

P. acnes 菌体と樹状細胞を用いたマウス肺肉芽腫モデルの作成： Th1 ケモカインを標的とした治療の可能性

西岡 安彦 岸 潤 曾根 三郎*

近年サルコイドーシスの抗原物質として *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) が注目されている。今回我々は、*P. acnes* 菌体および樹状細胞を用いてマウス肺肉芽腫モデルを作成し、免疫学的解析および新たな治療の検討を行った。本モデルでは多核巨細胞を含む肉芽腫が菌体投与後 1 週間をピークに認められ、2 週間にはほぼ消失した。気管支肺胞洗浄液では、Th1 サイトカインおよび Th1 ケモカインである interferon-inducible protein-10 (IP-10)/CXCL10 および monokine-induced by interferon γ (Mig)/CXCL9 の増加が認められた。マイクロアレイを用いたサイトカイン・ケモカインの網羅的解析から、肉芽腫形成に一致して最も強く発現していた分子は IP-10/CXCL10 および Mig/CXCL9 であった。そこで、CXCL9 および CXCL10 のレセプターである CXCR3 のアンタゴニスト TAK779 を用いて、肉芽腫形成に対する効果を検討した結果、TAK779 の投与により肺肉芽腫症形成が抑制された。以上より、肺肉芽腫に対する Th1 ケモカインを標的としたアプローチの可能性が示唆された。

Pulmonary granulomatosis induced by *Propionibacterium acnes* and dendritic cells: implication of Th1 chemokine-targeted therapy

Yasuhiko Nishioka, Jun Kishi, and Saburo Sone

*Department of Internal Medicine and Molecular Therapeutics, Institute of Health Biosciences,
The University of Tokushima Graduate School*

Sarcoidosis is a systemic granulomatous disease with unknown cause(s). Recent studies showed a higher level of *Propionibacterium acnes* genome in lymph nodes of patients with sarcoidosis. In the present study, we examined the granulomatous reactions and immune responses induced by heat-killed *P. acnes* in the lungs in mice. The immunizations of C57/BL6 mice using heat-killed *P. acnes* were performed every two weeks. One week after the second immunization, mice were challenged intravenously with 1mg of heat-killed *P. acnes*. The granulomatous change of the lungs was evaluated histologically. Dendritic cells (DCs) generated from bone marrow cells with GM-CSF and IL-4 were administered with *P. acnes*. The expressions of Th1 type cytokines and chemokines were examined using microarray and ELISA. The cell differentiation of bronchoalveolar lavage was also evaluated. Co-administration of DCs enhanced the formation of granuloma in the lungs. Analyses of BAL showed the accumulation of neutrophils and then lymphocytes in the lungs after challenges of *P. acnes*. The microarray study demonstrated that Mig/CXCL9 and IP-10/CXCL10 genes were strongly up-regulated during the granuloma formation. ELISA also showed that Mig/CXCL9 and IP-10/CXCL10 as well as Th1 cytokines including TNF- α and IFN- γ were elevated in BALF. Targeted therapy using CXCR3 antagonist TAK779 reduced the granulomatous formation in the lungs. These results suggest that *P. acnes* can induce the pulmonary granulomatosis in mice associated with Th1 immune responses, which resemble to sarcoidosis in human, and the targeted therapy to Th1 chemokines might be useful strategy for reducing pulmonary granulomatosis.

はじめに

サルコイドーシスは全身の諸臓器に乾酪壊死のない類上皮細胞肉芽腫を形成する原因不明の炎症性疾患である。予後は一般的には良好であるが、一部には肺病変が線維化を起し、線維化が慢性的に進行する症例も存在する。このような症例に対する有効な治療方法は確立されておらず、線維化が進行すると呼吸不全をきたす¹⁾。

肉芽腫形成の病態に関してはサイトカイン、ケモカインの関与が明らかとなっており、疾患感受性のある個体において、何らかの抗原により惹起される Th1 タイプの免疫反応とされている。抗原物質については複数の候補が存在するが、*Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) はサルコイドーシス患者の病変部リンパ節から分離された唯一の微生物で、本邦の江石らによる解析からサルコイドーシスの原因のもっとも有力な候補の 1 つと考えられている^{2,3)}。

P. acnes による肉芽腫モデルとして、前感作したラットやウサギに投与することで肺に sarcoidosis 類似の類上皮細胞性肉芽腫を形成することが報告されている⁴⁾。また、最近マウスにおいても同様に *P. acnes* 菌体を用いて肺肉芽腫モデルが報告されているが、サルコイドーシスで見られる肉芽腫とはいくつかの点で相違が認められる。今回我々は、*P. acnes* と樹状細胞を同時に投与することで多核巨細胞を含む肺肉芽腫モデルを作成し、その免疫学的解析と、新たな治療の検討を行った。

方 法

1) *Propionibacterium acnes* の処理

Propionibacterium acnes (ATCC) を熱処理し抽出した菌体成分を使用した。

2) 樹状細胞の誘導

C57BL/6 マウスの骨髄から抗体 (anti-Lyt 2, anti-L3T4, anti-B2.20: ATCC) および補体を用いてリンパ球を除去し、その後 over night 培養し付着性の細胞を除去した。骨髄樹状細胞前駆細胞を GM-CSF

(1,000 U/ml) (Kirin brewer inc.) と IL-4 (1,000 U/ml) (Pepro Tech) で刺激し 6 日間培養した。未成熟樹状細胞を *P. acnes* で刺激し 1 日培養後、活性化樹状細胞として使用した。

3) モデルマウス作成

C57BL/6 マウスに *P. acnes* 菌体 (1 mg) と未熟樹状細胞 (1×10^6) を 2 週間隔で 2 回皮下注射することにより免疫を行い、2 週後に *P. acnes* 菌体 (1 mg) と活性化樹状細胞 (1×10^6) を静脈内投与し抗原暴露を行った (図 1)。

4) 肺組織におけるケモカイン、サイトカイン mRNA 発現の測定

抗原暴露前、暴露 3, 7, 14 日後にマウスを sacrifice し、Isogen[®] を用いて totalRNA を抽出した。マウスサイトカイン・ケモカインチップ (カケンジェネティクス) を用いマイクロアレイを行った。

5) 気管支肺胞洗浄 (bronchoalveolar lavage: BAL) の細胞数、細胞分類、ケモカイン、サイトカイン濃度の検討

抗原暴露後、day 0, 1, 2, 3, 7, 14 に両肺で BAL を施行し、総細胞数、細胞分画を検討した。BAL 中のケモカイン、サイトカイン (IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-5, IP-10, MIG) 濃度を ELISA で測定した (R&D systems)。

6) ケモカインレセプターアンタゴニスト (TAK-779) を用いた治療実験

Th1 タイプのケモカインレセプターである CCR5 と CXCR3 を選択的に block する TAK-779 (N,N-dimethyl-N-[4-[[[2-(4-methylphenyl)-6,7-dihydro-5H-benzocyclohepten-8-yl] carbon-yl] amino] benzyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-aminium chloride) (武田製薬) を抗原暴露の 4 日前より 6 日後まで隔日で皮下投与し、7 日後の肺組織、BAL の総細胞数、細胞分画を非投与群と比較した。

結 果

P. acnes 菌体と活性化樹状細胞 (1×10^6) を静脈内投与後 7 日めにマウスを sacrifice し、肺の組織学的検討を行った (図 1)。その結果、マウス肺に多核巨細胞を伴うヒトサルコイドーシス類似の肉芽腫が認められた (図 2)。

抗原暴露直前から day 3, 7, 14 でのマイクロアレイ

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

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 分担研究者

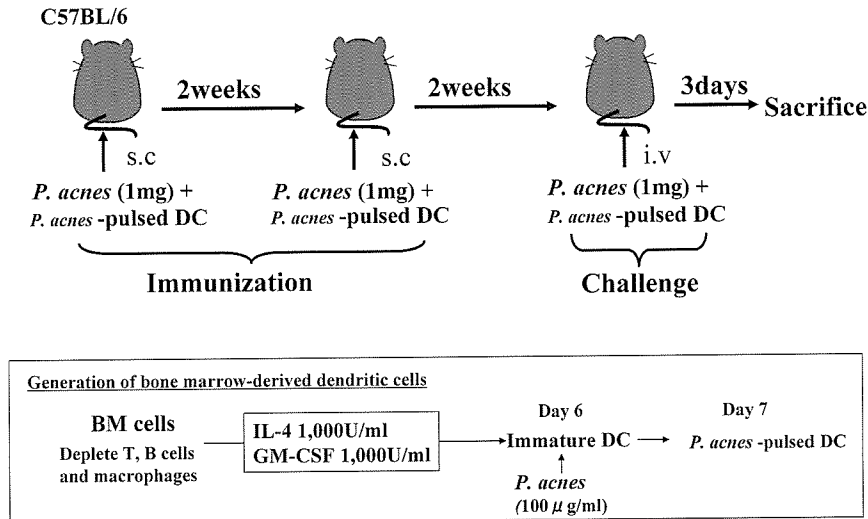


図1 *P. acnes* 菌体と樹状細胞を用いた肺肉芽腫モデルの作成法

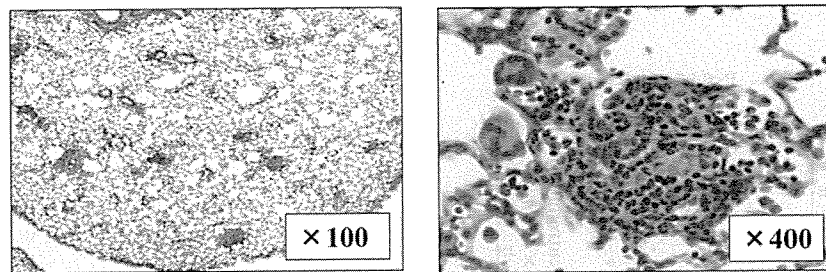


図2 *P. acnes* 菌体と樹状細胞投与により形成された肺肉芽腫

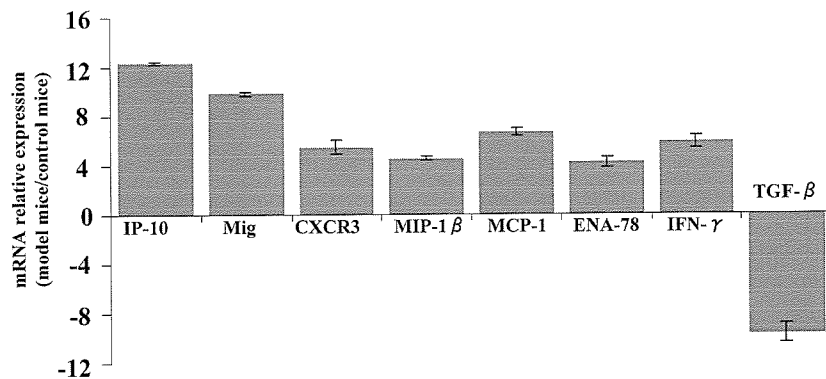


図3 *P. acnes* 菌体と樹状細胞投与により形成された肺肉芽腫モデルにおけるサイトカイン・ケモカインのマイクロアレイ解析
経時的に肺組織より total RNA を採取し、サイトカイン・ケモカインチップを用いてマイクロアレイ解析を行った。*P. acnes* 菌体と樹状細胞投与後3日目のデータを無治療マウス肺をコントロールとして示す。

による mRNA 発現の検討では、Th1 免疫反応に関係するケモカイン、ケモカインレセプターである IP-10/CXCL10, Mig/CXCL9, Macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α /CCL3, CXCR3, Th1 タイプのサイトカインである IFN- γ の発現が増加していた (図3)。一方、Th2 タイプのケモカインである Macro-

phage-derived chemokine (MDC)/CCL22 および Thymus- and activation-regulated chemokine (TARC)/CCL17 の mRNA 発現は有意な増加を認めなかった (data not shown)。

BAL の検討では抗原暴露後に総細胞数は day 1, 3 で増加し、リンパ球数は day 7 で増加していた。BAL

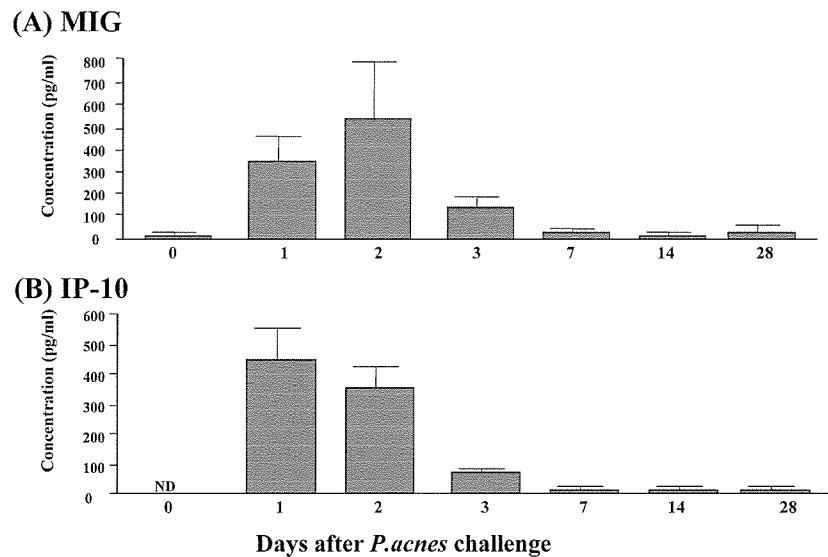


図4 *P. acnes* 菌体と樹状細胞投与により形成された肺肉芽腫モデルにおける気管支肺胞洗浄液中の IP-10/CXCL10 および Mig/CXCL9 の推移
経時的に気管支肺胞洗浄液を採取し、Mig/CXCL9 (A) および IP-10/CXCL10 (B) を ELISA 法にて測定した。

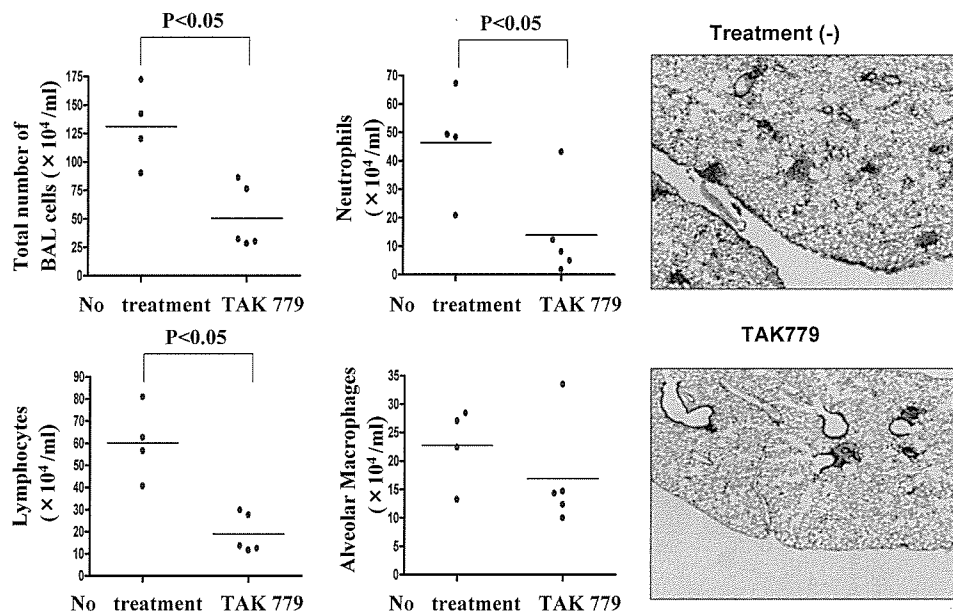


図5 *P. acnes* 菌体と樹状細胞投与により形成された肺肉芽腫モデルにおける TAK779 の効果
Th1 タイプのケモカインレセプター CCR5 および CXCR3 のアンタゴニストである TAK-779 を抗原暴露の4日前より6日後まで隔日で皮下投与し、7日後の肺組織、BAL の総細胞数、細胞分画を非投与群と比較した。

中のサイトカインは day 2, 3 で IFN- γ , TNF- α 濃度の上昇を認めたが、IL-4, IL-5 は経過を通じて検出されなかった (data not shown). BAL 中のケモカインでは day 1, 2, 3 で IP-10/CXCL10, Mig/CXCL9 の上昇を認めた (図4).

本モデルを用いて CXCR3 および CCR5 のアンタゴニスト TAK-779 投与による肺肉芽腫形成抑制効果を検討した。TAK779 投与群で総細胞数, 好中球数, リ

ンパ球数が減少した。また組織学的には肉芽腫形成の抑制が認められた (図5)。

考 察

サルコイドーシスの肉芽腫は結核等の感染性肉芽腫同様、特殊な抗原に対する遅延性アレルギー反応として理解されている。今回我々は、その原因抗原の候

補として考えられている *P. acnes* 菌体を用いてマウス肺肉芽腫モデルを作成した。Nishikawa らも、マウスに繰り返し *P. acnes* 菌体を免疫することで、肺に主にリンパ球の集積による肉芽腫形成を報告している⁹⁾。今回我々が作成した肺肉芽腫モデルでは、多核巨細胞が見られサルコイドーシスでみる肺肉芽腫により近似しているといえる。Yoneyama らは、*P. acnes* 菌体投与後の肝肉芽腫形成に血中の樹状細胞が積極的に関与していることを報告しており、我々のモデルにおいても *P. acnes* と同時投与を行った樹状細胞が肺肉芽腫形成に何らかの役割を果たした可能性が示唆される。

一方、サルコイドーシスにおいて見られる免疫反応は Th1 にシフトしていることが報告されている。今回の我々のモデルにおいても Th1 タイプのサイトカイン、ケモカインの関与が示唆された。一方、サルコイドーシス患者の BAL 液を用いた検討では、マウスモデルで最も発現の強かったケモカインである IP-10/CXCL10, Mig/CXCL9 が有意に上昇していることを確認している。従って、Th1 タイプの免疫反応という観点からみると我々のモデルとサルコイドーシスには類似点が多い。

次に本モデルを用いて Th1 ケモカインを標的とした治療が可能か否かについて検討した。IP-10/CXCL10, Mig/CXCL9 は両者ともに CXCR3 のリガンドであることから、個々のケモカインより、そのレセプターである CXCR3 をターゲットにする方がより効率的であることが予想される。そこで CXCR3 のアンタゴニストである TAK779 を投与したところ肺肉芽腫形成が抑制された。以上の結果は、Th1 ケモカインの関与する肺肉芽腫症の制御に、CXCR3 アンタゴニストが効果的に作用しうる可能性を示唆するものである。サルコイドーシスでは自然緩解例が多いも

の、心病変のある患者や進行した肺病変のある患者では治療の難しい場合がある。また、ステロイド投与には多くの副作用があり、新たな治療法の一つとして Th1 ケモカインを標的とした治療も今後の検討課題と思われる。

参考文献

- 1) American Thoracic Society/European Respiratory Society/World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders. Statement on sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 736-55.
- 2) Ishige I et al. Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. *Lancet* 1999; 354: 120-123.
- 3) Eishi Y et al. Quantitative analysis of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese and European patients with sarcoidosis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 198-204.
- 4) Ichiyasu H et al. Role of monocyte chemoattractant protein-1 in *Propionibacterium acnes*-induced pulmonary granulomatosis. *Microsc Res Tech*. 2001; 53(4): 288-97.
- 5) Nishikawa et al. Indigenous pulmonary *Propionibacterium acnes* primes the host in the development of sarcoid-like pulmonary granulomatosis in mice. *Am J Pathol*. 2004; 165: 631-9.
- 6) Yoneyama H et al. Regulation by chemokines of circulating dendritic cell precursors, and the formation of portal tract-associated lymphoid tissue, in a granulomatous liver disease. *J Exp Med*. 2001; 193: 35-49.

びまん性汎細気管支炎 (DPB)

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¹ 松下 育美¹ 大橋 順² 徳永 勝士² 本間 栄³
田口 善夫^{4**} 吾妻安良太^{5*} 工藤 翔二⁵ 慶長 直人^{1*}

びまん性汎細気管支炎 (DPB) の疾患感受性候補領域は, HLA-B 遺伝子座と HLA-A 遺伝子座の間の, およそ S から TFIH の間の約 200 kb の領域である. 日本人の 3 つの疾患感受性ハプロタイプ (HLA-B54-A11, HLA-B54-A24, HLA-B*5504-A11) と, 候補領域内の遺伝的多型との関連を検討したところ, この候補領域の HLA-A 側の約 50 kb では, 疾患感受性ハプロタイプがアリルを共有しないことがわかった. 我々の仮説における HLA-B54-A11 から HLA-B54-A24 への組換えが起きた部位は, DPCR1 遺伝子より HLA-B 遺伝子側と考えられた.

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

Minako Hijikata¹, Ikumi Matsushita¹, Jun Ohashi², Katsushi Tokunaga², Sakae Homma³,
Yoshio Taguchi^{4**}, Arata Azuma^{5*}, Shoji Kudoh⁵, and Naoto Keicho^{1*}

¹*Department of Respiratory Diseases, Research Institute, International Medical Center of Japan*

²*Department of Human Genetics, Graduate School of Medicine, University of Tokyo*

³*Department of Respiratory Diseases, Toho University School of Medicine*

⁴*Department of Respiratory Medicine, Tenri Hospital*

⁵*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. Disease associated haplotypes (HLA-B54-A11, HLA-B54-A24 and HLA-B*5504-A11) did not share several alleles from DPCR1 to SFTPG in the candidate region. The recombination event from HLA-B54-A11 to HLA-B54-A24 appears to have occurred at centromeric side of the DPCR1 locus.

はじめに

びまん性汎細気管支炎 (diffuse panbronchiolitis, 以下 DPB と略す) は, 東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¹⁾²⁾, 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³⁾。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た。すなわち, HLA-B54 と HLA-A11 を有する祖先染色体上で疾患に関連する変異が生じ, その後の歴史的組換えにより, 日本では HLA-A 側で組換えが起こり, 現在その変異と HLA-B54 の連鎖不平衡があるのに対し, 韓国では HLA-B 側で組換えが起こり, 現在その変異と HLA-A11 の連鎖不平衡があると考えると合理的である。疾患感受性候補領域は, 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 200 kb までせばめられた⁴⁾。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 HLA-B 側の 80 kb までせばめられたが, 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。

また, 日本人集団では HLA-B*5401 との関連が非常に強く, 昨年度までの検討ではこれを超える強い関連を有する遺伝的多型を 80 kb の領域内に同定することはできなかった。このため, 今年度は当初マイクロサテライトマーカーで絞り込んだ 200 kb の領域内ではあるが, 先に検討した 80 kb の範囲ではない HLA-A 側の遺伝子領域についての検討を加え, B*5401 と B*5504 を有する疾患感受性ハプロタイプの構造を検討した。

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, 既に解析が終了している 80 kb の領域より HLA-A 側の遺伝子領域を中心に解析を行う部位を選択し, 昨年度までと同様に PCR 増幅と塩基配列の決定を行った。

(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

検討した多型のうち, 代表として DPCR1⁵⁾ 領域の 2 つの SNPs (rs2240803, rs11970154) について得られた結果を示す。rs11970154 は DPCR1 遺伝子の exon 1 に存在し, 55 番目のアミノ酸の置換 (Arg/Gly) を伴う C/G SNP である。rs2240803 は exon 2 に存在し, 3' 非翻訳領域の C/T SNP である。International HapMap Project のデータによると, T アリルの頻度は Japanese で 0.456, Chinese Han で 0.322 に対し, Caucasians にて 0.169 であり, T アリルはアジア人で多い傾向がある。

我々の検討で得られたアリル頻度は, rs11970154 について, DPB 集団では C 0.907, G 0.093, コントロール集団では C 0.883, G 0.117, rs2240803 について, DPB 集団では C 0.505, T 0.495, コントロール集団では C 0.531, T 0.469 であり, DPB とコントロールを比較して, 両方の SNPs ともにそのアリル頻度に有意差はなかった。

疾患抵抗性である HLA-B*4403 は rs11970154 の G アリルと連鎖不平衡状態にあり, これが G アリルの頻度が DPB 集団でやや低い傾向があることに反映されていた。

一方, 疾患感受性である HLA-B*5401, HLA-B*5504 については, rs2240803 において表 1 に示すような結果が得られた。この表は, 既報の疾患感受性ハプロタイプ (文献 4 の table 3 Individual Haplotypes Containing HLA-B54 and B*5504) に, 今回決定できたデータを加えたものである。3 つの代表的疾患感受性ハプロタイプである HLA-B54-A24, HLA-B54-A11, HLA-B*5504-A11 で, HLA-B54-A24 は主に T アリルを有するのに対し, HLA-B54-A11, HLA-

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

表 1 Individual haplotypes containing HLA-B54 and B*5504

MARKER	B54-containing haplotypes					B*5504	
	54	54	54	54	54	*5504	*5504
HLA-B	54	54	54	54	54	*5504	*5504
HLA-C	1	1	1	1	1	3	3
C1_4_3	441	441	441	441	441	445	449
C1_3_2	360	360	360	360	360	342	342
C2_2_2	<u>251</u>	<u>251</u>	<u>251</u>	<u>251</u>	<u>251</u>	<u>251</u>	<u>251</u>
C2_4_4	<u>231</u>	<u>231</u>	<u>231</u>	<u>231</u>	<u>231</u>	<u>231</u>	<u>231</u>
C4_4_3	<u>246</u>	<u>246</u>	<u>246/242</u>	<u>246</u>	<u>246</u>	<u>246</u>	<u>246</u>
DPCR1	T	T	C	C	C	C	C
TFIIH	T	T	C	T	C	T	T
C4_2_7	238	238	222	234	228	234	234
C4_2_12	221	221	221	243	223	243	243
HLA-E	R/G	R/G	G	G	R/G	G/R	G
C3_2_12	149	151	151	129	147/129	147	129/147
D6S265	8/6	8/6	8/6	8/5	6/7	7	7
HLA-A	24	24/26	24/2	11/31	2	11	11

Shared alleles among all B54 and B*5504-containing haplotypes are underlined.

B*5504-A11 は C アリルを有しており、疾患感受性ハプロタイプ間でアリルを共有していなかった。

DPCR1 よりさらに HLA-A 遺伝子座側にある別の遺伝子領域の多型解析の結果も同様であり、疾患感受性ハプロタイプ間でアリルを共有していない SNP が複数見出された。

考案・結論

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⁹⁾。これら HLA-B54 を有する疾患感受性ハプロタイプと、DPCR1 遺伝子の SNP (rs2240803) との関係を見ると、HLA-B54-A24 ハプロタイプは主に T アリルを有し、HLA-B54-A11 ハプロタイプは C アリルを有し、疾患感受性ハプロタイプで共有されていないことがわかった。今までの検討では TFIIH 遺伝子の C/T SNP が疾患感受性ハプロタイプで共有されていないことが判明しており、TFIIH 遺伝子が候補領域の境界とされていたが、今回の結果、DPCR1 遺伝子領域はすでに疾患感受性ハプロタイプで共有されないセグメントに属すると考えられた。200kb の候補領域のうち、HLA-A 側の 50kb はこれで候補から除外されたことになる。

Shiina らが報告した塩基配列⁹⁾を参照すると、HLA-B44-A33 (JPKO) は rs11970154 が G であるのに対し、HLA-B52-A24 (AKIBA) と HLA-B54-A24

(AKT3) は C であり、我々の結果と一致していた。rs2240803 は、HLA-B52-A24 (AKIBA) と HLA-B54-A24 (AKT3) は T、HLA-B44-A33 (JPKO) は C アリルであり、これも我々の結果と一致していた。コントロール集団の代表的なハプロタイプである HLA-B52-A24 と HLA-B44-A33 の結果とあわせて推察するに、International HapMap Project で日本人の rs2240803 T の頻度が高いことには HLA-B52-A24 と HLA-B54-A24 が寄与しているのではないかと思われる。

そもそもの仮説では、日本人側では祖先染色体 HLA-B54-A11 が組換えにより HLA-B54-A24 となったと考えられており、DPCR1 遺伝子から HLA-A 遺伝子側において、HLA-B54-A11 ハプロタイプと HLA-B54-A24 ハプロタイプがアリルを共有していないので、組換えが起きた部位は DPCR1 より HLA-B 遺伝子側と考えられる。もうひとつの疾患感受性ハプロタイプである HLA-B*5504-A11 は日本人集団でも稀であるので、現在 DPB 群に 4 例あるのみで、コントロール群で HLA-B*5504 を見出すことは困難である。よって少数例のみでの検討になるが、HLA-B*5504 が疾患感受性であることを説明できる変異が、HLA-B54-A11 と HLA-B54-A24 の 2 つのハプロタイプに関連する変異と同じであるかどうか含め、ハプロタイプ構造の検討が必要である。

今回の検討で、200 kb の候補領域のうち、HLA-A 側の 50 kb が除外されたことにより、その 50 kb の領域に存在するいくつかの遺伝子も候補から除外され

た。今後は、狭められた候補領域に存在する遺伝子について機能面からの検討も加え、DPBの疾患感受性候補遺伝子を明らかにしたい。

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.
- 6) Shiina T, Ota M, Shimizu S, Katsuyama Y, Hashimoto N, Takasu M, Anzai T, Kulski JK, Kikkawa E, Naruse T, Kimura N, Yanagiya K, Watanabe A, Hosomichi K, Kohara S, Iwamoto C, Umehara Y, Meyer A, Wanner V, Sano K, Macquin C, Ikeo K, Tokunaga K, Gojobori T, Inoko H, Bahram S. Rapid evolution of major histocompatibility complex class I genes in primates generates new disease alleles in humans via hitchhiking diversity. *Genetics.* 2006 Jul ; 173(3) : 1555-70. Epub 2006 May 15.

狭窄性細気管支炎 (CBO)

「アマメシバ」関連閉塞性気管支細気管支炎の発症機序の検討

松山 航 大中原研一 東元 一晃 納 光弘*

アマメシバ関連閉塞性細気管支炎は全国調査によって8症例が発見された。アマメシバ摂取という明らかな原因がある本症の発症病態を解明することは、他の治療抵抗性のびまん性肺疾患の病態や発症メカニズムに迫り、これらの治療や予防にもつながる可能性があり非常に意義深い。そのため、我々はマウスにアマメシバを投与し肺に変化が起こらないか実験を行った。また生体肺移植で得られた本症の肺について免疫組織学的検討を行った。アマメシバをマウスに投与しても閉塞性細気管支炎は発症しなかった。アマメシバをマウスに投与すると mRNA レベルで肺のケモカイン・サイトカイン (MCP-1, SDF-1, MIP-1 α など) 発現が亢進したが、それらのタンパクレベルでの変化、また MMP/TIMP mRNA 発現の変化はなかった。ヒトの閉塞性細気管支炎の病巣では、気管支上皮細胞、浸潤する炎症細胞が先のマウス実験で mRNA 発現が亢進したケモカイン・サイトカインのうち MCP-1, SDF-1, MIP-1 α 陽性に染まった。ヒトの閉塞性細気管支炎の病巣では、上記のケモカインのレセプター陽性の泡沫マクロファージが認められた。ヒトの閉塞性細気管支炎の病巣では、気管支上皮細胞、炎症細胞が MMP-2, MMP-9, TIMP-1 陽性に染まったが、TIMP-2 が陽性に染まる細胞はほとんどなかった。アマメシバは少なくとも遺伝子レベルで肺のケモカイン発現に影響を与える可能性が示唆された。アマメシバ関連閉塞性細気管支炎の病態にはケモカイン、ケモカインレセプター、MMP/TIMP が関与する可能性が示唆された。アマメシバ関連閉塞性細気管支炎発症にはアマメシバ及び宿主側の要因等が必要である可能性があると考えられる。

Immunological investigation of Sauropus androgynus-associated bronchiolitis obliterans -mouse and human study-

Wataru Matsuyama, Ken-ichi Oonakahara, Ikkou Higashimoto, and Mitsuhiro Osame

*Division of Respiratory Medicine, Respiratory and Stress Care Center, Kagoshima University Hospital. 8-35-1
Sakuragaoka 890-8520 KAGOSHIMA JAPAN*

Since the first report of Sauropus androgynus-associated bronchiolitis obliterans (SABO) in Japan, we found 8 SABO patients via national survey. However the immunological pathogenesis of SABO is still unclear. In this study, we administrated Sauropus androgynus to mice every day for 24 weeks and examined histological and immunological change in the lung via pathological investigation, RNA array, RT-PCR, and ELISA. We also performed immunohistochemical analysis using the samples from SABO patient who underwent living-donor lung transplantation. In mice study, we could not find significant histological change in the lung. Interestingly, Sauropus androgynus administration induced increase of mRNA expression of MCP-1, SDF-1, MIP-1 alpha, and IL-1 beta in the lung. Also, it decreased mRNA expression of IFN-gamma. However, there was no significant change of these cytokine protein level. In immunohistochemical analysis of human SABO, we found expression of MCP-1, SDF-1 and MIP-1 alpha in inflammatory cells of the lesion. The foamy macrophages in the lesion stained positive for CCR2, CXCR4 and CCR5, which are the receptors of the chemokines described above. We also found MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 expression in the bronchial epithelial cells. These results suggests that chemokine network and MMP/TIMP balance might contribute to the development of SABO. Sauropus androgynus might prime the lung to be able to express some cytokines and chemokines. Some additional factors, including host problems, might be necessary for the development of SABO.

はじめに

閉塞性細気管支炎は終末及び呼吸細気管支を病変の首座とし閉塞性換気障害を呈するまれな疾患である。肺移植などの臓器移植の主要な予後増悪因子であり、膠原病・感染症・薬物・有毒ガスなどに伴って起こることが報告され近年その報告症例数も増加している¹⁾。しかし、その病態については不明な点が多い。本邦初発例のアマメシバ関連閉塞性細気管支炎の報告以後²⁾、全国調査によって 8 症例が発見された。その臨床像は、進行性で服用中止後にも症状は進行し、ステロイドや免疫抑制剤などの治療に抵抗性であるなど特徴的であった³⁾。またそのうち 2 例は死亡、1 例は呼吸不全の進行のため生体肺移植を受けるなど⁴⁾きわめてその予後は不良であった。

アマメシバ摂取という明らかな原因がある本症の発症病態を解明することは、他の治療抵抗性のびまん性肺疾患の病態や発症メカニズムに迫り、これらの治療や予防にもつながる可能性があり非常に意義深い。そのため、我々はマウスにアマメシバを投与し変化が起こらないか実験を行った。また、同時に肺移植の際に得られた肺組織を用いて免疫組織学的検討を行った。

方 法

A:

アマメシバ投与マウスの肺組織と正常マウスの肺組織のサイトカイン・ケモカインの発現、MMP/TIMP の発現の違いを RNA マイクロアレイ、RT-PCR 法を用いて検討する。

1. 8 週齢のメスの C67BL/6 マウスに対し、アマメシバを人の摂取量に換算して 1 倍量または 10 倍量を生理食塩水に混ぜ、それぞれ 50 匹ずつ毎日 24 週間投与した。

2. アマメシバの量は人が本邦で人が閉塞性細気管支炎を発症した総摂取量が約 12 kg であったこと³⁾より、人を 60 kg、マウスが 20 g と換算して 1 倍量の総摂取量を 400 g、10 倍量の総摂取量を 4 kg としてそれを

168 日分に分け毎日摂取させた。

3. 摂取に際しては、アマメシバを溶かした生理食塩水 3 cc を胃ゾンデを用いて一匹ずつ直接胃の中に投与し確実に摂取できるようにした。

4. 対照としてはアマメシバを溶かしていない生理食塩水 3 cc を胃ゾンデを用いて一匹ずつ直接胃の中に投与した。対照群は 20 匹とした。

5. それぞれの群のマウスをアマメシバ摂取群は 12 匹ずつ、対照群は 5 匹ずつ第 4 週目、第 8 週目、第 16 週目、第 24 週目に腋下動脈からの脱血により死亡させ肺を摘出し半分は組織学的検索に、半分はさらに 2 等分し mRNA の解析及び蛋白質の解析用を使用した。

6. 組織学的検索にはヘマトキシリンエオジン染色およびマッソントリクロム染色を用いた。

7. mRNA の抽出には TRIzol Reagent (Invitrogen) を用いた。

8. 抽出した mRNA のうち 10 倍量の 24 週目及び対照の 24 週目については Strategene 社のサイトカイン mRNA アレイを用いて解析を行った。

9. 先のサイトカイン mRNA アレイにて差の認められたサイトカイン類およびそのレセプター、そして MMP/TIMP 類についてそれぞれプライマーを設計し、各週について RT-PCR 法にて解析を行った。

10. さらに mRNA 差の見られたサイトカインについては、肺を RIPA バッファー⁵⁾にて溶解した液を検体とし、R & D 社の ELISA キットを使用してタンパク量を解析した。

B:

ヒトのアマメシバ関連閉塞性細気管支炎の肺組織(生体肺移植時に摘出)のサイトカイン・ケモカインレセプターの発現、MMP/TIMP の発現を免疫組織化学的手法を用いて検討する。

1. 肺移植の際に得られた肺組織を用いて先のマウス実験で差の見られたサイトカイン、及びそのレセプターに対して Santa-Cruz 社から購入した抗体を用いて免疫組織学的解析を行った。

2. MMP/TIMP に対してもモノクローナル抗体を用いて免疫組織学的解析を行った。

3. いずれの染色も発色には DAB 法⁶⁾を用いた。

結 果

A:

マウスの実験結果

1. アマメシバを投与したマウスのうち 10 倍量投与されたマウスの一匹がわずかに肺内に炎症所見を認めたが (図 1) その他のマウスには全く組織学的な変化は認められなかった。(図 2)
2. mRNA アレイによる解析では MCP-1, SDF-1, IL-1 β , MIP-1 α の mRNA 発現が対照マウスに比してアマメシバ 10 倍量投与マウスにて亢進していた。(図 3)
3. mRNA アレイによる解析では対照マウスに比して IFN- γ の mRNA 発現がアマメシバ 10 倍量投与マウスにて低下していた。(図 3)
4. RT-PCR 法による解析では 10 倍量のアマメシバを投与された群で経時的に MCP-1, SDF-1, IL-

1 β , MIP-1 α の mRNA 発現が増加していった。SDF-1 は 0 週目から発現していたが, IL-1 β , MIP-1 α は第 4 週目, MCP-1 は第 8 週目から発現した。(図 4)

5. RT-PCR 法による解析では 10 倍量のアマメシバを投与された群で経時的に IFN- γ の mRNA 発現が低下していった。(図 4)

6. RT-PCR 法にて MCP-1 のレセプターである CCR2, SDF-1 のレセプターである CXCR4, MIP-1 α のレセプターである CCRF5 について解析したが発現は認められなかった。(図 4)

7. RT-PCR 法にて MIP-2 (人の IL-8), IL-10, MMP/TIMP について解析したが発現は認められなかった。(図 4)

8. ELISA キットを用いた解析では上記で異常が認められたサイトカインについてはタンパクレベルでの差は認められなかった。

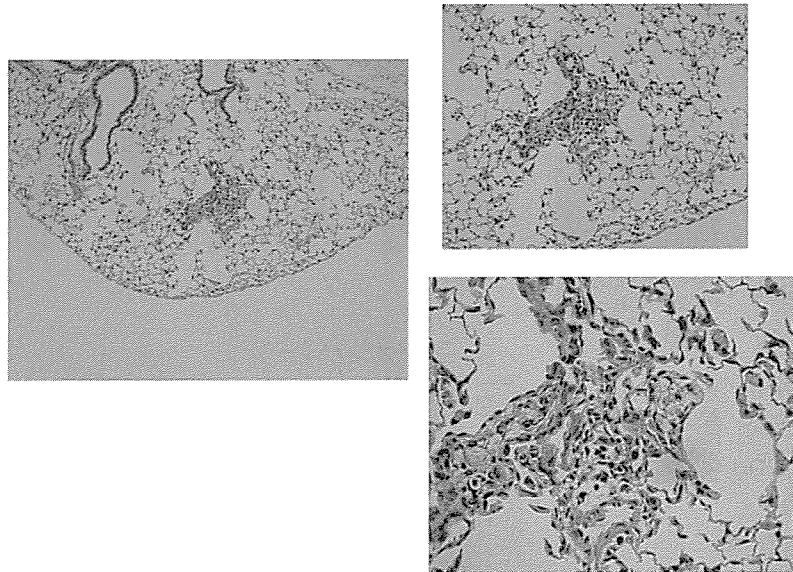


図 1 10 倍量投与マウス 1 匹の肺の一箇所炎症性変化が見られた

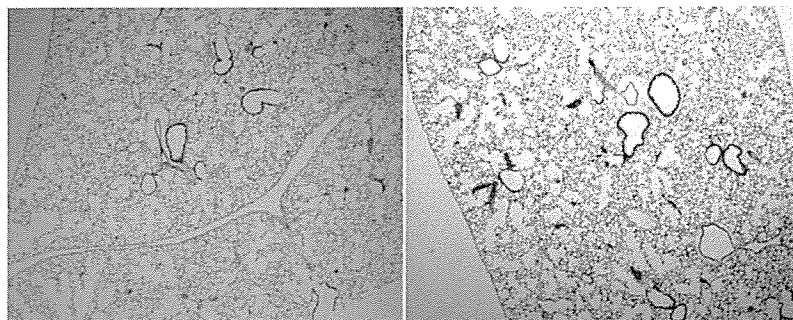


図 2 しかし、それ以外のマウスには全く組織学的変化は認められなかった

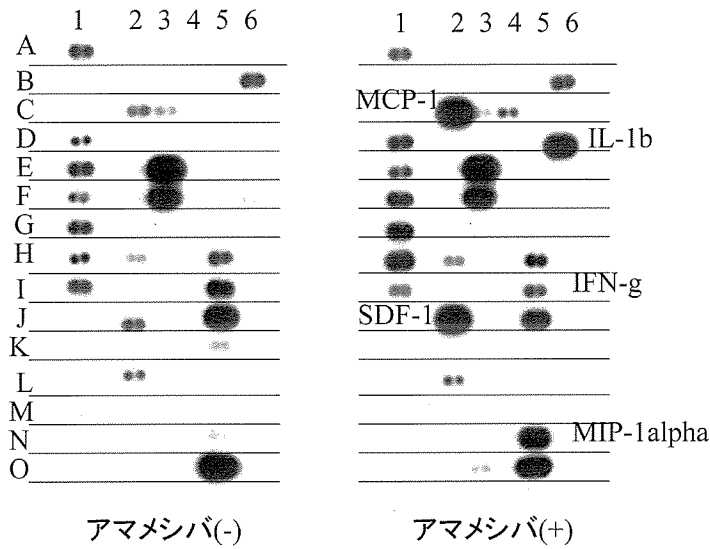


図3

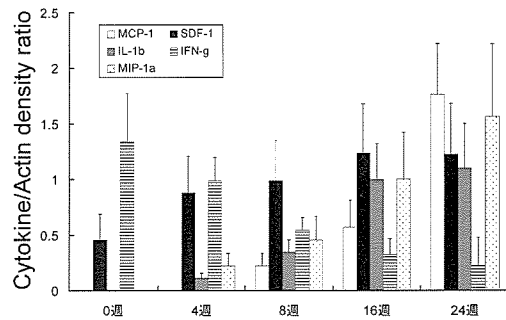
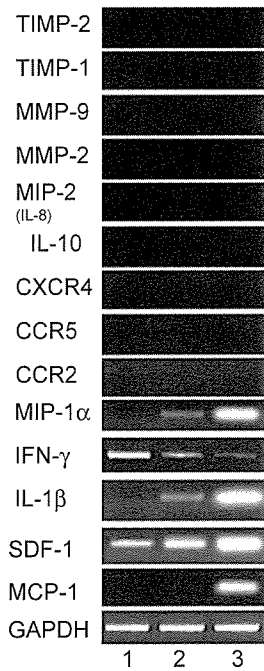


図4

B:

人の組織の免疫組織学的検索

1. 気管支上皮細胞，浸潤する炎症細胞が MCP-1, SDF-1, MIP-1 α 陽性に染まった。(図 5)
2. しかし, IFN- γ , IL-1 β は染まらなかった。
3. 病巣の泡沫マクロファージが CCR2 (MCP-1 のレセプター) 陽性に染まった。(図 6)
4. 泡沫マクロファージが CXCR4 (SDF-1 のレセプター) 陽性に染まった。これは内側の泡沫マクロファージの方が強く染まった。(図 6)

5. 病巣の泡沫マクロファージが CCR5 (MIP-1 α のレセプター) 陽性に染まった。(図 6)

6. マウス肺の RT-PCR では発現は認められなかったが, 人の組織では気管支上皮細胞, 炎症細胞が MMP-2, MMP-9, TIMP-1 陽性に染まった。TIMP-2 が陽性に染まる細胞はほとんどなかった。(図 7)

考 察

今回のマウス実験では残念ながら一匹を除いて全

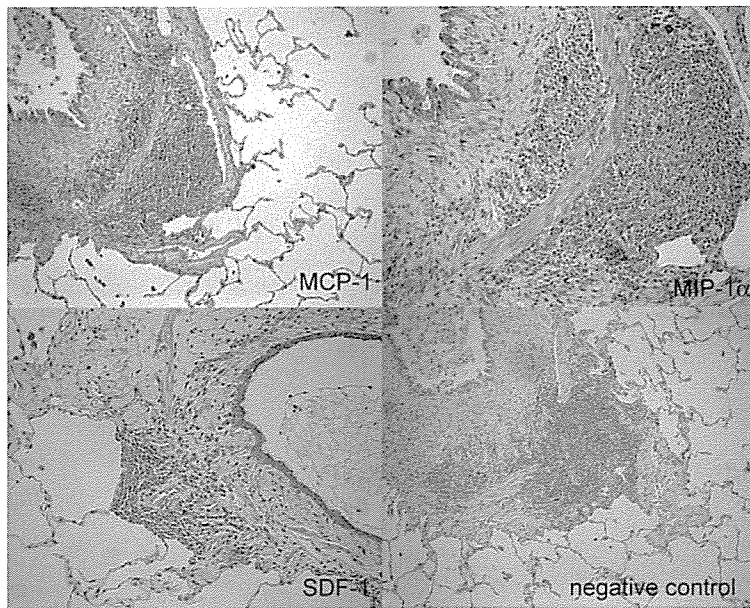


図5

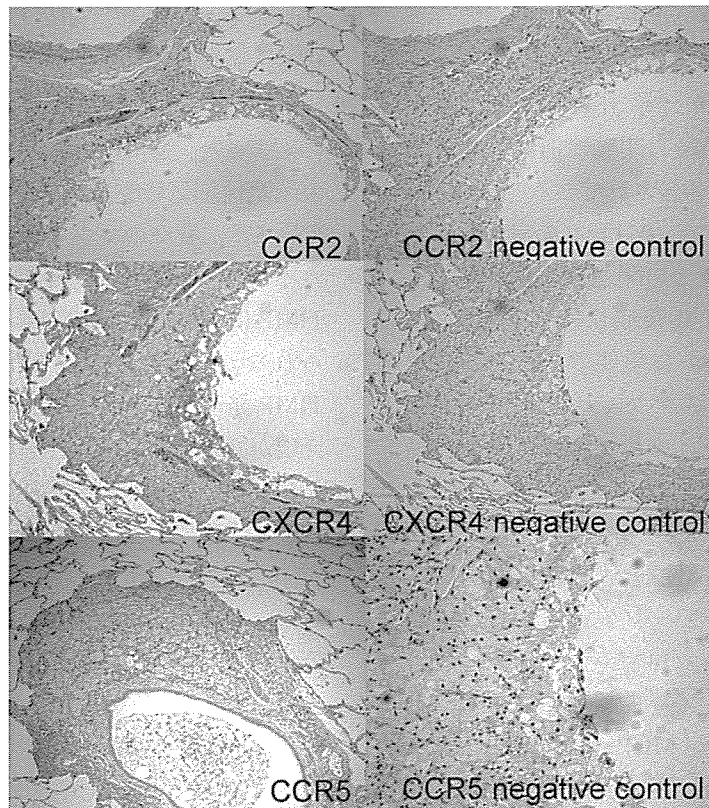


図6

例肺の組織学的な変化は認められず、また ELISA 法を用いた検索でもタンパクレベルでのサイトカインの異常も認められなかった。しかし、mRNA レベルでは MCP-1, SDF-1, IL-1 β , MIP-1 α の発現がアマメシバ投与マウスにおいて経時的に増加した。これらのうち特に MCP-1 はそのレセプターの CCR2 ととも

に閉塞性細気管支炎のマウスモデルの一つである臓器移植による閉塞性細気管支炎の形成においてきわめて重要な役割を果たすことが報告されている⁷⁾。また、RS ウイルスなどによって引き起こされる閉塞性細気管支炎は IL-1 の発現と密接なかかわりを持つことも報告されている⁸⁾。MIP-1 α は閉塞性細気管支炎

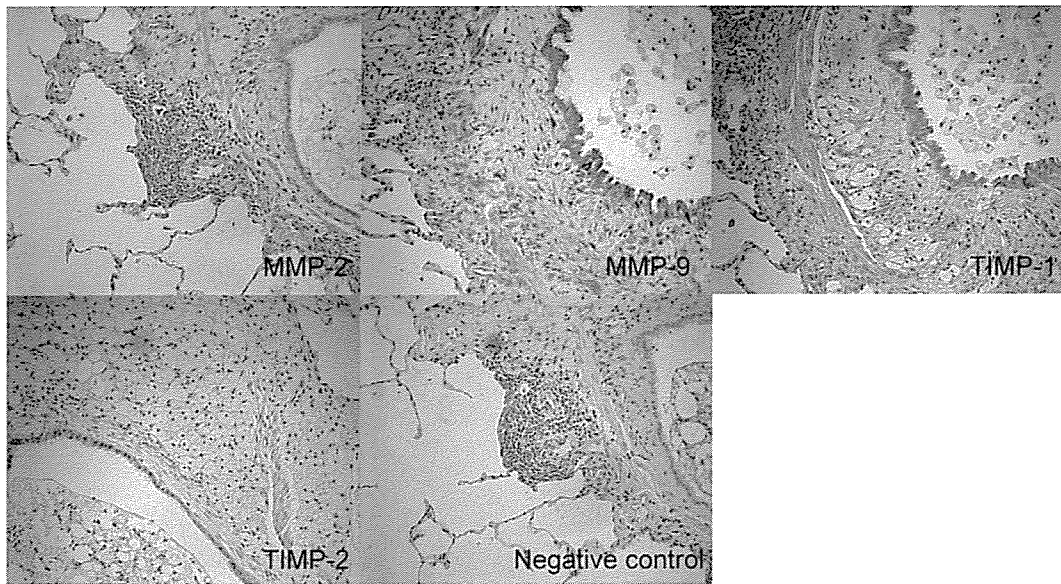


図7

も呈する BOOP の病態に深く関与することが報告されている⁹⁾。一方、我々のマウス実験では IFN- γ の mRNA 発現が経時的に低下した。IFN- γ のポリモルフィズムは人における移植後の閉塞性細気管支炎の発症に深く関与することが報告されている¹⁰⁾。mRNA 発現が亢進した SDF-1 については我々の検索しえた範囲では閉塞性細気管支炎との関連は報告されていないが、肺線維症などの発症に深く関与する fibrocyte の肺へのリクルートに重要であると言われている¹¹⁾。このように、我々のマウス実験で mRNA の発現の変化が認められたサイトカインはいずれも閉塞性細気管支炎の発症に重要なものばかりであり、たとえ組織学的な変化が肺に認められなかったとはいえ、やはりアマメシバが閉塞性細気管支炎の病態に関与するサイトカインネットワーク異常に何らかの影響を与えた可能性は否定できないと考える。

実際の人における免疫組織学的検討では気管上皮細胞、浸潤する炎症細胞が MCP-1, SDF-1, MIP-1 α 陽性に染まった。また、浸潤し気管支を閉塞している泡沫マクロファージがこれらのケモカインのレセプターである CCR2 (MCP-1 のレセプター), CXCR4 (SDF-1 のレセプター), CCR5 (MIP-1 α のレセプター) 陽性に染まった。先にも述べたようにこれらのケモカインとケモカインレセプターはそれぞれ閉塞性細気管支炎や肺の線維化に密接なかわりがあるものばかりであり、これらのケモカインとケモカインレセプターが我々の報告したアマメシバ関連閉塞性

細気管支炎の発症に関与している可能性は高いと考える。また人における免疫組織学的検討では気管上皮細胞、炎症細胞が MMP-2, MMP-9, TIMP-1 陽性に染まった。MMP-9 と TIMP-1 のバランスは移植後の閉塞性細気管支炎の発症に重要であると報告されている¹²⁾。我々のマウス実験では MCP-1 などのケモカインの mRNA 発現の変化は認められたが MMP/TIMP については mRNA レベルでも特に変化は認められなかった。このことは人で認められた MMP/TIMP 発現には先のケモカインのタンパクレベルでの発現が必要である可能性を示唆すると考える。

アマメシバは厚生労働省の指導で摂取されなくなるまで本邦でも年間 300 トンの生産があり、若い女性を中心に体重コントロールの目的¹³⁾で相当数の摂取した人が存在すると考えられる。しかし、我々の全国疫学調査で発見されたアマメシバ関連閉塞性細気管支炎患者は 8 例³⁾で、摂取禁止の措置が奏効したとはいえ頻度としては決して多いとはいえない。しかしアマメシバ自体にも気道上皮細胞からサイトカインの産生を促すという報告¹⁴⁾や、ヒト単球系細胞に対して TNF- α の産生を促すとの報告¹⁵⁾、アマメシバ関連閉塞性細気管支炎では T 細胞を介した免疫反応が存在するという報告¹⁶⁾もあり、やはりアマメシバが肺に何らかの影響を与えるものと考えられる。我々のマウス実験では mRNA レベルでの変化は認められたがタンパクレベルや組織学的な変化が認められなかったことを考えるとアマメシバは肺に何らかの影響を与え、

ケモカインなどの発現が誘導されやすい状態にし、そこに何らかの要因が加わって閉塞性細気管支炎を起こす可能性が示唆される。今後はHLAなど宿主側の要因なども含めた本症発生機序の解明も必要と考えられる。

参考文献

- 1) 長谷川好規, 下方 薫. 閉塞性細気管支炎の全国調査研究. 厚生労働科学研究費補助金 2003 年度びまん性肺疾患調査研究 平成 15 年度報告書 31-22. 2004.
- 2) 大中原研一, 堂地ゆかり, 町田健太朗, 他. アマメシバ摂取によると思われる閉塞性細気管支炎. 日本医事新報 2003 ; 414 : 27-33.
- 3) 大中原研一, 松山 航, 東元一晃, 他. 「アマメシバ」に関連した肺障害の全国疫学調査. 厚生労働科学研究費補助金 2003 年度びまん性肺疾患調査研究 平成 16 年度報告書 49-53. 2005.
- 4) Oonakahara K, Matsuyama W, Higashimoto I, et al. Living-donor Lobar Lung Transplantation in Sauropus androgynus-associated Bronchiolitis Obliterans in Japan. Intern Med. 2005 ; 44(10) : 1103-1104.
- 5) Matsuyama W, Watanabe M, Shirahama Y, et al. Suppression of discoidin domain receptor 1 by RNA interference attenuates lung inflammation. J Immunol. 2006 Feb 1 ; 176(3) : 1928-36.
- 6) Matsuyama W, Mitsuyama H, Watanabe M, et al. Involvement of Discoidin Domain Receptor 1 in the Deterioration of Pulmonary Sarcoidosis. Am J Respir Cell Mol Biol. 2005 Dec ; 33(6) : 565-573.
- 7) John A. Belperio, Michael P. Keane, Marie D. Burdick, et al. Critical role for the chemokine MCP-1/CCR2 in the pathogenesis of bronchiolitis obliterans syndrome. J Clin Invest. 2001 ; 108 : 547-556.
- 8) Vilchez RA, Dauber J, Kusne S. Infectious etiology of bronchiolitis obliterans: the respiratory viruses connection-myth or reality? Am J Transplant. 2003 ; 3 : 245-9.
- 9) Asano T, Ogushi F, Tani K, et al. Increased macrophage inflammatory protein-1alpha and-1beta in BAL fluid of bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. Respirology. 2003 ; 8 : 461-6.
- 10) Lu KC, Jaramillo A, Lecha RL, et al. Interleukin-6 and interferon-gamma gene polymorphisms in the development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. Transplantation. 2002 ; 74 : 1297-302.
- 11) Lama VN, Phan SH. The extrapulmonary origin of fibroblasts: stem/progenitor cells and beyond. Proc Am Thorac Soc. 2006 ; 3 : 373-6.
- 12) Huber RH, Meffert S, Mundt U, et al. Matrix metalloproteinase-9 in bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. Eur Respir J. 2005 ; 25 : 494-501.
- 13) Hisue TR, Guo YL, Chen KW, et al. Dose-response relationship and irreversible obstructive ventilatory defect in patients with consumption of Sauropus androgynus. Chest 1998 ; 113 : 71-6.
- 14) Chen CW, Hsiue TR, Chen KW, et al. Increased IL-5 and IL-10 transcription in bronchial cells after Sauropus androgynus ingestion. J Formos Med Assoc. 1996 ; 95 : 699-702.
- 15) 長谷川好規, 今泉和良, 橋本 泉, 他. 厚生労働科学研究費補助金 2003 年度びまん性肺疾患調査研究 平成 16 年度報告書 182-5. 2005.
- 16) Chang H, Wang JS, Tseng HH, et al. Histopathological study of Sauropus androgynus-associated constrictive bronchiolitis obliterans: a new cause of constrictive bronchiolitis obliterans. Am J Surg Pathol. 1997 ; 21 : 35-42.

肉眼的再構築を含む病理学的検討を行い得た Stevens-Johnson 症候群合併閉塞性細気管支炎

杉野 圭史¹ 蛇澤 晶² 本間 栄¹

閉塞性細気管支炎により呼吸不全をきたした Stevens-Johnson 症候群の 1 剖検例について、その臨床像と、肉眼的再構築を含めた病理形態学的検討を行った。

症例は 27 歳の女性で、10 歳時に Amoxicillin による Stevens-Johnson 症候群を発症し、発症 2 ヶ月後より進行性に呼吸困難の増悪、肺過膨張所見ならびに高度の混合性換気障害を呈し、全経過 17 年で呼吸不全のために死亡した。剖検肺は、肉眼的にびまん性に胸膜癒着を呈し、上下葉に多数の閉塞した気管支が認められた。上葉の気管支閉塞は、区域気管支を 1 次として 4~5 次末梢枝から始まることが多く、いったん閉塞した後に拡張をきたす気管支も確認された。閉塞部より中枢側の気管支は軽度の管状拡張を示していた。右中葉、両下葉では、ほとんどの気管支が明らかな管状拡張をきたしており、一部では嚢状に拡張した気管支も認められた。閉塞気管支の次数は上葉とほぼ同様の結果であった。組織学的には、両側上葉の気管支閉塞は、小気管支から膜性細気管支に確認され、内腔が弾性線維の増加をとまなう線維性組織で閉塞されていたが、気道壁にある既存の平滑筋・弾性線維はほとんどが残存しており、絞扼性閉塞性細気管支炎の所見を呈していた。炎症細胞浸潤は軽微であった。右中葉、両下葉の気道の拡張気管支壁は、小円形細胞浸潤を伴う線維化により平滑筋や弾性線維などの既存の構造が減少、もしくは消失していた。しかしその末梢端には同様に絞扼性閉塞性細気管支炎の所見が認められた。以上のごとく本症例では、ほぼ全肺の小気管支から膜性細気管支に絞扼性閉塞性細気管支炎の所見が見られ、下葉では中枢側の気管支が二次的に拡張したものと考えられた。

An Autopsy Case of Obliterative Bronchiolitis Associated With Stevens-Johnson Syndrome —— Schematic Bronchial Reconstruction of the Whole Lung ——

Keishi Sugino¹, Akira Hebisawa², and Sakae Homma¹

¹Department of Respiratory Medicine Toho University School of Medicine, Omorinishi 6-11-1,
Ota-ku, Tokyo 143-8541, Japan

²Department of Pathology, Tokyo National Hospital, Takeoka 6-11-1, Kiyose-shi, Tokyo 204-8585, Japan

We demonstrated the clinicopathological and morphological characteristics of an autopsied 27-year-old female with obliterative bronchiolitis associated with Stevens-Johnson syndrome. She had a history of Stevens-Johnson syndrome when she was 10 years old and was treated with corticosteroids. Two months after the onset of dermatitis, the patient complained of dyspnea on exertion. The chest radiography showed hyperinflation, and pulmonary function tests revealed severe mixed impairment. She died of progressive respiratory failure 17 years after the onset of Stevens-Johnson syndrome. Postmortem examination of the lung showed diffuse pleural adhesions and many obliterative bronchioli in the both upper and lower lobes. The beginning of the upper bronchial obliteration was in the fourth to fifth branches, numbering from each segmental bronchus. Once they were obliterated, the distal and proximal bronchi were dilated. Locations of obliterative bronchi were same as upper lobe. Bronchodilatation and some cyst-like dilatation were seen in lower lobar bronchus. Microscopic appearance of the both upper lung lobes demonstrated occlusions of small bronchi to the membranous bronchioli. The lumens of the bronchi and bronchioli were obliterated by fibrous granulation tissue, while the elastic fiber layer and smooth muscle layer of their walls were spared, and infiltration of inflammatory cell into their walls was mild, so-called constrictive obliterative bronchiolitis. Walls of the dilated bronchi in the right middle lobe, the lingula of the left upper lobe and the both lower lobes were destroyed by infiltration of lymphocytes and plasma cells, whereas constrictive obliterative bronchiolitis was also present in the distal bronchi.

The schematic reconstruction of the primary lesion of the both lung at autopsy revealed constrictive obliterative bronchiolitis in the membranous bronchioli of both lower lobes associated with secondary bronchiectasis.

緒 言

Stevens-Johnson 症候群は、粘膜皮膚眼症候群ともいわれ、重症の多形滲出性紅斑を呈する症候群である¹⁾。その原因として、抗菌薬、抗てんかん薬などの薬物投与によるもの、マイコプラズマ、ウイルスなどの感染症によるものなどが挙げられる。また閉塞性細気管支炎は、呼吸細気管支より中枢側の膜様細気管支の内腔が肉芽組織により狭窄し、非可逆的気道閉塞をきたす稀な疾患であるが²⁾、Stevens-Johnson 症候群に閉塞性細気管支炎を合併することは、山中ら³⁾によって報告されている。

今回我々は、閉塞性細気管支炎による呼吸不全で死亡した Stevens-Johnson 症候群の 1 剖検肺について、肉眼的再構築像を検討し得たので報告する。

症 例

症例：27 歳，女性。

主訴：発熱，呼吸困難。

既往歴：10 歳，Stevens-Johnson 症候群。

家族歴：特記すべきことなし。

嗜好品：喫煙歴なし，飲酒歴：機会飲酒。

粉塵暴露歴：なし。

アレルギー歴：アモキシシリンの内服後に Stevens-Johnson 症候群を発症。

現病歴：1987 年 1 月 17 日（当時 10 歳）に上気道炎のためアモキシシリンを内服したところ，全身に多

形滲出性紅斑，口腔内潰瘍，両眼結膜炎，高度の肝機能障害が出現した。近医で Stevens-Johnson 症候群と診断され，ステロイドパルス療法が施行された。その後，一旦は症状の軽快を認めたが，発症約 2 ヶ月後より労作時の呼吸困難が出現した。血液ガス所見では，室内気吸入下で PaO₂ 72 Torr，PaCO₂ 36.7 Torr と PaO₂ は保たれていたが，肺機能検査では，VC：1.07 L，%VC：52.9%，FEV_{1.0}：0.45 L，FEV_{1.0%}：36.3% と高度の混合性障害を認めた。1988 年以降は，気道感染を繰り返し，1997 年 4 月からは酸素 0.5～1 L/分吸入による在宅酸素療法が導入された。同年 12 月より計 5 回にわたり両側の気胸を合併し，1998 年 2 月に左肺ブラ切除術が施行された。2000 年以降は，安静時にも呼吸困難を自覚するようになり，ほとんど外出できなくなった。2002 年 6 月に発熱を伴い，呼吸困難が増悪したため，6 月 17 日当院呼吸器内科入院となった。

入院時理学所見：身長 150 cm，体重 39 kg，血圧 108/70 mmHg，脈拍 96/分・整，体温 37.4°C。左眼球は角膜混濁により失明状態であった。胸部聴診で両肺に sqwark および coarse crackles を聴取した。腹部平坦かつ軟，肝脾触知せず。手指のチアノーゼを認めた。

検査所見（Table 1）：血液検査では白血球数 16,200/ μ l，CRP 12.6 mg/dl と炎症反応が亢進していた。呼吸機能検査では，VC：1.12 L，%VC：36.8%，FEV_{1.0}：0.6 L，FEV_{1.0%}：53.1%，TLC：2.35 L，RV/TLC：52.3% と高度の混合性障害を認め，血液ガス所見では，酸素 1.5 L/分吸入下で PaO₂ 79.5 Torr，PaCO₂ 60.1 Torr と低酸素血症，高炭酸ガス血症を呈していた。

Table 1

	1987.4	1992.8	1997.4	1999.7	2002.7	2003.9	2004.1
VC (L)	1.40	1.33	1.58	1.34	1.13	ND	ND
%VC (%)	43.7	44.0	50.0	43.1	37.2	ND	ND
FEV ₁ (L)	0.51	0.54	0.71	0.62	0.60	ND	ND
FEV _{1%} (%)	36.3	45.7	44.9	46.3	53.1	ND	ND
PaO ₂ (Torr)	72.0*	ND	63.7*	61.5*	79.5**	55.4***	60.8***
PaCO ₂ (Torr)	36.7*	ND	46.6*	50.2*	60.1**	67.0***	99.8***

ND: not done, * Room air, ** O₂ 1.5 L nasal, *** FiO₂ 35%, PS 17 cm H₂O

¹ 東邦大学医療センター大森病院呼吸器内科

² 独立行政法人国立病院機構東京病院臨床検査科病理