

## はじめに

Heat shock protein 47 (HSP47) は小胞体に局在するストレス蛋白として 1986 年に発見され、その後の研究によってコラーゲン特異的分子シャペロンであることが明らかとなった。すなわち、小胞体内でのプロコラーゲンの生合成とゴルジ装置への輸送過程において、フォールディング、凝集および分解阻止、品質管理、輸送の各所で働いていると考えられている<sup>1)</sup>。コラーゲンの異常な蓄積を特徴とする肝硬変<sup>2)</sup>、腎硬化症<sup>3)</sup>、腹膜硬化症<sup>4)</sup>、肺線維症<sup>5)</sup>など種々の線維化疾患において、HSP47 もその合成が異常に亢進していることが報告されている。またわれわれが以前に行った特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) 患者の肺組織による免疫染色の検討においても、fibroblastic foci に一致して I 型プロコラーゲンおよび HSP47 の発現が亢進していることが確認されており<sup>6)</sup>、HSP47 は IPF の病態においても重要な役割を担っていると思われる。

Pirfenidone は抗線維化作用を有することが知られており、各種線維化疾患動物モデルにおいて線維化を抑制することが報告されてきた<sup>7)</sup>。また IPF 患者を対象とした臨床試験においてもその有効性が示されているが<sup>8,9)</sup>、その作用機序については未だ十分に明らかにされたとは言い難い。われわれのマウスブレオマイシン肺臓炎モデルを用いた検討では、ブレオマイシン肺臓炎群で肺線維化の進展とともに HSP47 陽性細胞数の増加を認めたが、これらは pirfenidone 投与により有意に抑制された<sup>10)</sup>。また正常ヒト肺線維芽細胞を用いた *in vitro* での検討では、pirfenidone は TGF- $\beta$ 1 刺激による HSP47 および I 型コラーゲンの mRNA および蛋白の発現亢進を濃度依存性に抑制した<sup>11)</sup>。

最近では肺の線維化に肺線維芽細胞だけではなく、上皮細胞から間葉系細胞への移行、すなわち epithelial to mesenchymal cell transition (EMT) など、上皮細胞の役割が重要視されてきている<sup>12,13)</sup>。わ

れわれの間質性肺炎患者肺組織における検討においても、IPF では肺線維芽細胞同様、上皮細胞に HSP47 と I 型プロコラーゲンの強い発現を認めている一方で、膠原病関連 usual interstitial pneumonia (UIP)、特発性 nonspecific interstitial pneumonia (NSIP) ではその発現は弱く、IPF 患者の予後の悪さと、上皮細胞での HSP47 やコラーゲンの産生が関連していることが示唆された<sup>14)</sup>。そこで今回われわれはヒト肺胞上皮細胞である A549 細胞を用いて、TGF- $\beta$ 1 刺激後の HSP47 および I 型コラーゲンの発現とそれに対する pirfenidone の影響を *in vitro* で検討した。

## 方 法

60mm ディッシュに A549 細胞を 90% confluence の状態まで培養し、TGF- $\beta$ 1 (0.1, 1, 5, 10ng/ml) を添加した後さらに 3, 6, 12, 24, 48, 72 時間培養を行い、HSP47 および I 型コラーゲンの mRNA の発現を Northern blotting 法にて検討した。また TGF- $\beta$ 1 (10ng/ml) および pirfenidone (100, 500, 1000 $\mu$ g/ml) を添加した後、6, 12, 24 時間培養し、I 型コラーゲンの mRNA 発現について Northern blotting で検討した。

## 結 果

TGF- $\beta$ 1 刺激による HSP47 の mRNA の発現は 24 (図 1)、48, 72 時間において、TGF- $\beta$ 1 の濃度依存性に亢進した。また I 型コラーゲンの mRNA の発現は、6 時間、12 時間において TGF- $\beta$ 1 濃度 5 ~ 10ng/ml で、また 72 時間では TGF- $\beta$ 1 濃度 10ng/ml で有意に亢進した。pirfenidone の作用を検討した結果、TGF- $\beta$ 1 刺激によって亢進した I 型コラーゲンの mRNA 発現は、pirfenidone 添加により濃度依存性に抑制され、6 時間では pirfenidone の濃度 100, 500, 1000 $\mu$ g/ml で (図 2)、12 時間では 500, 1000 $\mu$ g/ml で、24 時間では 1000 $\mu$ g/ml においてコントロールとの有意差が認められた。

## 考 察

HSP47 はコラーゲン合成に必須の分子シャペロ

1 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子病態学 (長崎大学医学部附属病院第二内科)

2 長崎大学医学部原研生化

\* 分担研究者

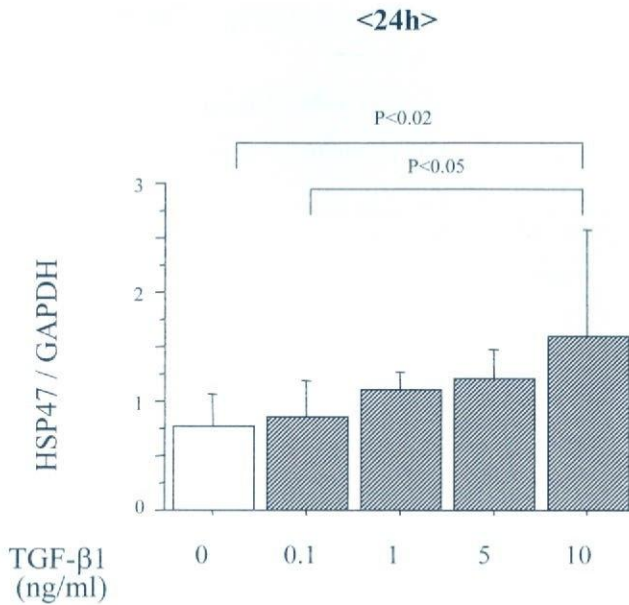


図1 HSP47mRNA 発現の検討

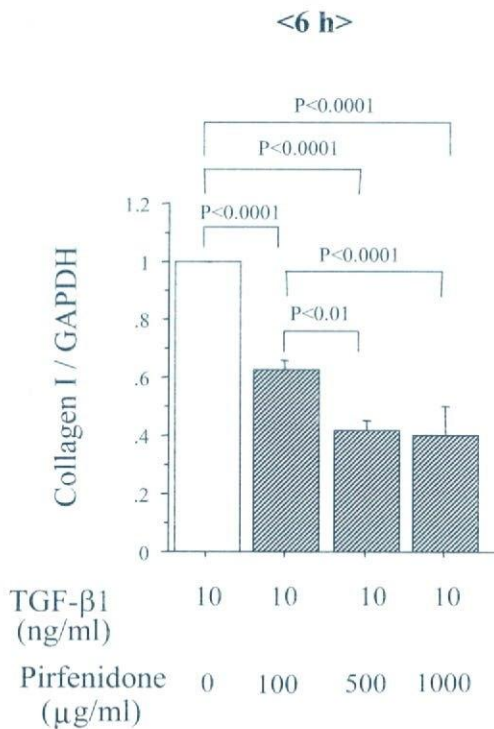


図2 I型コラーゲン mRNA 発現に対する pirfenidone の効果についての検討

ンであり、HSP47の発現を抑制することによりコラーゲン産生を抑制する可能性がある。実際にHSP47に対する antisense を用いた検討で、HSP47の発現抑制に伴いコラーゲンの合成も抑制されることが報告されている<sup>11)</sup>。

今回の検討において、TGF-β1 刺激はII型肺胞上

皮細胞である A549 細胞において HSP47 および I 型コラーゲン mRNA の発現を亢進させた。また pirfenidone は、TGF-β1 による I 型コラーゲン mRNA の発現亢進を直接的に抑制した。

また今回の報告会では示さなかったが、pirfenidone は A549 細胞において HSP47mRNA の発現亢進も抑制することを確認している。

これらの結果からII型肺胞上皮細胞が肺線維芽細胞同様、肺の線維化に直接関与している可能性が考えられた。また pirfenidone は肺線維芽細胞のみならずII型肺胞上皮細胞にも直接作用し、肺の線維化を抑制する可能性が示唆された。

#### 参考文献

- 1) Sauk JJ, *et al.* Hsp47 and the translation-translocation machinery cooperate in the production of alpha 1 (I) chains of type I procollagen. *J Biol Chem* 1994; 269: 3941-6.
- 2) Masuda H, *et al.* Coexpression of the collagen-binding stress protein HSP47 gene and the alpha 1 (I) and alpha 1 (III) collagen genes in carbon tetrachloride-induced rat liver fibrosis. *J Clin Invest* 1994; 94: 2481-8.
- 3) Abe K, *et al.* Interstitial expression of heat shock protein 47 and alpha-smooth muscle actin in renal allograft failure. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 529-35.
- 4) Shiohita K, *et al.* Expression of heat shock proteins 47 and 70 in the peritoneum of patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2000; 57: 619-31.
- 5) Razzaque MS, *et al.* Immunolocalization of collagen and collagen-binding heat shock protein 47 in fibrotic lung diseases. *Mod Pathol* 1998; 12: 1183-8.
- 6) Iwashita T, *et al.* Involvement of collagen-binding heat shock protein 47 and procollagen type I synthesis in idiopathic pulmonary fibrosis: contribution of type II pneumocytes to fibrosis. *Hum Pathol* 2000; 31: 1498-505.
- 7) Iyer SN, *et al.* Effects of pirfenidone on procollagen gene expression at the transcriptional



- level in bleomycin hamster model of lung fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289: 211-8.
- 8) Raghu G, *et al.* Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with a new antifibrotic agent, pirfenidone: results of a prospective, open-label Phase II study. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1061-9.
- 9) Azuma A, *et al.* Double Blind, Placebo-Controlled Trial of Pirfenidone in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 1040-7.
- 10) Kakugawa T, *et al.* Pirfenidone attenuates expression of HSP47 in murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2004; 24: 57-65.
- 11) 中山聖子, 他. 正常ヒト肺線維芽細胞を用いた肺線維症における Pirfenidone の作用機序についての検討—特に HSP47 発現に及ぼす効果について—. 厚生労働科学研究「特発性間質性肺炎の画期的治療に関する臨床研究」平成 16 年度研究報告書. 2005: 607-9.
- 12) Kasai H, *et al.* TGF-beta1 induces human alveolar epithelial to mesenchymal cell transition (EMT). *Respir Res* 2005; 6: 56.
- 13) Willis BC *et al.* Induction of epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells by transforming growth factor-beta1: potential role in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Pathol.* 2005; 166: 1321-32.
- 14) Kakugawa T, *et al.* Expression of HSP47 in usual interstitial pneumonia and nonspecific interstitial pneumonia. *Respir Res.* 2005; 6: 57.
- 15) Sunamoto M, *et al.* Antisense oligonucleotides against collagen-binding stress protein HSP47 suppress collagen accumulation in experimental glomerulonephritis. *Lab Invest* 1998; 78: 967-72.

# ブレオマイシン誘発肺線維症モデルにおける IKK $\beta$ 阻害剤 IMD-0354 の抗線維化効果の検討

西岡 安彦 稲山 真美 上原 久典 泉 啓介  
曾根 三郎\*

抗炎症薬として開発された IKK $\beta$  阻害剤 IMD-0354 に注目し、ブレオマイシン誘発肺線維症モデルを用いて、その抗線維化効果について検討した。肺線維症モデルは、8 週齢の C57BL/6 マウスにブレオマイシン (BLM) を Alzet mini-osmotic pump を用いて持続皮下投与することにより作成した。IMD-0354 は BLM 投与開始日から 5 あるいは 20mg/kg/day で腹腔内投与した。28 日後にマウスを sacrifice し Sircol Collagen Assay による肺コラーゲン含量の定量と、病理医による Ashcroft score を用いた線維化の定量化、ELISA kit を用いた BALF、肺ホモジネートのサイトカインの検討を行った。肺組織における NF- $\kappa$ B の活性化についても検討した。BLM 肺線維症モデルによる組織学的検討から、IMD-0354 投与は BLM により誘発される肺線維化を有意に抑制することが明らかとなった。また BLM 投与後 28 日目の肺コラーゲン含量は、IMD-0354 投与群で有意に減少した。BALF では、BLM による好中球およびリンパ球の浸潤が抑制され、BALF 中および肺ホモジネートの TNF- $\alpha$  および IL-1 $\beta$  も IMD-0354 投与群で有意に減少していた。IMD-0354 投与群では NF- $\kappa$ B の活性化抑制が確認された。以上から IMD-0354 は NF- $\kappa$ B 抑制を介してブレオマイシン誘発肺線維症を効果的に抑制することが示唆されるとともに、線維症治療薬としての応用が期待された。

## A novel I $\kappa$ B kinase- $\beta$ inhibitor IMD-0354 ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice

Yasuhiko Nishioka, Mami Inayama, Hisanori Uehara, Keisuke Izumi  
and Saburo Sone

*Departments of Internal Medicine and Molecular Therapeutics, and Molecular and Environmental Pathology, Institute of Health Biosciences, the University of Tokushima Graduate School*

I $\kappa$ B kinase- $\beta$  is a critical regulator in the activation of nuclear factor-kappa B, a transcription factor related to the expression and regulation of proinflammatory cytokines. To evaluate if inhibition of I $\kappa$ B kinase- $\beta$  ameliorates pneumonitis and pulmonary fibrosis, we examined whether a novel I $\kappa$ B kinase- $\beta$  inhibitor, IMD-0354, attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Administration of IMD-0354 significantly improved the loss of body weight and survival of mice treated with bleomycin, while IMD-0354 alone did not cause any morphological change in the lung. When mice were evaluated 28 days after bleomycin administration, IMD-0354 dose-dependently reduced the collagen content and fibrotic scores as shown by histological examination. The findings in the bronchoalveolar lavage demonstrated that the proportions of neutrophils and lymphocytes were decreased in mice treated with IMD-0354 on day 7 and 14, respectively. IMD-0354 treatment was confirmed to inhibit the activation of nuclear factor-kappa B, but not activator protein-1, in the lungs treated with bleomycin. The production of inflammatory cytokines, tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-1 $\beta$ , was reduced in the lungs of mice treated with IMD-0354. These results suggest that IMD-0354 might be useful to ameliorate the inflammation in the lungs induced by fibrotic injury and the subsequent fibrogenesis *via* inhibiting the expression of profibrotic cytokines related to the activation of nuclear factor-kappa B.



はじめに

特発性肺線維症 (IPF) は肺線維芽細胞の増殖と細胞外マトリックスの沈着によって特徴づけられる予後不良の慢性進行性肺疾患である。ステロイド、免疫抑制剤等にて治療が試みられているが、未だ生命予後を延長する治療法が確立されていないのが現状である。IMD-0354 は (株) 医薬分子設計研究所で開発された抗炎症薬で、IKKβ (I kappa B kinase β) 阻害剤である。In vitro の実験では、TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α) による NF-κB (Nuclear factor-kappa B) 活性化を抑制し、concanavallin A や LPS (Lipopolisaccharide) による炎症性物質の放出を抑制するが、免疫反応に関する kinase や受容体結合は阻害しないことが確認されている。一方、IPF 患者の肺胞マクロファージにおいて IL-1β や TNF-α などの炎症性サイトカインの産生が亢進していることが知られている<sup>1)</sup>。また、これらのサイトカインの産生経路には NF-κB が重要な役割を果たしている。実際、ブレオマイシン (BLM) 誘発肺線維症モデルマウス肺において、TNF-α mRNA レベルの増加と共に NF-κB の活性化を認めたと報告されている<sup>2)</sup>。以上より我々は、BLM 誘発肺線維症モデルマウスにおける IMD-0354 の抗線維化効果について検討した。

方 法

肺線維症モデルは 8 週齢の C57BL/6 マウスに BLM 125 または 150 mg/kg を 200μl の生理食塩水に溶解し Alzet mini-osmotic pump を用いて約 7 日間かけて持続皮下投与することにより作成した。コントロール群として同様に 200μl の生理食塩水を pump にて持続皮下投与した。IMD-0354 は、BLM 投与開始日から 5 あるいは 20mg/kg/day を 200μl の 0.5% carboxymethylcellulose (CMC) に溶解し腹腔内投与した。コントロールとして 200μl の CMC を腹腔内投与した。28 日後にマウスを sacrifice し、右肺は Sircol Collagen Assay を用いてコラーゲン含量の定量に使用した。左肺組織切片の HE 染色により組織学的な線維化の評価を Ashcroft score を用いて 2 人の病理医により行った。さらに、day 7, 14, 28 において sacrifice したマウスに対し気管支肺胞洗浄 (BAL) を施行し、総細胞数および細胞分画を検討した。また、Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kit を用い気管支肺胞洗浄液 (BALF) および、肺組織中のサイトカイン、ケモカインの検討を行った。肺組織から抽出した核蛋白を用いてゲルシフト法および TransAM kit により NF-κB の活性化状態を検討した。

Table 1 Analysis of bronchoalveolar lavage

Days after Treatment	Total cells (×106)	Cell differentiation (%)		
		Macrophages	Lymphocytes	Neutrophils
Day 0	0.69 ± 0.14	94.8 ± 2.2	3.2 ± 1.8	2.1 ± 0.3
Day 7				
BLM	2.20 ± 0.57	63.2 ± 11.4	6.38 ± 4.82	30.18 ± 8.53
BLM+IMD-0354	1.33 ± 0.33	96.9 ± 2.22	0.55 ± 0.34	2.55 ± 2.17*
Day 14				
BLM	6.36 ± 2.91	67.2 ± 10.20	24.7 ± 7.68	8.05 ± 3.65
BLM+IMD-0354	6.58 ± 2.42	78.3 ± 4.98	4.98 ± 3.09*	16.63 ± 5.15
Day 28				
BLM	2.19 ± 0.79	61.01 ± 5.10	28.68 ± 3.75	10.30 ± 4.69
BLM+IMD-0354	3.00 ± 1.64	65.75 ± 6.53	24.30 ± 3.59	9.95 ± 3.66

Mice were treated with osmotic minipumps containing bleomycin (BLM: 125 mg/kg). IMD-0354 (20 mg/kg) was intraperitoneally injected daily. On days 0, 7, 14 and 28, bronchoalveolar lavage was performed as described in Methods. Data are presented as mean ± SD in the group of 6 mice. Similar results were obtained in three separate experiments.

\* P<0.001 v.s. percentage in BLM group

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部  
分子制御内科学分野

\* 分担研究者



結 果

BLM 肺線維症モデルに対する IMD-0354 20mg/kg/day の投与は、BLM によって誘発されるマウスの体重減少および生存率を改善した。さらに、BLM 肺線維症モデルの Ashcroft score による組織学的検討から、IMD-0354 20mg/kg/day の投与は BLM により誘発される肺線維化を有意に抑制することが明らかとなった (Figure 1)。一方、コントロール群マウスに対する IMD-0354 の単独投与では組織学的に著明な変化はみられなかった。また BLM 投

与後 28 日目の肺コラーゲン含量は、IMD-0354 投与群で有意に減少していた。一方、BLM による炎症細胞浸潤に対する IMD-0354 の影響を検討するために BAL を行ったところ、IMD-0354 投与により、day7 における好中球の浸潤、day14 におけるリンパ球の浸潤が有意に抑制された (Table 1)。BALF 中の TNF- $\alpha$  および肺ホモジネート中の TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  も IMD-0354 投与群で減少していた (Figure 2)。ゲルシフト分析では BLM 投与後 7 日目の NF- $\kappa$ B 活性は、IMD-0354 投与群で減少していた。

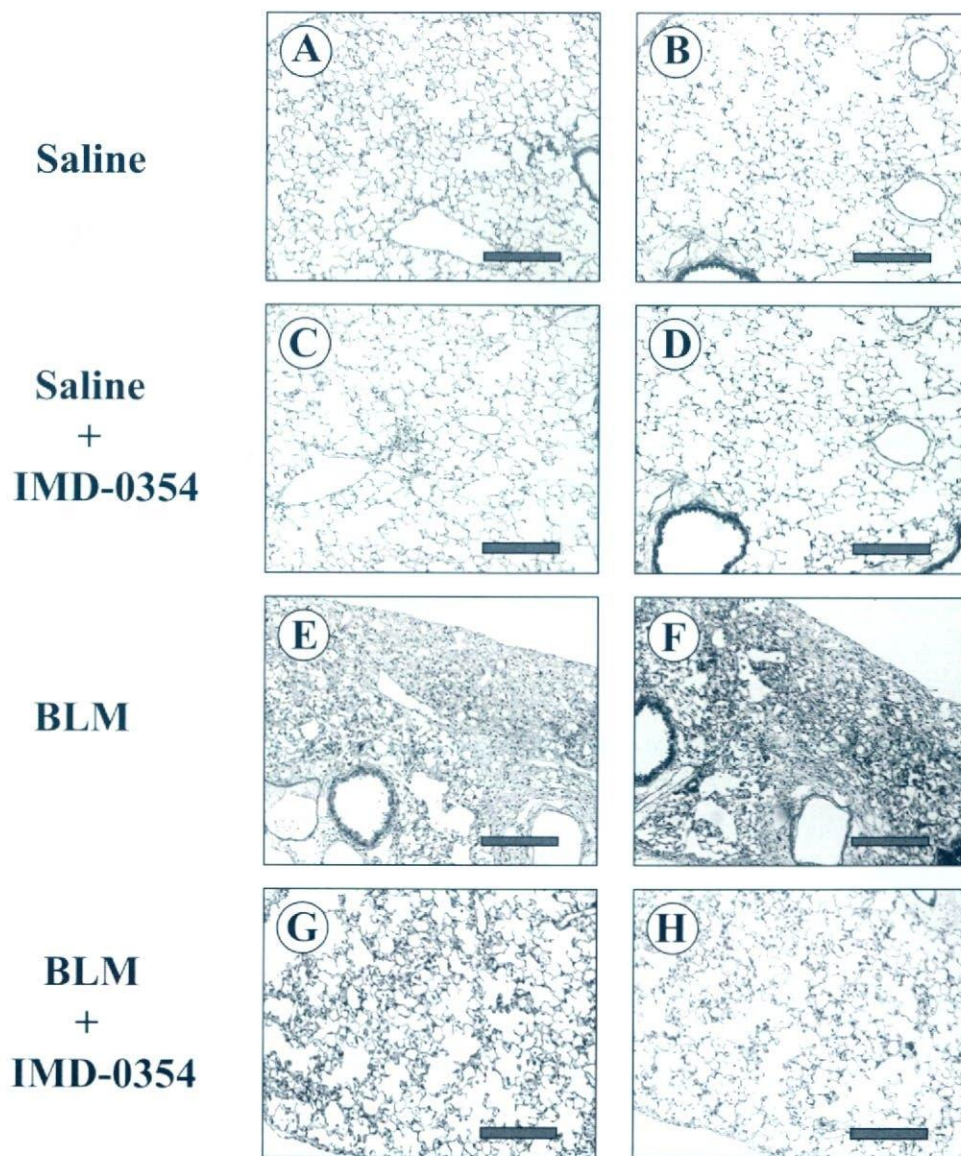


Figure 1 Histological examination of the antifibrotic effects of IMD-0354 on bleomycin-induced pulmonary fibrosis. Mice were treated with osmotic minipumps containing saline or bleomycin (BLM) (125 mg/kg). IMD-0354 (20 mg/kg/day) was intraperitoneally injected. On day 28, mice were sacrificed and histological examination was performed by H&E staining (A, C, E, G) and Masson's-trichrome staining (B, D, F, H) (original magnification: x100). A, B: saline alone, C, D: saline+IMD-0354 (20 mg/kg/day), E, F: BLM alone, G, H: BLM+IMD-0354 (20 mg/kg/day). Data are representative of three separate experiments. Bar = 200 $\mu$ m.

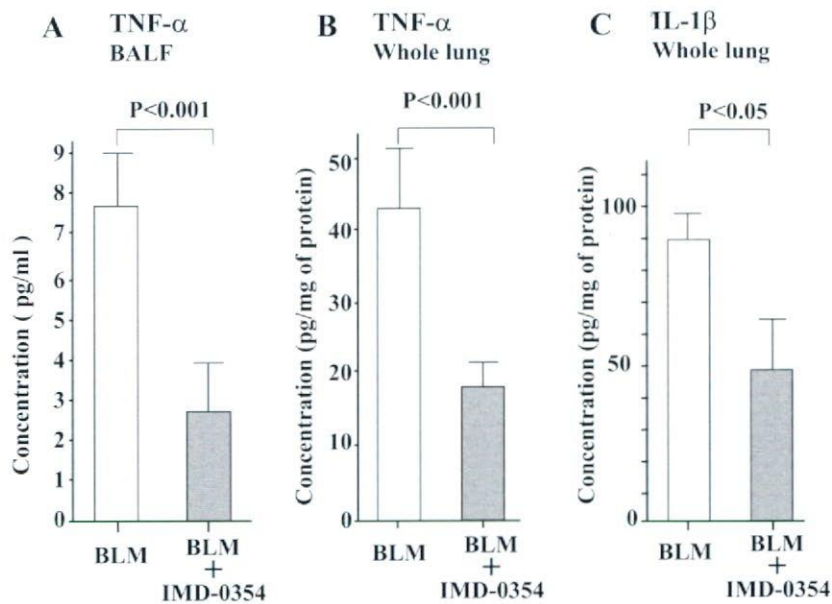


Figure 2 IMD-0354 inhibits the expression of TNF-α and IL-1β in BALF or lung homogenates of mice treated with bleomycin. The levels of TNF-α and IL-1β in BALF and lung homogenates 7 days after treatment with bleomycin (BLM) were measured by ELISA as described in Methods. Data are shown as the mean ± SD of 8 mice. Data are representative of two separate experiments.

## 考 察

我々は、マウスにおける BLM 誘発肺線維化を IMD-0354 が抑制することを示した。また、IMD-0354 は *in vivo* における NF-κB の活性化を有意に抑制した。NF-κB decoy あるいは antisense oligonucleotide を用いたこれまでの報告では、BLM 投与肺での NF-κB 抑制は示されておらず<sup>3,4)</sup>、我々の結果が最初に BLM 肺における NF-κB 抑制を示した報告である。すなわち、IKKβ 抑制が効果的な NF-κB 抑制の手段であり、さらには少なくとも BLM モデルでは肺線維化抑制につながるといえる。IMD-0354 投与による肺線維化抑制には、BALF 中の好中球、リンパ球浸潤の抑制効果、あるいは肺組織での TNF-α や IL-1β といった pro-inflammatory cytokines の抑制効果が関与していることが推測された。

一方、近年抗線維化薬として臨床試験が進められている pirfenidone も、当初は抗炎症薬として開発された経緯があることから、今後 IMD-0354 の肺線維芽細胞に対する直接の抗線維化効果についても検討をすすめる必要があると思われる。

## 参考文献

- 1) Zhang Y, Lee TC, Guillemin B, Yu MC, Rom WN. Enhanced IL-1 beta and tumor necrosis factor-alpha release and messenger RNA expression in macrophages from idiopathic pulmonary fibrosis or after asbestos exposure. *J Immunol* 150 (9) : 4188-4196, 1993.
- 2) Giri SN, Gurujeyalakshmi G and Wang Y. Suppression of bleomycin-induced increased production of nitric oxide and NF-κB activation by treatment with taurine and niacin. *Adv Exp Med Biol* 483: 545-561, 2000.
- 3) Zhang XY, Shimura S, Masuda T, Saitoh H, Shirato K. Antisense Oligonucleotides to NF-κB Improve Survival in Bleomycin-induced Pneumopathy of the Mouse. *Am J Respir Crit Care Med*. 162: 1561-1568, 2000.
- 4) Griesenbach U, Cassady RL, Cain RJ, duBois RM, Geddes DM, Alton EW. Cytoplasmic deposition of NF-κB decoy oligonucleotides is insufficient to inhibit bleomycin-induced pulmonary inflammation. *Gene Ther* 9: 1109-1115, 2002.



# アンジオテンシン受容体拮抗薬によるブレオマイシン誘導肺障害の抑制効果と SP-A の変動と組織発現に関する検討

高橋 弘毅\* 白鳥 正典 大塚 満雄 千葉 弘文  
村上 聖司

我々はラット bleomycin (BLM) 誘導肺線維化モデルにおける Angiotensin II type 1 receptor (AT1) の発現とアンジオテンシン受容体拮抗薬 (ARB) の線維化抑制効果を報告している。今回、傷害肺組織中のサーファクタント蛋白質 A (SP-A) の定量ならびに組織における免疫染色を実施し、これらに対する ARB の影響を検討した。肺組織ホモジネート中の SP-A 量は BLM 投与により増加したが、ARB を前投与することにより抑制された。組織学的には BLM 投与 7 日目には肺胞領域の虚脱と過形成上皮を認めた。その細胞は全てのサーファクタント蛋白質を発現しており、肺胞 II 型上皮細胞と同定された。BLM 投与に伴うこれらの組織学的変化を ARB が抑制したことは、肺障害の予防ならびに治療への有用性を示唆するものと考えられる。

## **Effects of an angiotensin receptor blocker for an animal model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis and changes of content and expression of surfactant protein A (SP-A) in the injured lungs.**

H. Takahashi, M. Shiratori, M. Otsuka, H. Chiba, S. Murakami

*Third Department of Internal Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine.*

We previously reported an expression of angiotensin II type 1 (AT1) receptor and effects of angiotensin receptor blocker (ARB) in lungs of a rat model of bleomycin (BLM)-induced pulmonary fibrosis. We examined changes of amount and expression of surfactant protein A (SP-A) in injured lungs and investigated the effects of ARB on those of SP-A. Amount of SP-A in lung tissue homogenate significantly increased on and after day 3 in BLM group but not in ARB+BLM group. In a model of BLM-induced lung injury, alveolar collapse and hyperplastic epithelial cells were observed histologically on day 7 after BLM treatment. The hyperplastic cells expressed all surfactant proteins, indicating they were alveolar type II cells. ARB inhibited morphological changes including hyperplasia of alveolar type II cells resulted from lung injury, suggesting ARB may provide a new preventive and therapeutic approach for acute lung injury.



## はじめに

レニン・アンジオテンシン系は全身に作用し、循環動態の安定に重要な役割を有する。Angiotensin II (ANG-II) は ANG-II type 1 (AT1) 受容体を介してカテコールアミンやアルドステロンの分泌や血圧上昇に関与することは知られているが<sup>1)</sup>、線維芽細胞や血管平滑筋細胞の増殖による心肥大や線維化<sup>2)</sup>、アポトーシスの誘導<sup>3)</sup>、好中球誘導<sup>4)</sup>などを生ずることが知られている。我々はプレオマイシン (BLM) 肺線維化動物モデルを用いて、肺洗浄液細胞および肺組織における AT1 の増加とアンジオテンシン受容体拮抗薬 (angiotensin receptor blocker: ARB) による肺線維化の抑制効果を報告した<sup>5)</sup>。さらに前年度の研究報告において、BLM 投与7日後の炎症性変化を最も顕著に認める時期に一致し、末梢肺の上皮細胞が島状に過形成すること、また、同時期に肺組織中サーファクタント蛋白質 (SP)-A が著増することを明らかにした。本年度の研究目的は、過形成した上皮細胞の由来を細胞特異的蛋白質の免疫組織学的手法によって明らかにすること、過形成上皮細胞と著増する SP-A との関係性を明らかにすることである。

## 研究方法

雄 Sprague-Dawley ラット (生後6週) の気管内にプレオマイシン 0.3 mg/kg を投与し肺線維症モデルを作成した (BLM 群)。プレオマイシン投与の2日前から ARB である candesartan cilexetil を飲水中に 10 mg/kg/day になるように調整し投与した (ARB+BLM 群)<sup>5)</sup>。

プレオマイシン投与日を day 0 とし、day 1, 3, 7, 14, 21 に深麻酔下に屠殺した。下大静脈より血清を採取した後、生理食塩水 7 ml ずつ 5 回、両肺を洗浄、回収液を遠心分離し細胞数と細胞分画を計測後、上清を肺洗浄液として保存した。洗浄後の肺をホモジナイズし、残渣を遠心除去して肺組織のホモジネート分画とした。肺組織ホモジネート中の SP-A は ELISA 法で測定した<sup>6)</sup>。

ホモジネート採取とは別に、以下の方法で組織所見検討を目的に肺組織を採取した。気管内に 10%ホルマリンを 20 cmH<sub>2</sub>O の圧で注入固定後、パラフィン包埋し、hematoxylin-eosin 染色で形態学的変化を観察した。SP の免疫染色は ABC 法により行い、DAB により可視化した。抗体は全てポリクローナル抗体である。SP-A に対する抗体は ELISA 用の抗体を、SP-B, SP-C, SP-D に対する抗体は Santa Cruz 社 (Santa Cruz, CA) 製を用いた。

## 研究成果

肺組織中の SP-A 量は BLM 群で day 3 以降、約 3 倍の有意な増加を示したが、BLM+ARB 群では SP-A の量的変動は観察されなかった。

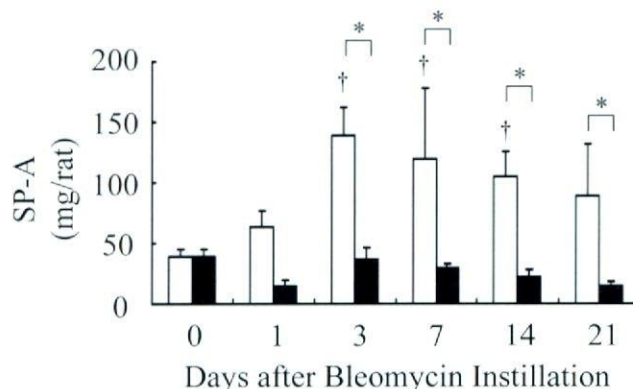


図1 BLM 群 (open column) および ARB+BLM 群 (closed column) の肺組織ホモジネート中の SP-A 量の変化。  
† p<0.05 vs day 0, \* p<0.05.

肺障害の最も高度な部位において肺胞の虚脱と炎症細胞浸潤が著明であり、その内部に SP-A 陽性の比較的大型の細胞による管腔様構造が島状に認められた (図 2-A)。高度な炎症部位の周辺には SP-A 陽性の比較的大型の上皮細胞が肺胞隔壁を被覆して一列に配列する所見が認められた (図 2-B)。同じプレパラート上の比較的正常な部位と比較して、細胞内の SP-A の染色性はやや増加していた。また、間質全体にも SP-A の染色性が認められた。

一方、上皮細胞の過形成所見は BLM+ARB 群の肺組織に認められず、間質の染色性も認められなかった (図 3)。この結果は BLM+ARB 群の肺組織において、SP-A 量が増加しなかった結果と一致する。



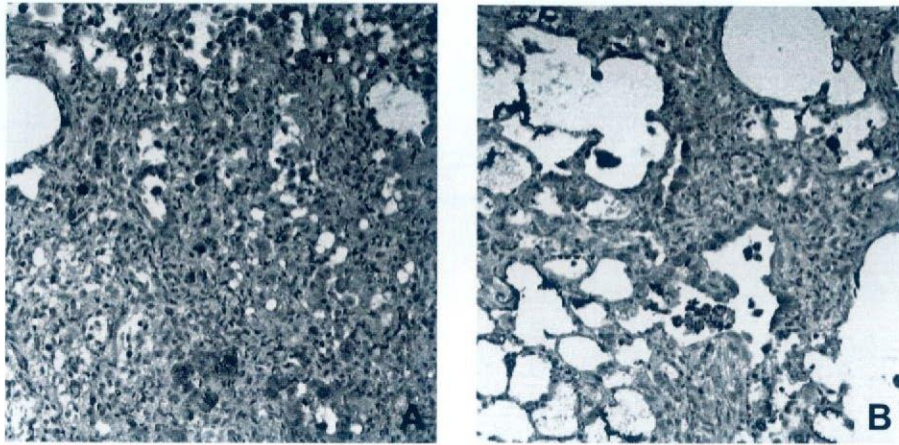


図2 BLM 群肺組織 (BLM 投与7日目) の SP-A 免疫染色所見. A; 虚脱の著しい部位の拡大像, B; 周囲の過形成上皮細胞.

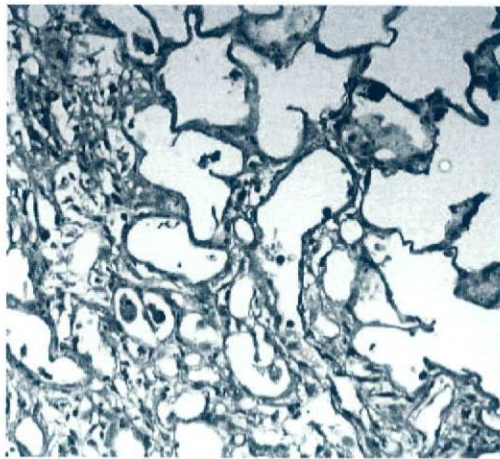


図3 ARB+BLM 群肺組織 (BLM 投与7日目) の SP-A 免疫染色所見.

SP-A 以外のサーファクタント蛋白質である SP-B, SP-C, SP-D の免疫染色では, SP-A 同様に過形成上皮細胞に染色性を認めた. SP-B, SP-C は比較的正常な部位と比較して, 陽性細胞の数的増加を認めた. SP-D は数的増加のみならず, 個々の細胞の染色性も増加していた (図4).

## 考 察

これまで, 特発性肺線維症患者の肺腔にアンジオテンシン変換酵素 (ACE) が高濃度に存在することや, 放射線肺障害動物モデルにおいても肺組織ホモジネート中で ACE や ANG-II が増加することなど, 間質性肺疾患の病態にレニン・アンジオテンシン系が関与していることが報告されている<sup>7,8)</sup>. 我々は BLM 肺障害モデルにおいて ARB が TGF- $\beta$  の産生および組織学的な肺線維化を抑制す

ること明らかにした<sup>9)</sup>. 前回の本研究班の報告で BLM 障害肺組織における SP-A 量が有意に増加したことを報告した. SP-A 増加の原因を行う目的でサーファクタント蛋白質の発現を検討した.

BLM 投与7日後の肺組織では肺胞の虚脱と考えられる所見が認められ, その内部および周辺に過形成上皮細胞を認めた. 免疫染色ではこれらの過形成上皮の細胞質に SP-A の強い染色性が認められた. また, 虚脱している領域の間質全体に SP-A の染色性が認められ, 両者が BLM 障害肺組織における SP-A 量増加に関与するものと考えられた. ARB 投与群では過形成上皮が認められず, また, 肺組織の SP-A 量の増加が有意に抑制されたことから, この過形成上皮が SP-A 量増加の原因であることの裏づけになるものと考えられる.

この過形成上皮には SP-A 以外のサーファクタント蛋白質である SP-B, SP-C, SP-D の染色性も認められた. 特に SP-C は肺胞 II 型上皮細胞にのみ発現する SP であり, したがって, 過形成した上皮細胞はクララ細胞由来ではなく, 肺胞 II 型上皮細胞であることが示された. 比較的正常な領域の肺胞 II 型細胞と比較して, 過形成肺胞 II 型細胞における各サーファクタント蛋白質の発現は量的に増加, 陽性細胞数も増加しており, 過形成に伴う産生増加が示唆された. SP-B, SP-C は疎水性の蛋白質であり, 肺胞表面張力低下作用から肺胞の虚脱を防ぐ生理活性を有するが, 両者の産生増加は, BLM 投与によって生ずる傷害肺組織の肺胞虚脱に対する反応である可能性が考えられる. これに対して, SP-A, SP-D は親水性の蛋白質であり, 肺胞表面張



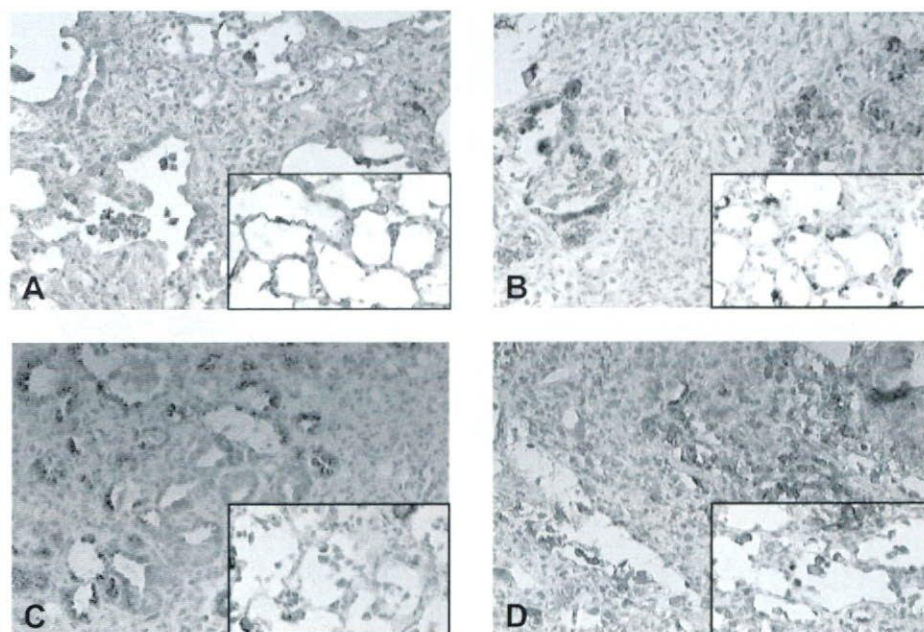


図4 BLM群肺組織（BLM投与7日目）の免疫染色所見。A；SP-A，B；SP-B，C；SP-C，D；SP-D。Insetは周囲の比較的正常な部位の染色像を示す。

力低下作用は乏しく、主として細菌、ウイルス、真菌などに対する自然免疫に重要な役割を有することが知られている<sup>9)</sup>。急性肺障害におけるSP-A、SP-Dの作用は明らかではないが、急性肺障害においても何らかの役割を有する可能性が考えられる。

今回用いたBLMなどの侵襲により、肺胞Ⅰ型細胞が傷害されると肺胞Ⅱ型細胞の過形成により再上皮化が生じ修復と治癒に至るが、このような過形成肺胞Ⅱ型細胞はⅣ型コラーゲンなどの基底膜成分を含めた細胞外基質やFGFなどの増殖因子を産生し、また、EGFのようなautocrine的に作用する増殖因子をも産生し、肺胞構造の修復に大きく関与する。BLM群において認められた肺胞Ⅱ型上皮細胞の過形成所見は、障害を受けた肺胞構造を修復するための反応と考えられ、肺組織中のSP-Aは肺胞上皮傷害の程度を反映するものと考えられる。ARBはBLMによる肺障害を軽減した結果、肺胞Ⅱ型細胞の過形成を抑制した。このことは肺胞上皮細胞のアポトーシスや好中球誘導をARBがATIを介して抑制し、肺障害を軽減したものと考えられた。

## 結 論

BLM肺障害により肺胞Ⅱ型上皮細胞の過形成所見が認められた。SP-Aは過形成肺胞Ⅱ型上皮細胞で強く発現し、組織中のSP-A量が肺胞上皮障害の程度を反映するものと考えられた。ARBは組織の線維化のみならず肺胞上皮障害を抑制し、急性肺障害に対する予防ならびに治療法としての可能性が示唆された。

## 参考文献

- 1) Murphy TJ, Takeuchi K, Alexander RW. Molecular cloning of AT1 angiotensin receptors. *Am J Hypertens* 1992, 5: 236S-242S.
- 2) Tanaka A, Matsumori A, Wang W, *et al.* An angiotensin II receptor antagonist reduces myocardial damage in an animal model of myocarditis. *Circulation* 1994, 90: 2051-2055.
- 3) Wang R, Zagariya A, Ang E, Ibarra-Sunga O, Uhal BD. Fas-induced apoptosis of alveolar epithelial cells requires ANG II generation and receptor interaction. *Am J Physiol* 1999, 277: L1245-1250.
- 4) Elferink JG, de Koster BM. The stimulation of

- human neutrophil migration by angiotensin II: its dependence of  $Ca^{2+}$  and the involvement of cyclic GMP. *Br J Pharmacol* 1997, 121: 643-648.
- 5) Otsuka M, Takahashi H, Shiratori M, Chiba H, Abe S. Reduction of bleomycin induced lung fibrosis by candesartan cilexetil, an angiotensin II type I receptor antagonist. *Thorax* 2004, 59: 31-38.
- 6) Shimizu H, Miyamura K, Kuroki Y. Appearance of surfactant proteins, SP-A and SP-B, in developing rat lung and the effects of *in vivo* dexamethasone treatment. *Biochim Biophys Acta* 1991, 1081: 53-60.
- 7) Specks U, Martin WJ 2nd, Rohrbach MS. Bronchoalveolar lavage fluid angiotensin-converting enzyme in interstitial lung diseases. *Am Rev Respir Dis* 1990, 141: 117-123.
- 8) Song L, Wang D, Cui X, Shi Z, Yang H. Kinetic alterations of angiotensin-II and nitric oxide in radiation pulmonary fibrosis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1998, 17: 141-150.
- 9) Wright JR. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. *Nat Rev Immunol* 2005, 5: 58-68.



# IIP 以外の類縁疾患

## 環境中鳥関連抗原測定を試み

倉持 仁 宮崎 泰成 大谷 義夫 稲瀬 直彦  
吉澤 靖之\*

慢性鳥飼病では現在の鳥飼育がなくても無自覚曝露（羽毛布団の使用，宿・ホテルでの羽毛布団など）あるいは間接曝露（隣人の鳩飼育，神社・公園・駅での野鳥の群棲など）を経験している可能性がある。無自覚間接曝露の実態を明らかにして，抗原回避の定量的指標の為に環境中鳥関連抗原量測定を試みた。家兎をPDE（pigeon dropping extracts）で免疫し抗血清を作製。精製IgG分画をビオチン化し1次抗体として使用。鳩飼育環境においてエアサンプラーで収集した検体をantigen-capture ELISA法にて測定した。本法を用いて環境中の鳥関連抗原量測定が可能であった。屋外の鳩飼育でも室内で抗原曝露が起こりうることが確認できた。鳥飼病における無自覚あるいは間接曝露を避ける為に環境中抗原量の測定は臨床上有用と考えられた。更に種々の環境での検討を行う予定である。

### **Measurement of pigeon-related antigens in patient's indoor and outdoor environment.**

Jin Kuramochi, Yasunari Miyazaki, Yoshio Ohtani, Naohiko Inase  
Yasuyuki Yoshizawa

*Department of Integrated Pulmology, Tokyo Medical and Dental University*

We hypothesized that indirect and unrecognized antigen exposure is likely to develop chronic bird fancier's lung (cBFL) from our experience of seeing patients. Indirect and unrecognized exposures include raising pigeons by neighbors, a flock of pigeons and wild birds in a park, a shrine and a railway station. This indirect or unrecognized exposure is proved to be the case when we find a concentration of avian-related antigens in home and outdoor environments. To pursue this possibility, we obtained samples by collecting air in various environments with high volume air-sampler (HV-500F) and performed antigen-capture ELISA using avidin-biotin system. As a preliminary data, we were able to assess pigeon antigens in outdoors. This method may be useful to prove the existence of antigen in indoor and outdoor environments of cBFL and probable cBFL patients.



## はじめに

慢性鳥飼病では現在鳥を飼育していなくとも無自覚曝露あるいは間接曝露により発症するとの報告例<sup>1)</sup>が散見される。また、鳥関連慢性過敏性肺炎は特発性間質性肺炎との鑑別が困難な疾患であり、その診断には詳細な病歴聴取に加え、自宅・職場の環境調査が重要である。鳥関連慢性過敏性肺炎、特に潜在発症型では血清中特異抗体価の上昇を認める例は35%と少なく<sup>2)</sup>、現在の鳥飼育がなくとも間接曝露にさらされている症例では患者からの病歴聴取に工夫が必要であり短時間での環境調査では抗原曝露を明らかにすることが難しく誤診につながる恐れがある<sup>3)</sup>。一方、鳥関連慢性過敏性肺炎と診断確定後、治療を行う際に最も重要なことは確実な抗原回避であり<sup>4)</sup>、環境中鳥関連抗原量の評価を行うことで、確実な指標ができ患者も納得して環境改善に取り組むことができると考えられる。また、肺病勢進行時においてその原因として抗原への再曝露と感染などの二次的な原因との鑑別を行ううえでも環境中の鳥関連抗原量の測定系を確立することは必要である。そこで、抗PDE抗体を用いたantigen-capture ELISA法での環境中鳥関連抗原量の測定を行った。

## 方 法

### エアサンプリング

ハイボリウムエアサンプラーHV-500F型及びフッ素樹脂処理ガラス繊維フィルターModel T60A20 110mm(柴田科学株式会社, 東京, 日本)を用いて環境中のエアサンプリングを行った。①鳩1羽をベランダにて飼育している鳥籠内および2m離れた室内(健常鳩飼育者宅)②鳩を300羽飼育する鳩小屋内および鳩小屋から27m離れた地点(鳥関連急性過敏性肺炎患者宅)にて環境測定を行った。採取したサンプルをフィルターごと細断し、Ca、Mg不含リン酸緩衝食塩水15mlに浸し6時間以上室温にて振とうした。Acrodisc 25mm Syringe Filter (w/0.45 $\mu$ m Supor Membrane, PALL

Gelman Laboratory, Ann Arbor, USA)にて不純物を除去した後、ELISAを行うまで-20 $^{\circ}$ Cにてサンプルを保存した。また、鳥関連急性過敏性肺炎患者の自宅内を掃除した掃除機内のゴミを同様に溶解し、antigen-capture ELISA法を行った。

### 抗血清の作製とビオチン標識

生後5ヶ月のメスのNew Zealand white rabbitにPDE及び抗原と等量のincomplete Freund's adjuvantを3回皮下免疫(初回:PDE300mg, 2週後2回目/3週後3回目:100mg)した。PDE免疫8週後、12週後にPDEに対する抗体価の上昇を確認後、抗血清を採取し-80 $^{\circ}$ Cで保存した。Melon Gel IgG Purification Kit (PIERCE Biotechnology, Inc., Rockford, USA)を用いてIgG分画を精製後、Biotin Labeling Kit-NH2 (DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC., Kumamoto, Japan)にてビオチン標識を行った。

### antigen-capture ELISA

96穴プレート(Immulon 2HB Flat Bottom Microtiter Plates, Thermo LabSystem, Waltham, USA)にNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/NaHCO<sub>3</sub>バッファー(pH9.6)で希釈した免疫前血清及び抗血清100 $\mu$ l/wellを一晩4 $^{\circ}$ Cで固相化した。プレートを3回0.05%Tween20加リン酸緩衝液(PBST)にて洗浄し0.5%BSA in PBSTween250 $\mu$ l/wellにて37 $^{\circ}$ Cで1時間ブロッキングを行った。PBSTにてプレートを3回洗浄後、スタンダード曲線作成のための希釈したPDE溶液(10<sup>-7</sup>~10<sup>-2</sup>mg/ml)と採取したサンプルを各100 $\mu$ l/well入れ、1時間37 $^{\circ}$ Cで静置した。プレートをPBSTで5回洗浄後、0.5%BSA in PBSTで希釈したビオチン標識抗体を入れ1時間37 $^{\circ}$ Cで静置した。プレートをPBSTで5回洗浄後、調整したVECTASTAIN ELITE ABCキット(Vector Lab, Burlingame, USA)をプロトコールに従い100 $\mu$ lをウェルに入れ室温にて30分静置した。PBSTで5回洗浄後o-phenylenediamine dihydrochlorideにて発色させ、490nmにてO. D. 値を測定した。

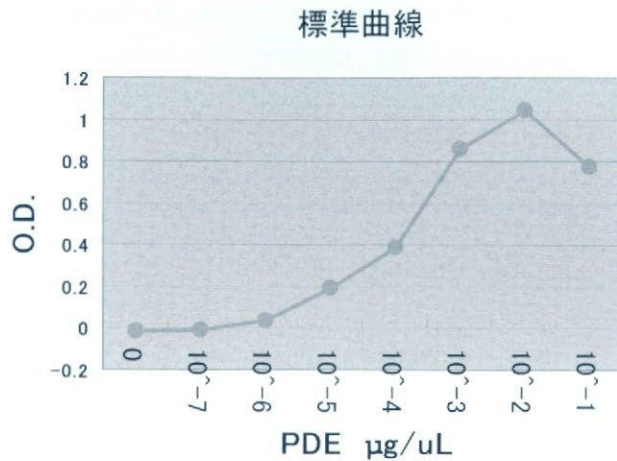


図 1

## 結 果

等倍希釈した PDE 溶液 ( $10^{-7} \sim 10^{-2} \text{mg/ml}$ ) から得られた標準曲線は図 1 であった。標準曲線から O. D. 値 0.1 ~ 0.8 の間で濃度と O. D. が linear な関係にあるため、この間で測定することが妥当であると考えられた。

免疫前血清及び抗血清の標準曲線をサブトラクトし、4-parametric logistic model にて近似式をえた。

測定場所	採取時間 (h)	O.D. (at 490nm)	推定抗原量 (ng/m <sup>3</sup> )
ハト小屋の中(300羽)	0.07	0.804	239
ハト小屋の中(1羽)	0.15	0.390	22
自宅玄関	9	0.000	0

図 2 測定結果 (1)

この近似式をもとに各サンプルから得られた O. D. 値から、採取した空気量あたりの推定抗原量を算出した。結果は図 2・3 に示す。まず、陽性コントロールとして 1 羽、300 羽を飼育している環境内で測定を短時間行ったが、大量の鳥関連抗原が検出された。(図 2)

図 3 に、鳩を 1 羽ベランダにて飼育している環境における 2m 離れた室内での測定結果を示す。環境採取時間を増やすことで抗原が検出可能となることがわかった。鳥小屋から 27m 離れた地点でも採取時間を増やすことで抗原量の推定が可能であった。

## 考 察

過去の環境中の鳥関連抗原測定の報告例<sup>5,6)</sup>では、塵や空気中の鳥関連抗原の測定を行っているがその測定感度は低く、ポリクローナル抗体を用いていることより特異度も低い。Curtis らの方法<sup>5)</sup>ではエアサンプリング量 (7 ~ 8m<sup>3</sup>) が少なく、direct competitive ELISA 法のため感度が不十分であることが考えられ、実際の臨床への応用は困難であった。しかし、今回われわれが用いた方法ではハイボリュームエアサンプラーを用いたこと、sandwich ELISA, Avidin-Biotin system を用いることにより、以前の報告例よりも感度が高くなっており、臨床への応用が可能と考えられた。どの程度のエアサンプリング量が適切かなど今後検討を要するが、無自覚あるいは間接曝露の評価に有用な

測定場所	採取時間 (h)	エアサンプリング量 (m <sup>3</sup> )	O.D. at 490 nm	推定抗原量 (ng/m <sup>3</sup> )
<b>ベランダにハト1羽 距離2m</b>				
	3	144	0.000	0
	6	288	0.070	0.16
	18	864	0.178	0.35
<b>急性鳥飼病患者宅 ハト120羽を自宅から27mの小屋で飼育</b>				
ハト小屋から27mの自宅玄関前	23	1087	0.060	0.02
ハト小屋から1mの屋外	1	48	0.094	1.53
(掃除機内のごみ)	—	—	0.598	240ng/ml

図 3 測定結果 (2)



可能性があることが示された。今後より高感度の測定系を検討し正常者および鳥関連過敏性肺炎を疑う患者の環境中鳥関連抗原の測定を行う予定である。

#### 参考文献

- 1) du Marchie Sarvaas GJ, de Merkus PJ, Jongste JC. A family with extrinsic allergic alveolitis caused by wild city pigeons: A case report. *Pediatrics*. 2000; 105: 62-65
- 2) Ohtani Y, Yoshizawa Y *et al.* Clinical features of recurrent and insidious chronic bird fancier's lung. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003; 90 (6) : 604-10
- 3) Fink JN, Yoshizawa Y *et al.* Needs and opportunities for research in hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 171 (7) : 792-8
- 4) Patel AM, Ryu JH, Reed CE. Hypersensitivity pneumonitis: current concepts and future questions. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 108 (5) : 661-70
- 5) Curtis L., Diblee S. *et al.* Pigeon allergens in indoor environments: a preliminary study. *Allergy*. 2002; 57: 627-31
- 6) Craig TJ, Salata K. *et al.* Bird antigen persistence in the home environment after removal of the bird. *Ann Allergy*. 1992;69 (6) : 510-2

# 外科的肺生検で UIP 類似病変 ("others") を呈した 間質性肺炎症例の検討

河村 哲治<sup>1</sup> 望月 吉郎<sup>1</sup> 中原 保治<sup>1</sup> 佐々木 信<sup>1</sup>  
西尾 智尋<sup>1</sup> 塚本 宏壮<sup>1</sup> 水守 康之<sup>1</sup> 真弓哲一郎<sup>1</sup>  
小橋陽一郎<sup>2</sup>

外科的肺生検にて UIP 類似病変 ("others") を呈した 40 例を検討した。膠原病 5 例、慢性鳥飼病 5 例、原因不明が 30 例であった。原因不明の中には環境との関連が疑われる症例や、自己抗体陽性症例が含まれていた。"others" 症例の中には二次性の間質性肺炎が含まれている可能性があり、慎重な検討が重要であると思われた。

## Clinical study with interstitial pneumonia of UIP-like pattern ("others")

Tetsuji Kawamura<sup>1</sup>, Yoshirou Mochizuki<sup>1</sup>, Yasuharu Nakahara<sup>1</sup>, Shin Sasaki<sup>1</sup>  
Chihiro Nishio<sup>1</sup>, Hiroaki Tsukamoto<sup>1</sup>, Yasuyuki Mizumori<sup>1</sup>, Mayumi Tetsuichirou<sup>1</sup>  
Youichirou Kobashi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of internal medicine, NHO Himeji Medical Center

<sup>2</sup> Department of Pathology, Tenri Hospital

We examined forty cases of biopsy-proven UIP-like interstitial pneumonia ("others"). These 40 cases consist of 5 collagen vascular disease, 5 chronic bird fanciers' lung, and 30 unknown cause cases (including circumstance-related cases and autoantibody-positive cases). Some cases of interstitial pneumonia which shows pathologically "others" may be secondary interstitial pneumonia, and so further examination is necessary.



研究目的

ATS/ERS statement 以後, clinical IPF と biopsy-proven IPF の区別が重要となっており, UIP パターンの概念に関しても未だ不明な点が多い. 従来なら UIP パターンとされていた症例で, 胸膜側が spare されたり小葉中心性の病変が自立つなど, 病変分布が異なるものが少なからず存在することが知られている. このような UIP に類似するがやや異なる病理所見を今回われわれは, UIP 類似病変, 以下“others”, と命名し, clinical IPF と異なる病態を反映しているのかを検討したので報告する.

研究方法

姫路医療センターにおいて 1999 年から 2005 年 10 月までに行われた外科的肺生検症例 133 例中, IIPs は 87 例で, そのうち“others”は 40 例であった. この 40 例に関して, 臨床的検討を行った. なお解析に際してはプライバシー保護の観点に留意し守秘義務を徹底した.

研究結果

40 例の生検時平均年齢は, 63 才 (39 ~ 75 才), 男性 25 例, 女性 15 例, 病因としては, 膠原病 5 例, 慢性鳥飼病 5 例, 原因不明が 30 例であったが, 原因不明の中には環境との関連が疑われる症例や, 自己抗体陽性で IIPs には入れ難いが膠原病の診断基準も満たさない症例が含まれていた (表 1). 表 2 に血液検査および BALF 所見を示すが, BALF 総細胞数増加とリンパ球増多が認められた. 画像所見では, 蜂窩肺なしが 57.5%, 下肺優位症例は 30%であった (表 3). 予後に関しては, 20 例で無治療経過観察としたが悪化は 2 例にとどまった. また治療症例 20 例中追跡し得た 19 例に関しては, 改善 6 例, 不変 4 例, 悪化 9 例 (死亡 6 例含む)であった (表 4).

症例を呈示する.

症例 1, 66 才女性, 喫煙歴なし, ペットなし.

表 1 病因

膠原病性	5
RA	3
RA+MPA	2
慢性鳥飼病	5
原因不明	30
鳥飼育歴あり	7
自宅で増悪	2
膠原病疑い*	5

\* SjS 疑い 1 例, ds-DNA 陽性 1 例, Jo-1 陽性 1 例, ANA 10240 倍 2 例

表 2 血液検査および BALF 所見

平均 KL-6 (U/ml)	1731	(353 ~ 7070)
平均 PaO <sub>2</sub> (Torr)	82.3	(64.9 ~ 101.5)
平均%VC	81.7	(31.4 ~ 111)
平均%DLco	63.2	(29.6 ~ 105.6)
BALF 平均総細胞数 (×10 <sup>5</sup> /ml)	3.9	(2 ~ 9)
BALF 平均 Eos (%)	2.9	(0 ~ 15)
BALF 平均 Lym (%)	23.5	(2 ~ 64)
BALF 平均 Neu (%)	8.5	(0 ~ 55)

表 3 画像所見

	蜂窩肺あり	蜂窩肺なし	計
上肺優位	5	7	12(30%)
下肺優位	4	8	12(30%)
均等	8	8	16(40%)
計	17(42.5%)	23(57.5%)	40

表 4 予後

例数	改善	不変	悪化 (うち死亡)	
経過観察	20	0	18	2 (0)
治療	19*	6	4	9 (6)

\* 1 例: 消息不明

H12 年 9 月頃より咳嗽出現, H13 年 4 月に紹介となる. 軽度の多発関節痛と筋肉痛, 指のこむら返りを認めるが, DOE 等呼吸器症状は認めず. 身体所見では, 左示指に発赤・皮膚剥離あり, 吸気時 fine crackles 聴取. 検査所見では, WBC 8900 (Eos 1%), CRP 2.29, KL-6 1990, RA (-), ANA 640 倍 (nucleo.), dsDNA 抗体 (+), PaO<sub>2</sub> 96.3, % VC 99.6, % DLco 64.3, BALF 総細胞数 2.0×10<sup>5</sup>/ml, 細胞分画 Eos 1%, Neu 6%, Ly 16%であった. 自己抗体陽性であるが

1 NHO 姫路医療センター内科  
2 天理よろづ相談所病院病理

明らかな膠原病の診断基準を満たさなかった。画像所見 (図 1) では、下肺優位の間質影で、HRCT にて蜂窩肺を認めた。胸腔鏡下肺生検で "others" と診断、無治療で経過観察を行っているが増悪を認めていない。

症例 2, 69 才男性, パン製造業, 喫煙歴: 20 本 × 45 年, 住居; 木造築 38 年, ペット; 犬: 20 年, インコ: 30 年前 1 羽と半年前から 2 羽飼育歴あり, H16 年 1 月頃より咳嗽出現, 当科紹介となる。パ

チ状指なし, 吸気時 fine crackles わずかに聴取, 検査所見は, WBC 4400 (Eos 6%), CRP 0.15, KL-6 1110, 各種自己抗体 (-), PaO<sub>2</sub> 87.6, %VC 75.1, %DLco 37.9, BALF 総細胞数  $2.0 \times 10^5$ /ml, 細胞分画 Ly 63%, MΦ 37%であった。画像所見 (図 2) では、上肺優位で蜂窩肺認めた。胸腔鏡下肺生検で "others" と診断, 東京医科歯科大学にて精査行ったところ, 鳥関連抗原の抗体および LST は陰性であったが, 吸入誘発試験陽性であり, 慢性鳥飼病

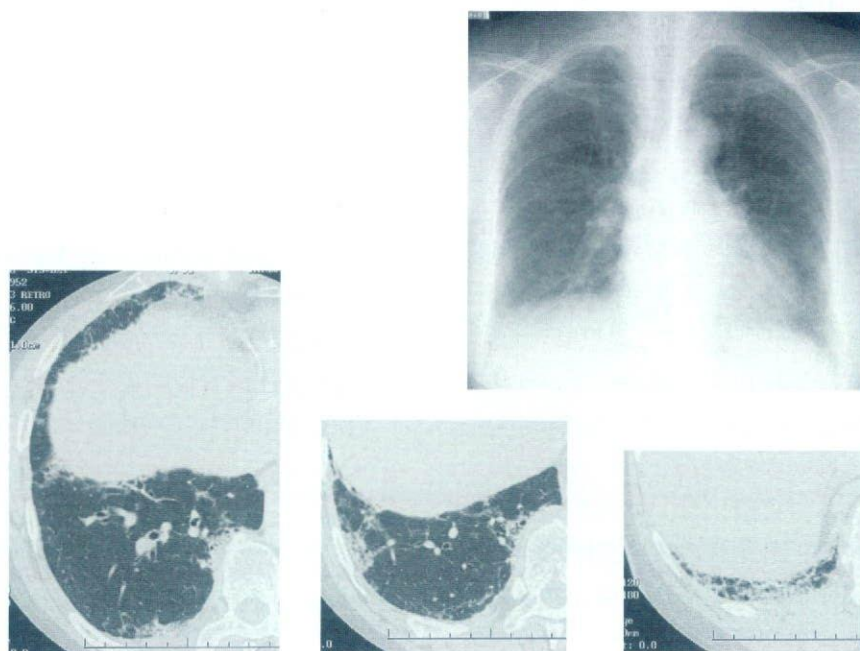


図 1

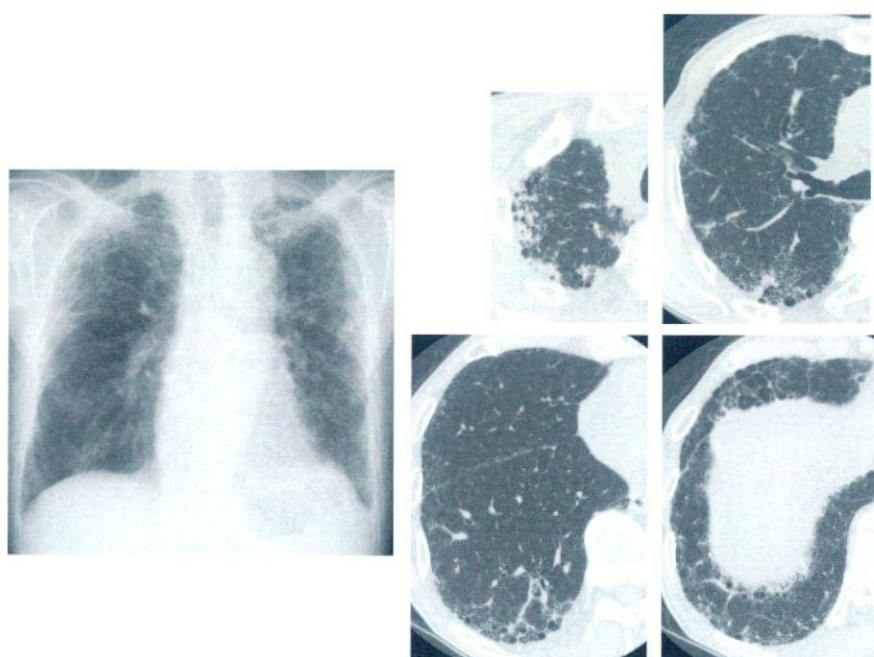


図 2