chu SH. Lung transplantation for patients with end-stage *Sauropus androgynus*-induced bronchiolitis obliterans (SABO) syndrome. Clin Transplant. 1999 Dec; 13(6): 496-503.
- 4) Wang JS, Tseng HH, Lai RS, Hsu HK, Ger LP. *Sauropus androgynus*-constrictive obliterative bronchitis/bronchiolitis — histopathological study of pneumonectomy and biopsy specimens with emphasis on the inflammatory process and disease progression. Histopathology. 2000 Nov; 37(5): 402-10.

# 閉塞性細気管支炎誘発物質であるアマメシバ (*Sauropus Androgynus*) の成分分析

長谷川好規\* 今泉 和良 橋本 泉 橋本 直純 下方 薫

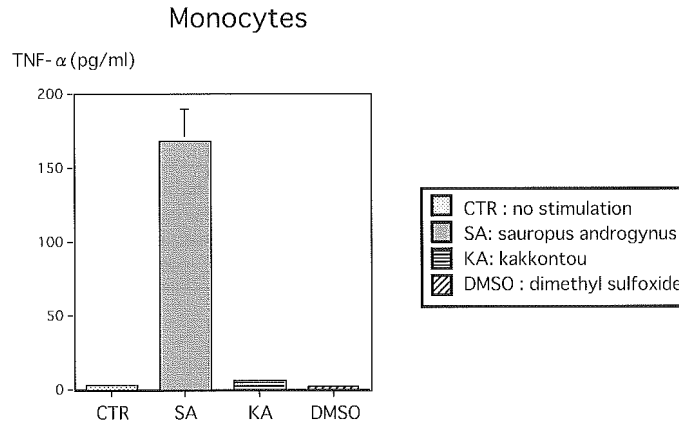
閉塞性細気管支炎 (BO) は、慢性進行性の予後不良の疾患であるが、その病因は不明のことが多い。閉塞性細気管支炎誘発物質としてアマメシバ (*Sauropus Androgynus*) が知られている。本研究では、アマメシバ成分分析により BO の成因を研究することを目的とした。単球系の腫瘍細胞株 (RAW)、ヒト末梢血単球、ヒト及びマウス肺泡マクロファージを用いて、SA 溶液を加え培養し、上清中の TNF- $\alpha$  を ELISA 法にて測定した。また、SA を各種溶媒 (水、ヘキサン、メタノール、アセトン) にて溶解分画化し、それぞれの分画を上記細胞群の培養液中に添加した際の TNF- $\alpha$  産生を検討した。その結果、単球系腫瘍細胞、末梢血単球、肺泡マクロファージいずれも SA の添加により有意な TNF- $\alpha$  の産生の増大がみられた。SA の分画中では水溶性分画に強い TNF- $\alpha$  の産生能がみられ、同分画に BO の発症に関与する物質が含有されている可能性が示唆された。今後、この物質の同定をすすめる予定である。

## The analytical search for the constrictive bronchiolitis obliterans-inducing molecules from *Sauropus androgynus*

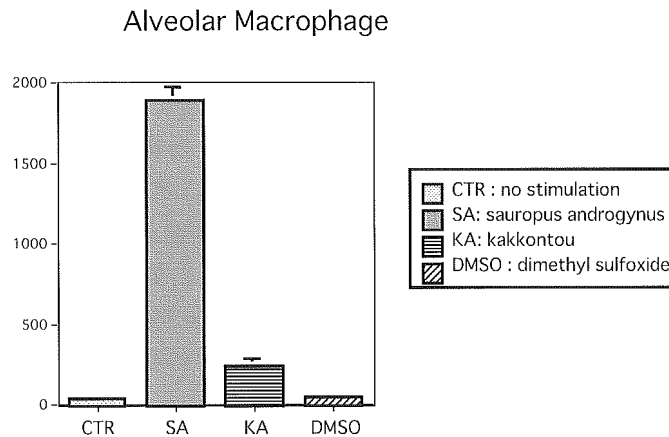
Yoshinori Hasegawa, Kazuyoshi Imaizumi, Izumi Hashimoto, Naozumi Hashimoto, and Kaoru Shimokata

*Department of Respiratory Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan*

We have conducted with searching bronchiolitis obliterans (BO)-inducing molecules from *Sauropus androgynus* (SA). Alveolar macrophages, peripheral mononuclear cells and murine macrophage cell lines (RAW) were stimulated with SA dissolved with DMSO. Stimulation with SA induced the significant amount of TNF- $\alpha$  from the alveolar macrophages, peripheral mononuclear cells and RAW cell lines. Then, we fractionated SA into four groups with organic solvents such as hexane, acetone, methanol, and water. Soluble fractions were tested for the TNF- $\alpha$  induction from target cells. Only water soluble fraction induced the significant amount of TNF- $\alpha$  production, but not hexane, acetone and methanol soluble fractions. We speculate that the water soluble fraction of SA may contain putative BO-inducing molecules. We will try to purify the water soluble fraction of SA and to determine the putative BO-inducing molecules.



**Figure 1** Monocytes were stimulated by SA, Kakkontou, and DMSO. The concentration of TNF- $\alpha$  in the culture supernatants were measured by ELISA. Marked increase in the level of secretion of TNF- $\alpha$  by monocytes was observed following exposure of the cells to SA.



**Figure 2** Alveolar macrophages were stimulated by SA, Kakkontou, and DMSO. The concentration of TNF- $\alpha$  in the culture supernatants were measured by ELISA. Marked increase in the level of secretion of TNF- $\alpha$  by alveolar macrophage was observed following exposure of the cells to SA.

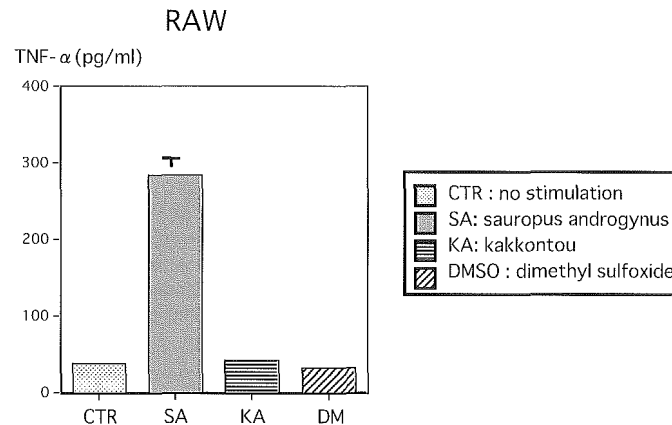
## はじめに

閉塞性細気管支炎は、末梢気道である細気管支領域の不可逆的閉塞をきたすことにより呼吸不全を呈する疾患である。これまで比較的まれな疾患と考えられていたが、骨髄移植や心肺移植などの移植医療に伴う閉塞性細気管支炎の合併が報告され、新たに注目を集めている。原因は不明であることが多いが、これまでに報告されている原因として、有毒ガスの吸入、マイコプラズマやウイルス感染、膠原病や自己免疫疾患などへの合併がある。現在までに、特発性 (idiopathic) 閉塞性細気管支炎症例の報告は極めてまれである。近年、骨髄移植や心肺移植が盛んになるにつれ閉塞性細

気管支炎の合併が報告されるようになり、これらの事実から何らかの免疫学的異常を背景に発症するものと考えられているが、発症のメカニズムについては不明である<sup>1-2)</sup>。1996年に台湾から *Sauropus androgynus* (SA; 日本名 アマメシバ「天芽芝」, レジーナスなど) 経口摂取にともなう閉塞性細気管支炎の発症が初めて報告された<sup>3)</sup>。日本では、2003年8月に大中原・他により第1例目が報告された<sup>4)</sup>。台湾において1994年から2000年の間にアマメシバ摂取による閉塞性細気管支炎が280名近く発症している。我が国でも、第1例目に引き続き、同時発症の親子例 (第2例目, 第3例目) が報告された<sup>5)</sup>。本研究では、因果関係が明らかなSAを用いて、その成分分析による原因物質の同定と発症メカニズムについて解明することを目的とする。

名古屋大学医学部附属病院 呼吸器内科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者



**Figure 3** RAW (murine macrophage cell) cells were stimulated by SA, Kakkontou, and DMSO. The concentration of TNF- $\alpha$  in the culture supernatants were measured by ELISA. Marked increase in the level of secretion of TNF- $\alpha$  by RAW cells was observed following exposure of the cells to SA.

## 対象と方法

ヒト末梢血単球、ヒト及びマウス肺胞マクロファージを用いて、SA 原液を加えた際の 24 時間後および 48 時間後の培養上清中の TNF- $\alpha$  の発現を ELISA 法によって測定解析する。次に、SA を各種溶媒（水、ヘキササン、メタノール、アセトン）にて溶解分画化し、それぞれの分画を上記細胞群の培養液中に添加した際の TNF- $\alpha$  産生を検討する。TNF $\alpha$  を最も強く産生する分画を決定した後、分画内の物質同定を計画した。

## 結 果

### 1. SA による TNF- $\alpha$ 産生

人の末梢血単球に DMSO 溶解 SA を加え培養したところ、コントロール群（刺激なし群、溶媒群 (DMSO)）と比較し、SA 刺激群において優位な TNF- $\alpha$  産生を認めた。一方、植物抽出薬物のコントロールとして葛根湯による刺激では、TNF- $\alpha$  産生は認めなかった (Figure 1)。標的細胞として人の肺胞マクロファージを用いて、SA による刺激を加えたところ、末梢血単球と比較して 10 倍高い TNF- $\alpha$  産生を認めた (Figure 2)。標的細胞としてマウスのマクロファージ細胞株を用いて検討した場合においても同様の結果であり、TNF- $\alpha$  産生量は、人の末梢血単球を標的とした場合の約 2 倍であった (Figure 3)。

### 2. SA 成分の粗分画と TNF- $\alpha$ 産生

SA 粉末を用いて、各種溶媒（水、ヘキササン、メタノール、アセトン）にて溶解分画化し、それぞれの分

画を上記細胞群の培養液中に添加した際の TNF- $\alpha$  産生を検討した。その結果、ヘキササン、メタノールとアセトン分画ではほとんど TNF- $\alpha$  産生を認めなかったが、水溶性分画でのみ TNF- $\alpha$  産生を認めた。TNF- $\alpha$  産生量は、それぞれの標的細胞（人の末梢血単球、人の肺胞マクロファージ、マウスのマクロファージ細胞株）において、SA 成分での刺激による効果とほぼ同程度であった。

## 考案・結論

閉塞性細気管支炎の詳細な病因は分かっていないが、免疫学的な気道傷害であると推測されている。これまでの移植肺の臨床的な研究から、繰り返す拒絶反応やその程度がひどい患者において閉塞性細気管支炎の発症リスクが高いと報告されている。一方、このような非感染性の要因に対して、CMV 感染や細菌感染などの感染性要因が閉塞性細気管支炎の発症と相関があるとする報告もある。現時点では、急性拒絶反応や慢性拒絶反応による免疫学的気道炎症を背景に、感染性や非感染性の上皮傷害が絡み合っ閉塞性細気管支炎発症のリスクに関与すると考えられている。一方、薬剤性肺障害としての閉塞性細気管支炎については、慢性関節リウマチと関連したペニシラミンの役割が疑われているが、明確な因果関係が証明されている薬剤は知られていない。

アマメシバの学名は *Sauropus androgynus* である。原産地は東南アジアのマレー半島からインドネシアの熱帯雨林であり、トウダイグサ科に属する。台湾で