

- Radiology. 221:415–421,2001.
5. Taveira –DaSilva AM et al. Decline in lung function in patients with lymphangiomyomatosis treated with or without progesterone. Chest 126:1867–1874,2004.
  6. Almoosa KF et al. Management of pneumothorax in lymphangiomyomatosis: effects on recurrence and lung transplantation complications. Chest 129:1274–1281,2006.
  7. Rossi GA et al. Response to treatment with an analog of the luteinizing – hormone – releasing hormone in a patient with pulmonary lymphangiomyomatosis. Am Rev Respir Dis 143:174–176,1991.
  8. 林田美江、他. 肺リンパ脈管筋腫症に関する全国疫学調査. 厚生労働省難治性疾患呼吸不全に関する調査研究 平成16年度研究報告書 p102–105,2005.
  9. 佐藤輝彦、他. 当科におけるリンパ脈管筋腫症42例の治療経験. 厚生労働省難治性疾患呼吸不全に関する調査研究 平成16年度研究報告書 p109–112,2005.
  10. 井上恵美、他. リンパ脈管筋腫症(LAM)における吸入気管支拡張剤の有用性について. 難治性疾患呼吸不全に関する調査研究 平成16年度研究報告書 p113–116,2005.
  11. 大家晃子ら：リンパ脈管筋腫症患者の健康関連 – Quality of Life 調査（中間報告）、厚生労働省難治性疾患 呼吸不全に関する調査研究 平成16年度報告書, p106–108,2005.
  12. The LAM Foundation. The LAM Handbook 2004.

# 乳糜胸腹水合併LAM症例における 低用量GnRH療法の効果

順天堂大学医学部呼吸器内科

瀬山 邦明 佐藤 輝彦 郡司 陽子

同 人体病理病態学

熊坂 利夫 三谷 恵子 林 大久生

## 【はじめに】

リンパ脈管筋腫症Lymphangiomyomatosis (LAM)は、平滑筋細胞様の形態を示すLAM細胞の増殖と転移により、肺、体軸系リンパ組織に病変が進展し、肺では肺組織の破壊により嚢胞が形成される疾患である(1,2)。病理学的には、LAM細胞の増殖とリンパ管新生により特徴づけられる疾患である(3,4)。労作時の呼吸困難、自然気胸などを契機に医療機関を受診することが多いが、乳糜胸水や腹水などの乳糜漏を契機として診断されることもある(2,5,6)。平成15/16年度に呼吸不全調査研究班で実施された全国調査では、乳糜胸水は12% (173例中21例)、乳糜腹水は7% (165例中11例)で認められた(7)。乳糜漏には、自覚症状を認めない程度の軽い場合には特別な治療を必要としないが、咳嗽、呼吸困難、腹部膨満感、などの自覚症状を有する症例では、何らかの治療が必要となる。乳糜漏を合併したLAM症例では、一般に脂肪制限食を日常生活の指導が行われる(2)。乳糜胸水を合併した症例では、大量の胸水あるいは咳嗽、呼吸困難などの自覚症状があれば、穿刺・排液、胸膜癒着術、胸管結紮術などが施行されている(2)。一方、乳糜腹水のコントロールには苦慮する場合が多い。

乳糜漏を合併する機序は、LAM細胞の増殖によるリンパ管の閉塞が原因である、と従来から考えられているが、詳細は不明である(2)。また、LAMに対する治療法も確立されていないため、乳糜漏の管理には苦慮する場合がある。本研究では、自験例における乳糜漏の種類と合併頻度、治療効果についてretrospectiveに検討した。

## 【対象と方法】

1985年から現在までの期間に、順天堂大学医学部附属

順天堂医院を受診したLAM症例115例 (sporadic LAM 100例、TSC-LAM15例) をretrospectiveに検討し、乳糜漏の合併の有無、治療内容、治療効果を評価した。乳糜胸水の治療効果は、呼吸困難の指標としてoxygen cost diagram (OCD)、胸部レントゲン写真や呼吸機能検査により評価した。乳糜腹水に対する治療効果は体重、腹囲、乳糜腹水中のLAM細胞クラスター(LCC)の濃度(LCC個数/ml) (4)、大きさ、形態変化(クラスターの崩壊、アポトーシス)により評価した。大きさは腹水のスメア標本に於いてLCCの2次元での面積をデジタルイメージアナライザー(KS400, Carl Zeiss Imaging Solutions, Hallbergmoos, Germany)を用いて計測した。LCCの免疫染色は、乳糜腹水のスメア標本を作製し、4%パラホルムアルデヒドで10分間固定し、その後は過去に報告した方法に従って、 $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA)、VEGFR-3で免疫染色を行った。LCCのアポトーシスはTUNEL法で検討した。

## 【結果】

### 1. 乳糜漏の種類とその合併頻度

115例のLAM症例のうち14例(12.2%) (sporadic LAM 100例、TSC-LAM15例)で乳糜漏の合併を認めた。乳糜漏合併LAM14例のLAM診断時年齢は $33.7 \pm 7.9$ 歳(平均 $\pm$ SD)で、全例女性である。内訳は、乳糜胸水のみ6例(5.2%) (右3、左3)、乳糜腹水のみ2例(1.7%)、乳糜胸水と腹水を認めた症例4例(3.5%) (右0、左4)、左乳糜胸水、腹水、心嚢水を認めた症例1例(0.9%)、乳糜腹水・右胸水・経膈乳糜漏を合併した症例1例(0.9%)であった。

### 2. 乳糜漏合併症例の治療内容とその効果

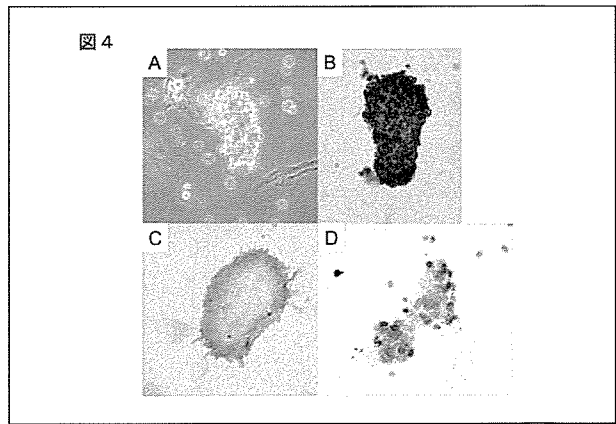
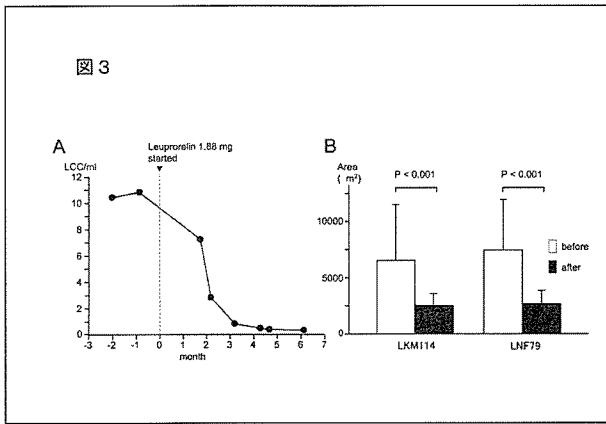
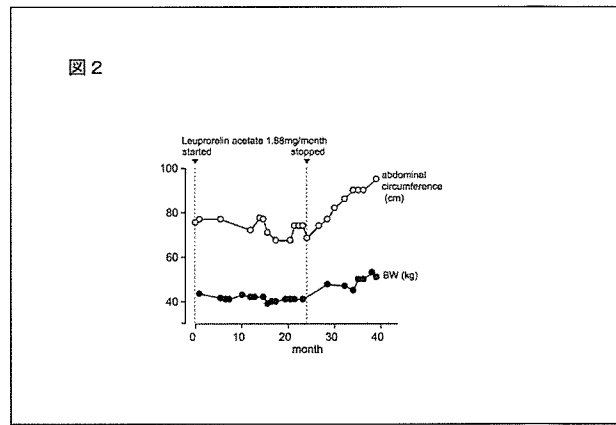
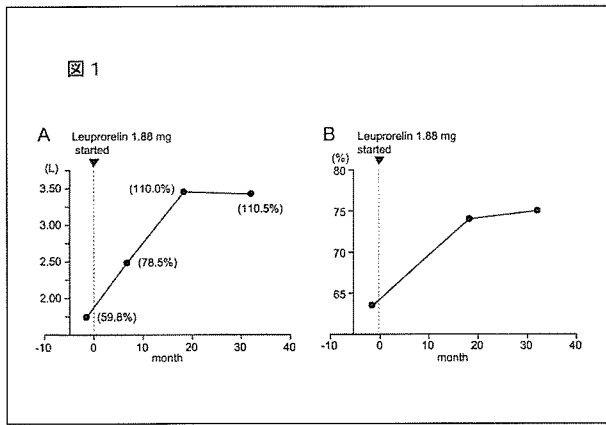


図 1. 症例 3 (左乳糜胸水合併例) における VC および OCD の経時的変化

低用量 GnRH 療法は、leuporelin acetate 1.88mg/month が投与された

図 2. 症例 2 (左乳糜胸水・腹水合併例) における 腹囲 および 体重 の経時的変化

低用量 GnRH 療法は、leuporelin acetate 1.88mg/month が投与された。約 2 年の投与後に、うつ気分となることから中止した。

図 3. 症例 2 と 6 における 乳糜腹水中の LCC 濃度 (A)、および LCC の大きさ (B) の変化

図 4. 低用量 GnRH 療法開始後に認められた 乳糜腹水中の LCC の Apoptosis

- A. 位相差顕微鏡像
- B. 抗  $\alpha$ -smooth muscle actin 抗体による免疫染色
- C. 抗 VEGFR-3 抗体による免疫染色
- D. TUNNEL 法によるアポトーシスの検出

上記の 14 例中 8 例は当科での治療あるいは紹介医との密接な連携のもとに治療経過が評価可能であったため、これらの症例における治療効果を評価した (表 1)。LAM 診断時年齢は  $33.3 \pm 4.8$  歳 (平均  $\pm$  SD) であった。全例 sporadic LAM で、肺あるいは後腹膜腔 lymphangiomyoma の生検により LAM の病理診断が確定している。LAM あるいは乳糜漏の管理として行われた治療内容では、全例で脂肪制限食の栄養指導がなされた。

2-1). GnRH 療法以外の治療が選択された 3 症例

症例 1 は右少量の胸水 (胸部レントゲン写真で右 C P angle が鈍になる程度) で、無治療でも増加するこ

となく安定していた。症例 4 は少量～中等量 (胸部レントゲン写真では肺野の 1/3 程度) の右胸水と腹水、および経膈乳糜漏を認めたが、自覚症状は MRC2 の労作性呼吸困難で増悪しないため、経過観察中である。症例 7 は、右胸水貯留量は少量～中等量であったが咳嗽が強かったため胸膜癒着術を行った。

2-2). GnRH 療法を実施した 5 症例

GnRH 療法では、全例で leuporelin acetate 1.88 mg/4 週間毎 (低用量 leuporelin) の皮下注射が行われていた。

① 乳糜胸水単独を合併した症例の治療効果

表1. 乳糜漏を合併したsporadic LAM 8症例のまとめ

症例	登録名*	診断	LAM診断時年齢	乳糜漏	乳糜漏合併からの治療と期間	乳糜漏の経過
1	LFM30	sporadic LAM	30	右胸水	経過観察 約2年間	少量のまま安定、呼吸不全で死亡(33歳)
2	LN79	sporadic LAM	30	左胸水、腹水	GnRH 約2年間、その後経過観察	左胸水(時に両側胸水)、腹水は安定、しかし中止後に腹水増悪
3	LRK84	sporadic LAM	33	左胸水	GnRH 約3年間	減少して安定
4	LOS91	sporadic LAM	29	右胸水、腹水、経膈乳糜漏	経過観察 約4ヶ月	変化なく安定
5	LIR93	sporadic LAM	41	左胸水、腹水、心嚢水	GnRH 約3年間	増悪なく、安定
6	LKM114	sporadic LAM	28	左胸水、腹水	経過観察後、GnRH 約7ヶ月間	胸水なし、乳糜腹水安定
7	LWM126	sporadic LAM	37	右胸水	胸膜癒着術、約1年10ヶ月間	減少して安定
8	LAN137	sporadic LAM	38	腹水	腹腔静脈シャント術 + GnRH、約7ヶ月	安定

低用量GnRHはleuprorelin acetate 1.88mg/monthを用いた

\* 順天堂LAMレジストリーでの登録名(他論文での症例の重複を明らかにするため記載している)

症例3は低用量leuprorelinによるGnRH療法が開始されてから、胸部レントゲン上の胸水量の減少、呼吸機能検査でのVCの増加、OCDの増加(すなわち呼吸困難の改善)、が認められた(図1)。治療前には、咳嗽、呼吸困難などの自覚症状のため胸水の穿刺・排液が必要であったが、低用量GnRH療法を開始した後は、胸水の穿刺・排液を必要としなくなった。

#### ②乳糜胸水・腹水の合併例2例、および腹水のみ2例の経過

乳糜胸水と腹水を合併した症例2では、低用量GnRH療法を開始後に、腹囲および体重の安定化あるいは減少傾向を認めた(図2)。しかし、GnRH療法の副作用としてうつ気分になるため、2年間の投与で中止した。中止後約2ヶ月以内に生理が再開し、同時に、乳糜腹水貯留の増大を認め、体重・腹囲とも増加し、腹囲は90cm台で推移している(図2)。経過中に左胸水の増量、右にも胸水が出現して両側胸水となったが、経過観察のみで右胸水はほぼ消失に近いほど減少した。症例5でも、症例2と同様に腹囲・体重は安定していたが、経過中に乳糜心嚢水を合併した。しかし、経過観察のみで安定している。症例2, 5、ともに腹腔穿刺・排液はGnRH療法開始前から必要としていなかった。

症例6では、脂肪制限食の指導をしても約2週間毎に腹部膨満感のため腹水の穿刺・排液(約800ml/穿刺)を必要とした。しかし、低用量GnRH療法を開始後には、腹部膨満感の軽減と穿刺する間隔が従来の

2週間から4~6週間に延長している。症例6では、腹腔穿刺・排液時に腹水中のLAM細胞クラスター(LCC)の濃度(個数/ml)を検討したところ、GnRH療法後にLCC濃度の減少を確認した(図3A)。また、GnRH療法後には、球形のLCC以外に、光沢のない細胞同士がゆるやかに桑実状に凝集した細胞集塊(図4A)が腹水中に多数出現するようになった。

症例2と6では低用量GnRH療法前後での乳糜腹水中のLCCの大きさを検討することが可能であった。治療後にLCCサイズの減少(約1/2~2/3に減少)を認めた(図3B)。これらの細胞集塊は、免疫染色により、SMA陽性細胞の集塊で、外層にはリンパ管内皮細胞が認められ、TUNEL法でアポトーシスが検出された(図4)。すなわち、これらの細胞集塊はアポトーシスしたLCCであることが証明された。

症例8は、多量の腹水貯留のため他院で頻回の腹腔穿刺・排液をうけ、低リンパ球血症・低栄養の状態当院に紹介された。そのため、腹腔静脈シャント(Denver shunt®)を留置すると同時に低用量GnRH療法を開始した。シャント留置後には腹水は著減し、低リンパ球血症・低栄養の状態も改善した。

#### 【考 察】

本研究の解析対象例は8例と限られた例数での成績であるが、乳糜漏を合併したLAMの経過をretrospectiveに検討した。その結果、2例は経過観察、1例は胸膜癒着

術、4例は低用量GnRH療法 (leuporelin acetate®投与)、1例は腹腔静脈シャント術により乳糜漏のコントロールが容易となり、臨床像の改善あるいは安定化が得られた。乳糜漏は、その程度が軽く自覚症状もなければ、特別な対応を必要としない場合もある。Ryuらによる乳糜胸水を合併したLAM 8例のretrospective studyによれば、胸水貯留量、乳糜胸水の進行度、自覚症状、合併症の有無、などの患者毎の要因により個別に対応すべきであると報告されている(8)。本研究でも、2例の胸水は進行性ではなく、経過観察のみで安定した経過を示している。しかしながら、腹水合併例の経過をまとめた報告は、本研究が初めてである。LAMに合併する乳糜腹水も、貯留量、貯留の進行度は、乳糜胸水の場合と同様に個人差があるようである。すなわち、進行性に貯留し、頻回の排液を要し、長期的管理に苦慮する症例もあれば、腹水貯留量は安定しており、食事や生活指導などの保存的治療のみで管理可能な症例も存在する。

leuporelin acetateによる低用量GnRH療法が行われた4例(症例2, 3, 5, 6)では、乳糜漏の減少あるいは安定化が得られた。LAMの乳糜漏の治療として、プロゲステロン投与の有効性を示唆する報告があるが(9)、低用量GnRH療法の効果に関する報告はなかった。一般に、プロゲステロン療法は、呼吸機能指標の経年的変化率を指標としても、有効性を示唆する報告もあれば(6, 10)、否定的な報告もある(11)。GnRH療法についても同様である(12,13)。比較対照の治療研究ではないため、本研究で認めたGnRH療法による乳糜漏の減少や安定化は、GnRH療法の効果ではなく、LAMの自然経過であった可能性は否定できない。しかし、臨床効果に加えて2例では低用量GnRH療法開始後にLCCサイズの減少とアポトーシスが確認され、うち1例で乳糜腹水中のLCC濃度が約20~30分の1程度に減少することを観察したことから、我々はGnRH療法の効果により乳糜漏の減少や安定化が得られた可能性が高いと考える。長期のプロゲステロン療法ではエストロゲンレセプターやプロゲステロンレセプターのdown regulationが起こることが報告されているが(14)、LAM細胞のアポトーシスについて報告した研究は、本研究が初めてである。

LAMにおけるリンパ管新生は、LAMの重症度と関連し、リンパ管新生を介したLAM細胞クラスターの形成はLAMの進展にとって重要なメカニズムであることを我々はすでに報告した(3,4)。本研究の結果から、LCCの産生、生存、ならびにその特徴的な構造を維持するには、estrogenが深く関わっていることが示唆される。リ

ンパ漏液中に浮遊するLCCと同様のアポトーシスがLAM病変でも生じるものかどうか、興味深い点である。LAM結節内でのLAM細胞やリンパ管内皮細胞に対しても乳糜液中に浮遊するLCCと同様の現象が得られるのであれば、長期的にはLAMの肺機能障害の経年的悪化スピードを低下させ、安定化させる効果が期待できるかもしれない。GnRH療法は早期閉経に伴う更年期症状は認めるが、ある意味では生理的变化に近いホルモン治療であり、長期プロゲステロン療法のようなプロゲステロン過量に伴う副作用のリスクはない。乳糜漏の管理に苦慮するLAM症例では、試みる価値があるホルモン治療であると思われる。

#### 【参考文献】

1. Carrington, C. B., D. W. Cugell, E. A. Gaensler, A. Marks, R. A. Redding, J. T. Schaaf, and A. Tomasian. 1977. Lymphangiomyomatosis. Physiologic-pathologic-radiologic correlations. *Am Rev Respir Dis* 116(6):977-95.
2. Kristof, A. S., and J. Moss. 2003. Lymphangiomyomatosis. In M. I. Schwarz and T. E. King Jr, editors. *Interstitial Lung Disease*, 4th edition ed. BC Decker Inc, London. 851-864.
3. Kumasaka, T., K. Seyama, K. Mitani, T. Sato, S. Souma, T. Kondo, S. Hayashi, M. Minami, T. Uekusa, Y. Fukuchi, and K. Suda. 2004. Lymphangiogenesis in Lymphangiomyomatosis: Its Implication in the Progression of Lymphangiomyomatosis. *Am J Surg Pathol* 28(8):1007-1016.
4. Kumasaka, T., K. Seyama, K. Mitani, S. Souma, S. Kashiwagi, A. Hebisawa, T. Sato, H. Kubo, K. Gomi, K. Shibuya, Y. Fukuchi, and K. Suda. 2005. Lymphangiogenesis-mediated shedding of LAM cell clusters as a mechanism for dissemination in lymphangiomyomatosis. *Am J Surg Pathol* 29(10):1356-66.
5. Ryu, J. H., J. Moss, G. J. Beck, J. C. Lee, K. K. Brown, J. T. Chapman, G. A. Finlay, E. J. Olson, S. J. Ruoss, J. R. Maurer, T. A. Raffin, H. H. Peavy, K. McCarthy, A. Taveira-Dasilva, F. X. McCormack, N. A. Avila, R. M. Decastro, S. S. Jacobs, M. Stylianou, and B. L. Fanburg. 2006. The NHLBI Lymphangiomyomatosis

- Registry: characteristics of 230 patients at enrollment. *Am J Respir Crit Care Med* 173(1):105–11.
6. Urban, T., R. Lazor, J. Lacronique, M. Murris, S. Labrune, D. Valeyre, and J. F. Cordier. 1999. Pulmonary lymphangiomyomatosis. A study of 69 patients. *Grouped' Etudes et de Recherche sur les Maladies "Orphelines" Pulmonaires (GERM"O" P)*. *Medicine (Baltimore)* 78(5):321–37.
  7. Hayashi, M., K. Seyama, Y. Inoue, K. Fujimoto, K. Kubo, and L. the Respiratory Failure Research Group of the Japanese Ministry of Health, and Welfare. 2007. The epidemiology of lymphangiomyomatosis: A nationwide cross-sectional study in Japan. *Respirology*.
  8. Ryu, J.H., C.H. Doerr, S.D. Fisher, E.J. Olson, S.A. Sahn. 2003. Chylothorax in lymphangiomyomatosis. *Chest* 123(2):623–7.
  9. Taylor, J., J. Ryu, T. Colby, and T. Raffin. 1990. Lymphangiomyomatosis. Clinical course in 32 patients. *N Engl J Med* 323(18):1254–60.
  10. Johnson, S. R., and A. E. Tattersfield. 1999. Decline in lung function in lymphangiomyomatosis: relation to menopause and progesterone treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 160(2):628–33.
  11. Taveira–DaSilva AM, Stylianou MP, Hedin CJ, et al. Decline in lung function in patients with lymphangiomyomatosis treated with or without progesterone. 2004. *Chest* 126:1867–74.
  12. Rossi, G. A., B. Balbi, S. Oddera, S. Lantero, and C. Ravazzoni. 1991. Response to treatment with an analog of the luteinizing–hormone–releasing hormone in a patient with pulmonary lymphangiomyomatosis. *Am Rev Respir Dis* 143(1):174–6.
  13. de la Fuente, J., C. Paramo, F. Roman, R. Perez, C. Masa, and J. M. de Letona. 1993. Lymphangiomyomatosis: unsuccessful treatment with luteinizing–hormone–releasing hormone analogues. *Eur J Med* 2(6):377–8.
  14. Matsui, K., K. Takeda, Z. X. Yu, J. Valencia, W. D. Travis, J. Moss, and V. J. Ferrans. 2000. Downregulation of estrogen and progesterone receptors in the abnormal smooth muscle cells in pulmonary lymphangiomyomatosis following therapy. An immunohistochemical study. *Am J Respir Crit Care Med* 161(3 Pt 1):1002–9.

# リンパ脈管筋腫症におけるvolumetric CTと重症度の関係

国立病院機構近畿中央胸部疾患センター内科

大家 晃子 坂谷 光則

同 臨床研究センター

井上 義一

同 放射線科

田中 勲

国立病院機構近畿中央胸部疾患センター難治性肺疾患研究部

審良 正則

## 【はじめに】

リンパ脈管筋腫症（LAM）は肺の慢性病変が進行し、呼吸不全におちいる希少疾患である<sup>(1)(2)(3)</sup>。近年 multi detection computed tomographyによりCTの定量化（volumetric CT）が容易になった。我々はvolumetric CTにより、慢性閉塞性肺疾患患者の気腫性のう胞やLAMのう胞で認められる低吸収域（low attenuation area:LAA）を定量化しlow attenuation volume:LAVとして計算し、肺機能検査、血液ガスの結果と相関する事を報告してきた<sup>(4)</sup>。

最近、血液ガスデータ、肺機能検査の値を用いてLAMの重症度に関する発表がされている。

我々はvolumetric CTによるLAVと、呼吸困難度や各種LAM重症度等との関係を検討した。

## 【対 象】

対象は当院を受診しvolumetric CTの撮影が可能であったLAM患者19名（全て女性、sporadic LAM 17名、結節性硬化症LAM 2名）。初回CT撮影時年齢は40.2±10.5才、PaO<sub>2</sub> 78.0±13.8 torr、PaCO<sub>2</sub> 41.3±4.6 torrであった。

## 【方 法】

Volumetric CTはGE light speed Ultra を用いて120kV、200mA、0.5sec、16.75/rot、helical thickness 1.25mm

で撮影した。また吸気、呼気条件下でそれぞれ撮影を行った（図1）。LAAは、<-950HUとした<sup>(5)</sup>。LAMにおける嚢胞の量はこのLAAの量（LAV）とした。

LAVは呼吸困難度（MRCスコア、Borg Scale）、呼吸不全によるLAM重症度、LAM handbookによるLAM重症度、COPDに当てはめた場合のGOLD、日本呼吸器学会による重症度JRS-COPDとの相関を検討した。

表1. 呼吸不全によるLAM重症度分類

I 度	80Torr ≤ PaO <sub>2</sub>
II 度	70Torr ≤ PaO <sub>2</sub> < 80Torr 6分間歩行試験（6MD）で SpO <sub>2</sub> 90%未満の場合は III 度にする*
III 度	60Torr ≤ PaO <sub>2</sub> < 70Torr 6MD*で 90% 未満の場合は IV 度にする
IV 度	PaO <sub>2</sub> < 60Torr

\*危険な場合は測定不要

表2. LAM handbook 重症度

（改編し0を加えた）

0	80 < %FEV1
1 軽度	70 < %FEV1 ≤ 80
2 中等度	60 < %FEV1 ≤ 70
3 少し重症	50 < %FEV1 ≤ 60
4 重症	%FEV1 ≤ 50

厚生労働省呼吸不全症によるLAM重症度を表1に、LAM Handbookによる重症度を表2に示す<sup>(6) (7)</sup>。

### [結果]

吸気時LAV (LAVi) は691±831ml、吸気時総肺気量 (total lung volume: TLVi) は4176±1124ml、TLViのLAViの占める割合LAVix100/TLViは14.2±14.5%であった (n=19)。また呼気時LAV (LAVe) は373±633ml、吸気時総肺気量 (total lung volume: TLVe) は2643±1135ml、TLVeのLAVeの占める割合LAVex100/TLVeは9.6±12.7%であった (n=19)。TLViと肺機能検査による総肺気量 (total lung capacity: TLC) とはrho=0.531、p=0.041にて有意な相関を認めた (図2)。肺移植待期患者2名、結節性硬化症患者1名はTLViとTLCの解離が認められた。

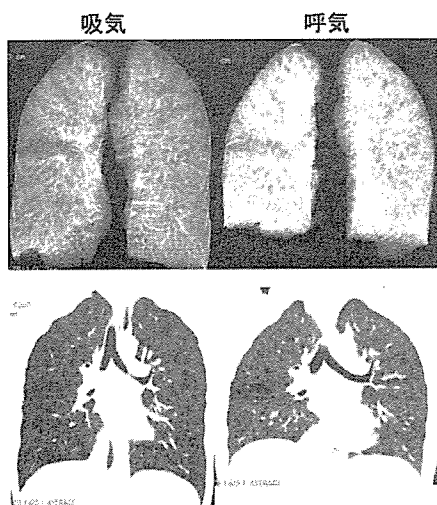


図1 吸気呼気の3次元構成像

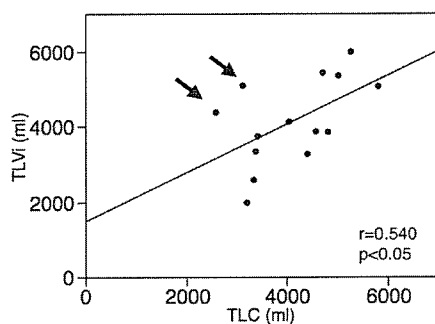


図2 吸気時総肺気量 (total lung volume: TLVe) と肺機能検査による総肺容量 (TLC) の関係。矢印は肺移植待機患者

表3 肺機能検査、血液ガスパラメーターとVolumetric CTによるLAAix100/TLVi、LAAex100/TLVeの相関

	肺機能検査、血液ガスとLAVの相関			
	volumetric CT			
	LAVi X 100/TLVi		LAVe X 100/TLVe	
	rho	p	rho	p
%FEV <sub>1.0</sub>	-0.912	≤0.001	-0.882	≤0.001
FEV <sub>1.0</sub> %	-0.896	≤0.001	-0.871	≤0.001
%VC	0.062	0.820	0.184	0.511
%RV	0.314	0.274	0.374	0.209
%DLco	-0.536	0.047	-0.330	0.272
%DLco/VA	-0.570	0.033	-0.337	0.261
PaCO <sub>2</sub>	0.044	0.881	0.127	0.680
PaO <sub>2</sub>	-0.610	0.021	-0.654	0.015
AaDO <sub>2</sub>	0.707	0.015	-0.484	0.156
			p<0.05, n=19	

表3に肺機能検査、血液ガスパラメーターとVolumetric CTによるLAVix100/TLVi、LAVex100/TLVeの相関を示す。呼気時のLAVe X 100/TLV、吸気時のLAVi X 100/TLV共に1秒量、PaO<sub>2</sub>と有意に相関し、LAVi X 100/TLVは拡散能ともよく相関した。

表4に表4 MRC、Borg scale、LAM重症度、COPD重症度とVolumetric CTによるLAVix100/TLVi、LAVex100/TLVeの相関を示す。吸気時、呼気時のLAVはともに重症度を反映していたが、時に呼気時のLAAix100/TLViは全てのパラメータと有意に相関していた。

LAVix100/TLVi、LAVex100/TLVeはLAM患者の重症度の悪化に応じて変動し、重症のため肺機能が困難な場合、気胸を繰り返していた時期にも施行可能で、患者の状態を良く反映していた (図3)。

表4 MRC、Borg scale、LAM重症度、COPD重症度とVolumetric CTによるLAAix100/TLVi、LAAex100/TLVeの相関

	疾患の重症度及び症状とvolumetric CTの相関			
	volumetric CT			
	LAVi X 100/TLVi		LAVe X 100/TLVe	
	rho	p	rho	p
MRC	0.676	≤0.021	0.582	≤0.041
Borg scale	0.602	0.011	0.491	0.054
呼気時LAM重症度	0.565	0.035	0.469	0.106
GOLD	0.863	≤0.001	0.797	0.0006
JRS COPD	0.902	≤0.001	0.863	0.0001
LAM handbook	0.874	≤0.001	0.859	0.0002
			p<0.05, n=19	



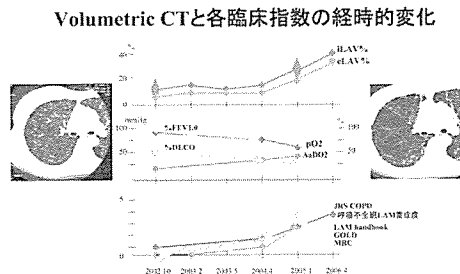


図3 LAM患者の重症度の偏移と volumetric CTの値の変化

### [ 考 察 ]

Volumetric CT（特に吸気時LAVix100/TLVi）はLAMの肺機能、重症度を良く反映していた。

LAM患者は経過中70%の患者が気胸を発症すると言われているが、気胸のため肺機能を希望されない場合も簡便に施行でき、また重症のため肺機能が不可能な患者、酸素吸入中でも評価可能である。患者の経時的変化を評価するのに極めて有用な検査であると思われた。

呼気時のVolumetric CTは呼出できない容量を反映しており、今後検討を加えて臨床的意義を明らかにする必要がある。

### [ 結 論 ]

Volumetric CT（特に吸気時LAVix100/TLVi）はLAMの重症度を良く反映する。

### [参考文献]

1. 井上義一、小堂直彦、是枝幸子、前田優華、坂谷光則. LAMにおけるLAM細胞の増殖と組織破壊のシグナル：マスト細胞の関与をみる. 分子呼吸器 2005, 9(5):414-419.
2. 久保恵嗣、井上義一. 本邦におけるLAMの治療、予後の現状と問題点. 日本胸部臨床, 2006, 65(2):150-155.
3. 林田美江、藤本圭作、久保恵嗣、瀬山邦明、井上義一. わが国におけるLAMの疫学. 日本胸部床, 2006, 65(2):113-119.
4. 大家晃子、井上義一、田中勲、小塚健倫、審良正則、前田優華、深水玲子、新井徹、林清二、木村謙太郎、坂谷光則. 肺リンパ脈管筋腫症の嚢胞性病変の評価 三次元computed tomographyによる試み. 臨床放射線. 2005, 50(1):104-107.
5. PA Gevenois, V de Maertelaer, P De Vuyst, J Zanen, and JC Yernault. Comparison of computed density and macroscopic morphometry in pulmonary emphysema. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1995, 152:653-657
6. LAM 診断基準作成小委員会：厚生労働省科学研究費補助金難知性疾患克服研究事業 呼吸不全に関する調査研究 平成17年度 27-29
7. The LAM Handbook - A guide for patients and their loved ones - 2004 by the LAM Foundation

# 重症肺リンパ脈管筋腫症における 中枢気道の病理学的解析

順天堂大学医学部人体病理病態学講座

熊坂 利夫 三谷 恵子 林 大久生

同 呼吸器内科学講座

瀬山 邦明 郡司 陽子

## 【はじめに】

LAMは思春期以降の女性に認められる平滑筋様細胞であるLAM細胞の増殖とそれに伴うリンパ管新生が主として肺および体軸リンパ系に進展する良性腫瘍性疾患である。しかし、細胞生物学的に良性でありながらLAM細胞の増殖は肺胞構造の破壊と嚢胞化をきたし呼吸不全に至ることがあり、肺移植の対象疾患となっている。

LAMにおける肺機能障害は主として閉塞性障害と拡散能障害であり、病理組織学的にはLAM細胞の増殖による末梢気道閉塞ならびに肺嚢胞による呼吸床の減少に対応すると考えられている。Matsuiら<sup>1</sup>によるLAM Histologic score (LHS)は肺組織中のLAM細胞の量および嚢胞化の程度をスコア化したもので、DLCOと関連しLAMの予後指標とされている。また、閉塞性障害においては気管支拡張剤に反応する事から気管支喘息類似の細気管支病変（細気管支炎）が指摘されている。<sup>2</sup>しかしながら、LAM患者における気管支組織の検討は生検組織を中心とした解析からは不可能であり、これまでほとんど報告がなかった。

今回、われわれはLAM患者の閉塞性障害が発生する機序を明らかにするために、肺移植により摘出された肺ならびに呼吸不全により死亡され剖検された肺における気管支組織を病理組織学的に検討することを試みた。

## 【対象と方法】

### 1. 対象、標本作製、および組織染色

岡山大学附属病院呼吸器外科および京都大学附属病院呼吸器外科において移植により摘出された肺5例（27-47歳、34.2±7.7歳）および順天堂医院において呼吸不全で亡くなった症例の剖検肺4例（33-41歳、37.8±3.6歳）、

計9例（35.8±6.2歳）の気管支について検討した。この研究は各機関の倫理委員会の承認をもとに施行された。

肺は10%ホルマリンにて固定し前述のごとく切り出しを行い、パラフィン包埋し4μに薄切してヘマトキシリン-エオジン染色ならびにエラスチカマッソン染色を施行した。特に移植により摘出された肺は、下幹を5mm幅で直角に連続8-10個切り出して検討した。

免疫染色は、LAM細胞を検出するためHMB45 (DAKO, Glostrup, Denmark)とα-smooth muscle actin(α-SMA) (DAKO)およびリンパ管内皮細胞の検出のためにD2-40(DAKO)の染色を施行した。気管支に浸潤する炎症細胞を同定するためにTリンパ球に対してCD45RO, Bリンパ球に対してCD20ならびにマスト細胞に対してC-kit(それぞれすべてDAKO)の染色を施行した。また、リンパ管内皮細胞の増殖を確認するために、D2-40と細胞増殖活性を見るMIB-1の二重染色を施行した。

### 2. モルフォメトリーによる気管支粘膜に浸潤する炎症細胞密度の測定

気管支の炎症の程度を比較するために、他要因の影響が否定できない剖検肺を除いた移植摘出肺5例の23気管支組織標本ブロックと肺癌により摘出された9例の肺から採取された9気管支組織標本ブロック（全例女性、27-47歳、41.1±5.6歳）の炎症細胞の浸潤の程度を比較した。浸潤する炎症細胞は免疫染色にて認識されるTリンパ球, Bリンパ球, およびマスト細胞をそれぞれカウントした。気管支粘膜内に浸潤する炎症細胞の個数を顕微鏡下にてカウントし、浸潤した炎症細胞の個数をカウントした気管支粘膜の面積を、デジアナライザー(KS400, Carl Zeiss Imaging Solutions GmbH, Hallbergmoos, Germany)を用い測定した。これにより、これらの個数と気管支粘膜の面積から浸潤する炎症細胞密度（細胞/

mm<sup>2</sup>) を計算した。

### 3. 統計解析

移植により摘出されたLAM肺とコントロールとして女性の若年肺癌摘出肺の気管支に浸潤する炎症細胞の密度をMann-Whitney U test (StatView for Windows, SAS Institute Inc., Cary, NC)を用いて検討し、 $P < 0.05$ を統計学的有意差ありとした。

### 【結 果】

検討した5例の移植摘出肺および4例の剖検肺はすべてほぼ両側全肺に嚢胞形成が認められ、MatsuiらによるLAM組織スコア (LHS) 3で、高度に肺組織構造の破壊が認められた。組織学的には、嚢胞壁および呼吸細気管支ならびに非呼吸細気管支にLAM細胞が増殖し破壊狭窄が認められた。軟骨を伴う中樞側気管支にはさまざまな程度のLAM細胞の浸潤が認められ、浸潤・増殖は気管支周囲結合織から気管支粘膜下組織にまで認めた。さらに、増殖したLAM細胞は気管支壁を構成する軟骨、気管支腺、平滑筋などにも浸潤しそれらの構造の破壊を認めた。特に、LAM細胞による気管支軟骨の破壊は、軟骨の脱臼による気管支内腔の著しい狭窄をもたらしていた。また、気管支壁が高度に破壊され支持組織が消失した場合には、あたかも膜様気管支壁しか持たない細気管支様の気管支に変化している (気道の細気管支化) 場合も見られた。このような気管支の壁構造の消失も含めた変形は9例の検討中8例に認められた。(図1, 表1)

LAM細胞が浸潤増殖する気管支壁の周囲および壁内に多数の不規則な拡張した腔が認められ、これらの腔はLAM細胞の増殖巣に接する場合が多かった。このような腔にはLAMによって破壊されて嚢胞化した気腔と同程度の大きさのものも認められた。これら腔の内腔面は扁平な細胞が一層性に被っており、I型肺胞上皮細胞の核より小型の円形核を有した細胞で疎に分布していた。これらについてリンパ管内皮細胞を認識するD2-40抗体を用いて免疫染色を施行すると、多数の気管支壁内の小型腔から気管支周囲に認められた嚢胞状の大型腔にわたり、内腔面を被う扁平細胞の細胞表面が陽性となり、それぞれリンパ管腔であることがわかった。さらにこのD2-40抗体による検討によりリンパ管腔は気管支壁および周囲のみならず、肺血管

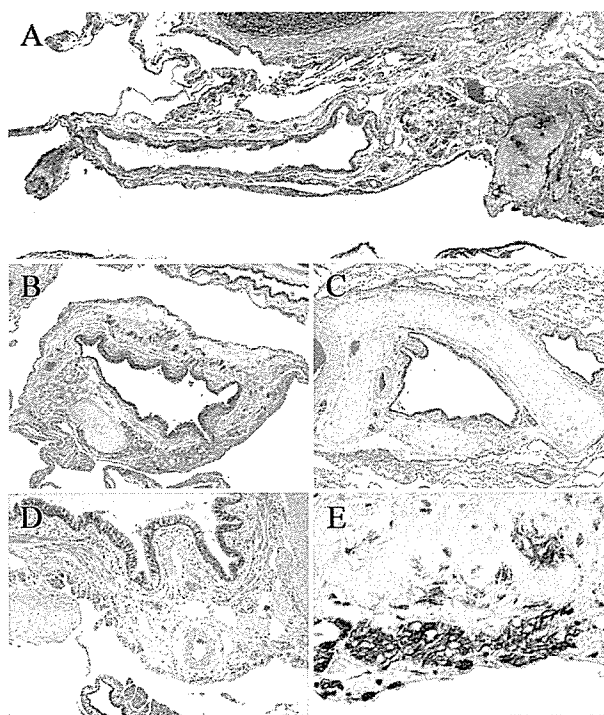


図 1

- A. 長径5mmの気管支。気管支軟骨の破壊と壁の非薄化を認める。(エラスチカマッソン染色)
- B. 気管支周囲のLAM細胞の増殖と肺胞構造の消失を認める。(HE染色)
- C. 気管支軟骨の脱臼により内腔の狭小化を認める。(HE染色)
- D. 気管支壁にはLAM細胞の増殖とリンパ管の拡張があり、軟骨組織が気腔に露出している。(HE染色)
- E. 気管支の軟骨組織を破壊して増殖するLAM細胞。(α-smooth muscle actinの免疫染色)

Pathologic features of large airway in life-threatening patients with pulmonary lymphangiomyomatosis

Case	Age	Procedure	Bronchial areas invaded by LAM cells	Bronchial epithelium			Loss or dislocation of cartilages
				Thickening of basal lamina	Goblet cell hyperplasia	Squamous cell metaplasia	
1	27	Transplantation	Submucosa	+	+++	-	+
2	30	Transplantation	Submucosa	+	+	-	+
3	30	Transplantation	Submucosa	+	++	-	+
4	38	Transplantation	Submucosa	+	+	+	+
5	46	Transplantation	Submucosa	+	+++	++	+
6	33	Autopsy	Peribronchi	+	+++	-	+
7	37	Autopsy	Submucosa	+	+	-	+
8	40	Autopsy	Submucosa	-	+++	+	+
9	41	Autopsy	Peribronchi	+	-	-	-

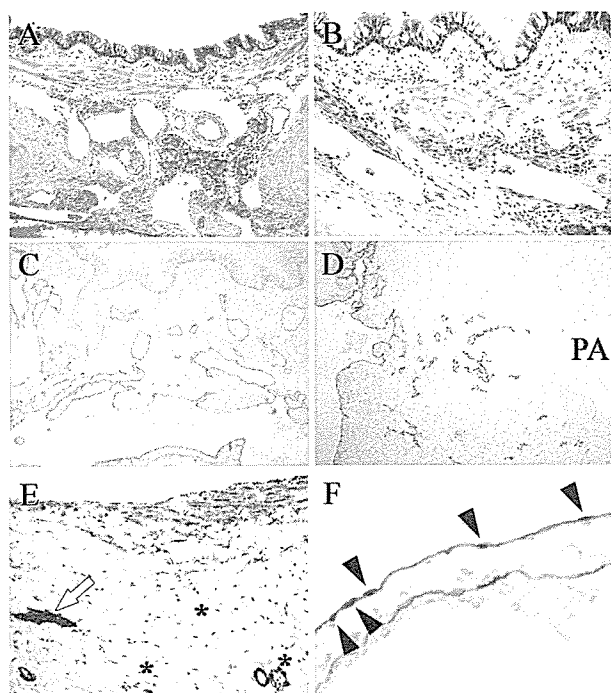


図2  
 A. 気管支壁内の拡張したリンパ管腔。気管支上皮は杯細胞過形成を認める。(HE染色)  
 B. 拡張したリンパ管の周囲に認められるLAM細胞。気管支上皮には気管支平滑筋を認める。(HE染色)  
 C. リンパ管内皮細胞のマーカであるD2-40で染色した気管支壁。多数の拡張したリンパ管が認められると同時に気管支周囲の大きな腔もリンパ管であることがわかる。  
 D. LAM肺のリンパ管は拡張のみではなく、肺動脈(PA)壁内にも見られる。  
 E. 肺動脈壁内のLAM細胞(矢印)と拡張したリンパ管腔(\*)が見られ、壁内の血管平滑筋の消失を認める。(α-smooth muscle actinの免疫染色)  
 F. リンパ管内皮に認められるMIB-1陽性リンパ管内皮細胞(矢頭)。(D2-40とMIB-1の二重染色)

の周囲からさらに血管壁内にも進展していることがわかった。血管壁に浸潤している部位では、壁内にLAM細胞の浸潤も見られるが、LAM細胞の増殖とは無関係にリンパ管腔を血管壁内に認め、同時に血管平滑筋の消失を認めた。これらのリンパ管内皮細胞に増殖活性があるかどうか調べるためにD2-40とMIB-1の二重染色を施行した結果、MIB-1陽性リンパ管内皮細胞を確認することができた。(図2)

気道の慢性炎症の指標として認められる気管支上皮の基底膜の肥厚、杯細胞過形成、および扁平上皮化生はそれぞれ9例中6例、8例、3例に認められた。LAMの気管支粘膜に浸潤する炎症細胞は軽度から高度まで認められ、

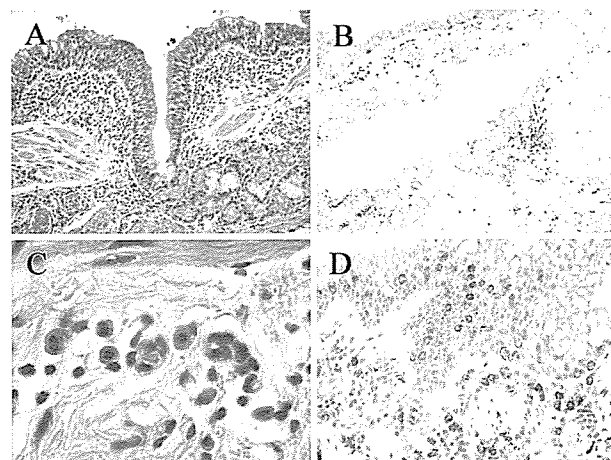


図3  
 A. 気管支壁内に浸潤する高度の単核細胞。(HE染色)  
 B. 気管支壁の拡張したリンパ管周囲に浸潤するTリンパ球。(CD45ROの免疫染色)  
 C. 気管支粘膜下に浸潤する比較的豊かな胞体を有するマスト細胞。周囲の胞体のほとんどない小型円形核を持つ細胞はリンパ球である。(HE染色)  
 D. 気管支粘膜および粘膜上皮下に浸潤する多数のC-kit陽性マスト細胞。(C-kitの免疫染色)

Comparison of densities of infiltrating mast cells in bronchial mucosa between LAM and control lungs

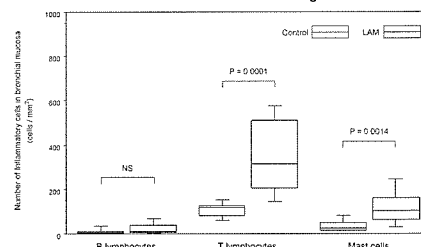


図3.

特に単核細胞の浸潤を強く認めた。また、移植摘出肺5例中3例において好酸球の浸潤を軽度で認めた。剖検症例では好酸球の浸潤は認められなかったが、好中球浸潤を軽度で認める症例もあった。移植摘出肺では好中球浸潤はほとんど認められなかった。(表1)これらの所見は、LAMの気管支には気管支喘息に類似した気管支上皮の慢性炎症を認めたが、喘息特有の好酸球浸潤、気管支腺の過形成や平滑筋の肥厚は認められなかった。

LAM気管支粘膜内に浸潤する単核細胞は、HE染色により小型のNC比の高いリンパ球とリンパ球よりやや大きな細胞で顆粒状の胞体を持ち好塩基性に染色されるマスト細胞であった。気管支粘膜内に浸潤したマスト細胞には脱顆粒した細胞はほとんど認められなかった。免疫染色によりこれらの単核細胞をTリンパ球、Bリンパ球、

およびマスト細胞の浸潤が混在していることがわかり、特にマスト細胞の浸潤が高度にある気管支粘膜も認められた。(図3)

LAM移植摘出肺の気管支粘膜に浸潤する単核細胞の浸潤密度を計測し、若年女性肺癌摘出肺の気管支粘膜における測定結果と比較検討した。その結果、LAM肺の気管支粘膜内に浸潤するTリンパ球の中央値は $315.5/\text{mm}^2$ であるのに対し肺癌症例は $117/\text{mm}^2$ であり、マスト細胞では、 $103.7$  vs.  $36.5/\text{mm}^2$ で有意にLAM肺の気管支粘膜において高かった。(それぞれ、 $p=0.0001$ ,  $p=0.0014$ )しかしながら、Bリンパ球では有意差を認めなかった。(図4)

## 【考 察】

LAM患者に認められる呼吸機能異常は閉塞性換気障害と肺拡散能障害と言われている。<sup>3-5</sup>特に肺拡散能障害は閉塞性換気障害より肺組織の重症度スコア(LHS)<sup>1</sup>にきわめてよく相関することから、患者予後の重要な指標となるとされており、閉塞性換気障害はLHSとの相関がなく、また組織学的気道炎症との相関もなく末梢気道におけるLAM細胞の結節性増殖と関連して認められると考えられていた。<sup>2</sup>

今回われわれはLAM重症症例の気管支の組織学的検討から1)中枢側気管支壁の高度変形、2)増殖したリンパ管の気管支粘膜および血管への浸潤、3)気管支粘膜の慢性炎症、特にマスト細胞の高度の浸潤が認められた。

LAM細胞はMatrix metalloproteinaseの発現することにより、肺胞や末梢気道の構造の破壊を引き起こすことはよく知られている。<sup>6-9</sup>LAM重症症例においては、末梢気腔のみならずLAMの進展に伴って気管支壁の構造を破壊し、気管支壁の脆弱性を亢進させ気管支の“細気管支化”や軟骨の脱臼を引き起こしたと考えられる。これらの気管支病変は、高度の気道閉塞を引き起こす可能性がある。さらに、LAM細胞や新生リンパ管が気管支壁・粘膜のみならず肺血管に浸潤することが今回の検討により明らかになった。これらの浸潤は小血管にも認められ、特にLAM細胞の増殖は血管腔の狭窄・閉塞をきたし血管床の減少や血管抵抗の増加を引き起こすものと思われる。

また、気管支粘膜の炎症性変化は末梢気道の変化とは異なり<sup>2</sup>、気道上皮の変化は慢性気管支炎や気管支喘息の組織像に類似したものであるが、LAM細胞の増殖により気管支壁構造が消失しているため、慢性気管支炎や

気管支喘息に認められる気管支壁の肥厚はほとんど認められなかった。今回の検討において気道粘膜に浸潤する炎症細胞は好中球、好酸球をほとんど認めず、リンパ球やマスト細胞などの単核細胞が高度であった。マスト細胞は喘息などにおいて認められる脱顆粒によるChemical mediatorsの放出のみではなく、MMPの産生<sup>10-12</sup>やVEGFの産生<sup>13,14</sup>などのさまざまな機能を有することがわかってきた。マスト細胞のこのような機能は重症LAM患者の気管支壁のリモデリングに関与している可能性があると考えられる。

## 【結 論】

重症LAM患者における中枢気道病変はLAM細胞の浸潤増殖に加え、リンパ管新生による気管支壁の脆弱性の亢進による2次的な慢性気道炎症を引き起こしている可能性がある。特に気管支壁に浸潤するマスト細胞は気管支壁のリモデリングに関与している可能性がある。

## 【謝 辞】

今回の研究に際しまして、LAM移植摘出肺の組織学的検討をご許可いただきました、岡山大学附属病院呼吸器外科伊達洋至先生、独立行政法人国立病院機構岡山医療センター臨床検査科山鳥一郎先生、京都大学呼吸器外科和田洋巳先生、ならびに気管支のモルフォメトリーにご協力いただきました順天堂大学大学院研究基盤センター細胞病理イメージング研究部門小島裕子氏にこの場を借りて深謝いたします。

## 【参考文献】

1. Matsui K, Beasley MB, Nelson WK, et al. Prognostic significance of pulmonary lymphangioleiomyomatosis histologic score. *Am J Surg Pathol* 2001;25:479-84.
2. Taveira-DaSilva AM, Hedin C, Stylianou MP, et al. Reversible airflow obstruction, proliferation of abnormal smooth muscle cells, and impairment of gas exchange as predictors of outcome in lymphangioleiomyomatosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1072-6.
3. Burger CD, Hyatt RE, Staats BA. Pulmonary mechanics in lymphangioleiomyomatosis. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:1030-3.

4. Hayashi T, Fleming MV, Stetler—Stevenson WG, et al. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs) in pulmonary lymphangiomyomatosis (LAM). *Hum Pathol* 1997;28:1071—8.
5. Matsui K, Takeda K, Yu ZX, Travis WD, Moss J, Ferrans VJ. Role for activation of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of pulmonary lymphangiomyomatosis. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:267—75.
6. Zhe X, Yang Y, Jakkaraju S, Schuger L. Tissue inhibitor of metalloproteinase—3 downregulation in lymphangiomyomatosis: potential consequence of abnormal serum response factor expression. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28:504—11.
7. Zhe X, Yang Y, Schuger L. Imbalanced plasminogen system in lymphangiomyomatosis: potential role of serum response factor. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;32:28—34.
8. Kanbe N, Tanaka A, Kanbe M, Itakura A, Kurosawa M, Matsuda H. Human mast cells produce matrix metalloproteinase 9. *Eur J Immunol* 1999;29:2645—9.
9. Heissig B, Rafii S, Akiyama H, et al. Low—dose irradiation promotes tissue revascularization through VEGF release from mast cells and MMP—9—mediated progenitor cell mobilization. *J Exp Med* 2005;202:739—50.

# 肺リンパ脈管筋腫症(Lymphangiomyomatosis: LAM)におけるExtracellular matrix metalloproteinase (EMMPRIN)の検討

別役 智子<sup>1)</sup> 小田島奈央<sup>1)</sup> 南須原康行<sup>1)</sup> 西村 正治<sup>2)</sup>

## <はじめに>

LAMは妊娠可能な年齢の女性に好発し、病理学的に異常な平滑筋細胞増殖(LAM細胞)と嚢胞形成を特徴とする稀な不可逆進行性の疾患である(1)。細胞外基質を分解するマトリックスメタロプロテアーゼ(Matrix metalloproteinases:MMPs)の中で、4型コラーゲン分解酵素であるMMP-2 (gelatinase A, 72kD) やMMP-9 (gelatinase B, 92kD) はLAM細胞に発現することが過去に報告されており、これらの酵素により肺胞壁が分解され嚢胞が形成されると考えられている(2,3)。LAM患者の病勢や予後を推測するマーカーとして、これまでに肺拡散能(4)や肺病理所見上のLAM細胞と嚢胞の割合を示すLAM histologic score (LHS)(5)や血清VEGF(6)が検討されている。昨年度、我々はGelatin zymographyを用いた検討で、LAM患者の血清では、健常対象群に比べてMMP-9が高値を示すことを報告した(7)。一部の患者に対し、気管支肺胞洗浄(BAL)を行い、その上清についても同様の検討を行ったが、LAM患者でのMMP-9あるいはMMP-2の上昇は認めなかった(7)。

膜貫通型糖蛋白であるExtracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN)は、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する中心部分蛋白の分子量が27kD、糖鎖修飾をうけた分子量が43-66kDの糖蛋白である(8,9)。別名ヒトではCD147、マウスではbasigin、などと呼ばれ、糖鎖修飾を受けることで分子の機能が発揮される(10)。EMMPRINは胎児肺の上皮に強く発現し(11,12)、正常成人肺(13)では出現しないが、癌疾患(14)を含むさまざまな疾患において高発現することや、間葉系細胞に働いてMMPsの産生を誘導すると報告されている(15-18)。そこで今年度は、このEMMPRINに注目し、そのLAM

細胞における発現を明らかにするため、免疫染色を施行し、LAM結節におけるEMMPRIN mRNA発現やBAL液中EMMPRIN量を測定する。

## <対象・方法>

### 1. 免疫染色

臨床病理学的に診断されたLAM患者5名の肺組織パラフィン切片を用いてEMMPRIN、MMP-2、MMP-9の免疫染色を施行した。方法は、以前我々が報告したものと同様である(19)。使用した抗体は、マウス抗ヒトEMMPRINモノクローナル抗体(clone 1G6.2, Chemicon)、マウス抗ヒトMMP-2モノクローナル抗体(clone 42-5D11, 第一ファインケミカル)、マウス抗ヒトMMP-9モノクローナル抗体(Clone 56-2A4, Chemicon)である。

### 2. RT-PCR

LAM患者4名と非喫煙妊娠可能年齢の健常女性コントロール4名の手術摘出肺組織切片を1cm四方に切断し、O.C.T.compoundを肺に注入し再膨張させた後、凍結組織標本として-70℃にて保存する。7ミクロン厚に薄切した凍結標本切片約15枚からQiagen社製RNeasy Mini kitを用いてtotal RNAを抽出し、逆転写後、ABI PRISM 7700 Sequence Detector(PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)を用いて定量的PCR法を用いてEMMPRIN mRNA量を定量し内因性コントロールglyceraldehyde-3-phosphatase-dehydrogenase (GAPDH) mRNAの発現で補正した(20)。EMMPRIN mRNAの増幅に用いたプライマーとプローブは、PE Applied Biosystems社のPrimer Express softwareによってデザインされ、forward, 5'-ACCTGGCCGCCCTCTG-3'; reverse, 5'-TCGTAGTAGAAGATGATGGTGACC-3'; probe, 5'-FAMCCTTCCATGGCATCGTGGCTGAGGT-TAMRA-3'とした(13)。

1)北海道大学病院部第一内科

2)北海道大学大学院医学研究科呼吸器内科学分野

### 3. Laser capture microdissection(LCM)

LCM法は、組織から特定の細胞を採取し、遺伝子発現を解析する方法である(21)。このLCM(Arcturus Engineering社製 PixCell II system)を用いて、4名のLAM患者凍結肺組織と健常コントロール凍結肺組織から顕微鏡下にLAM結節と18Gの針先を用いて肺脈管系、末梢気道、胸膜などを除去した肺胞隔壁部分を回収し、上記の方法でEMMPRIN mRNA発現を検討した。

### 4. 気管支肺胞洗浄(BAL)

BALはsequential BAL法を用いた(13)。右中葉あるいは舌区枝より生理食塩水を50mlずつ4回に分けて注入し、最初の50mlからの回収液は太い気道から得られた成分を比較的反映している分画として今回の測定には用いず、残り150mlからの回収液を肺胞領域の成分をより反映していると仮定して以下の解析に用いた。遠心分離機によりBAL液上清と細胞成分に分離した後、細胞成分について細胞数、細胞分画を算出した。

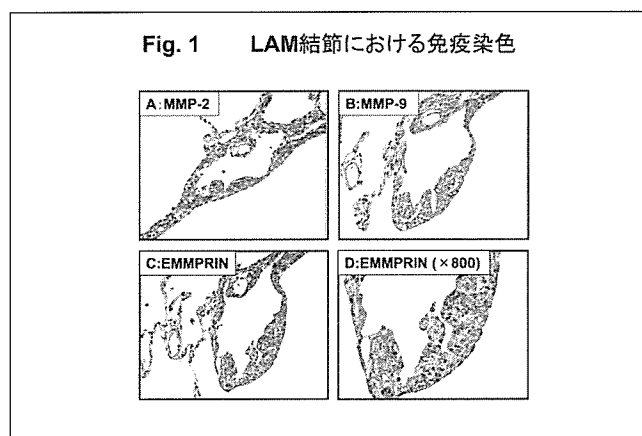


Fig. 1 : LAM結節におけるMMP-2, MMP-9, EMMPRINの免疫染色

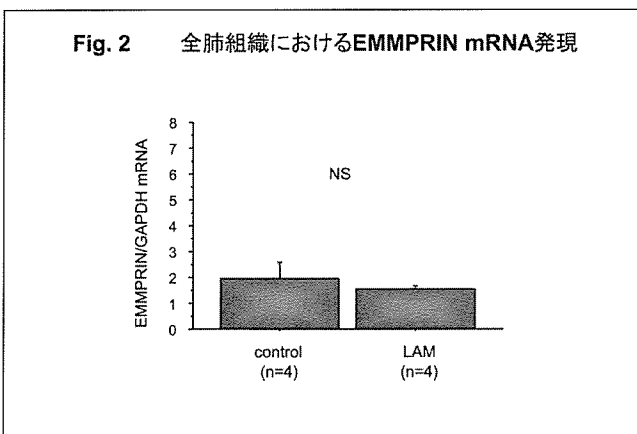


Fig. 2 : 全肺組織におけるEMMPRIN RNA発現

### 5. ELISA

LAM患者9名と健常コントロール9名のBAL液を用いて、我々が以前確立したELISA法(13)を用いてEMMPRIN量を測定した。

## < 結果 >

#### 1. 免疫染色

従来報告の通り(2,3)、MMP-2やMMP-9はLAM結節に発現していた(Fig.1A,B)。連続切片でEMMPRINはLAM結節に高発現していた(Fig.1C)。LAM結節を構成するLAM細胞には、大小の紡錘型と上皮型の2種類の細胞があることが報告されているが(1-3)、紡錘型LAM細胞に特にEMMPRINは発現していた(Fig.1D)。

#### 2. 全肺組織及びLAM結節におけるEMMPRIN mRNA量

肺組織を用いた対象患者の特徴を示す(table 1)。EMMPRIN mRNA発現は、全肺組織homogenateから得た健常人とLAM患者の間で差を認めなかった(1.9±0.7vs.1.5±0.2)(Fig. 2)。LCM法にて選択採取したLAM結節をFig.3に示す。採取した細胞がLAM細胞のみであることがわかる。次に、採取したLAM結節でのEMMPRIN mRNA発現を同一LAM患者の全肺組織のEMMPRIN

Table 1 凍結肺組織のLAM患者及び対象患者の臨床的特徴

	LAM	Control
Number of subjects (female/male)	4(4/0)	4(4/0)
Age (y)	32±3*	45±3
TS	2/4	0/9
FEV <sub>1</sub> ml (range)	2343±367 (1410-3200)	2815±87 (2570-2980)
FEV <sub>1</sub> /FVC, % (range)	71±10 (43-92)	86±3 (80-91)

Mean ± SEM (range)  
\* p<0.05

Table 2 BALの対象患者の臨床的特徴

	LAM	Control
Number of subjects (female/male)	9(8/1)	9(9/0)
Age (y)	35±3 <sup>1</sup>	26±1
Smoker	2/9	0/9
TS	5/9	0/9
VC, % pred.	110±6 (70-139)	110±4 (89-132)
FEV <sub>1</sub> /FVC, %	75±7 (39-95)	90±2 (82-100)
DL <sub>CO</sub> , % pred.	70±9 (33-112)	NA
Total cells, ×10 <sup>4</sup> /mL	17.5±5.7 <sup>1</sup>	5.3±0.5
Macrophages	81.6±4.0	88.5±1.9
Lymphocytes	17.1±3.6	10.8±1.9
Neutrophils	1.0±0.4	0.6±0.3
Eosinophils	0.4±0.2	0.1±0.1
Total protein, µg/mL	141.7±21.5 <sup>1</sup>	70.9±8.4

<sup>1</sup>: p<0.05 vs. control  
Mean ± SEM (range)



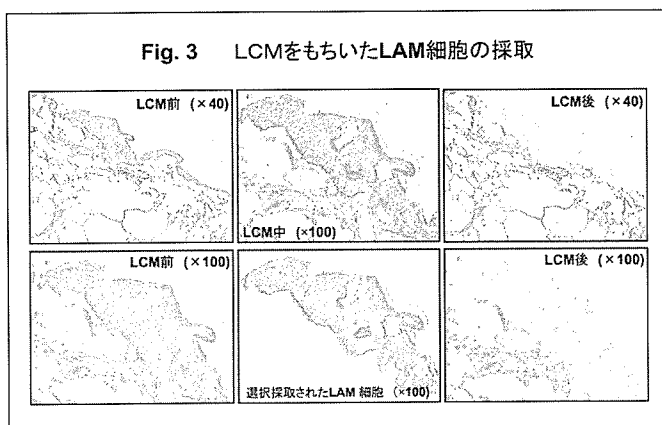


Fig. 3 : LCMを用いたLAM細胞の採取

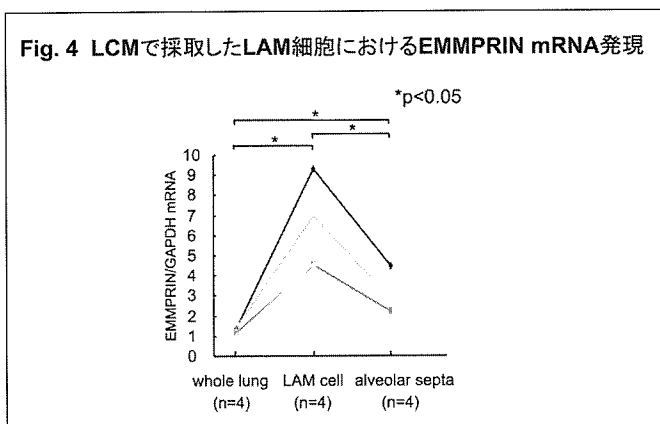


Fig. 4 : LCMで採取したLAM細胞におけるEMMPRIN mRNA発現

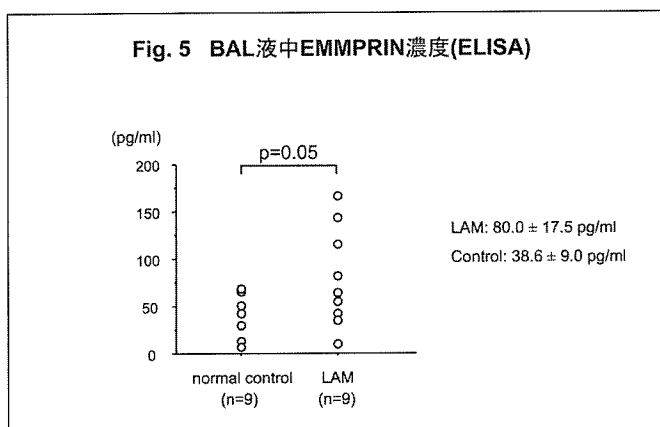


Fig. 5 : BAL液中EMMPRIN濃度

mRNAと比較したところ、有意にその発現がLAM結節において上昇していた( $6.4 \pm 1.1$  vs.  $1.2 \pm 0.1$ ,  $p < 0.05$ )。また、肺胞隔壁部分と比べてLAM結節でのEMMPRIN mRNA発現も上昇していた( $6.4 \pm 1.1$  vs.  $3.1 \pm 0.5$ ,  $p < 0.05$ ) (Fig. 4)。

### 3. BAL液中のEMMPRIN量

BALの対象をtable 2に示す。呼吸機能検査値に差を

認めなかったが、BAL液の細胞数と総蛋白量はLAM患者で上昇していた。統計学的な有意さではないが、LAM患者のBAL液中のEMMPRIN値は、健常コントロールと比較して上昇していた( $80.0 \pm 17.5$  pg/ml vs.  $38.6 \pm 9.0$  pg/ml,  $p = 0.05$ ) (Fig. 5)。

## < 考 察 >

LAM結節は、形態学的に少なくとも2種類の細胞より構成されるheterogeneousな細胞集塊である(1-3)。LAM細胞のマーカーとされるHMB-45、PR、ERは、2種類のLAM細胞のうち上皮型のLAM細胞に陽性になることが示されており、一方、紡錘型LAM細胞には、細胞増殖マーカーであるPCNAやMMP-2、MMP-9が陽性となると報告されている(1-3, 22)。これらの細胞にMMPsが誘導される機序については、これまで明らかとはなっていないが、今回の検討から、EMMPRINがこれらの紡錘型LAM細胞にMMPsを誘導し、嚢胞形成に関与している可能性が示唆される。また、VEGFがLAM細胞に高発現し病態に関与することが報告されている(6, 23)が、EMMPRINはVEGFも誘導することが近年報告されており(24, 25)、これらよりEMMPRINはLAM細胞においてMMPsだけでなくVEGF誘導にも関与している可能性がある。今後は培養LAM細胞などを用いて、検討をすすめる必要がある。また、我々は、これまでLAM患者以外の喫煙者BAL液(13)や間質性肺炎患者BAL液(19)を用いて、同様のELISA法にてBAL液中EMMPRIN濃度が高値を示すことを報告してきた。喫煙者においては、肺胞マクロファージや気道上皮細胞より、また間質性肺炎患者においては再生上皮細胞よりEMMPRINは産生され、気腔内に放出されると考えている。したがって、LAM患者のBAL液中で測定されたEMMPRINは、LAM細胞より産生放出されたEMMPRINを反映していると考えられる。しかし、その発現程度には個人差があることから、LAM患者の病態や病勢にEMMPRINがどの程度関与するのか、まずはLAM細胞におけるEMMPRIN発現の程度や極性および発現の機序を解明することを今後検討している。

## < 結 語 >

我々は、初めてLAM患者の肺組織に存在するLAM細胞とBAL液中に、EMMPRINが上昇していることを報告した。

<参考文献>

- 1) Ferrans VJ, Yu ZX, Nelson WK, Valencia JC, Tatsuguchi A, Avila NA, Riemenschneider W, Matsui K, Travis WD, Moss J. Lymphangiolo-myomatosis (LAM). A review of clinical and morphological features. *J Nippon Med Sch* 2000;67:311–329.
- 2) Hayashi T, Fleming MV, Stetler–Stevenson WG, Liotta LA., Moss J, Ferrans VJ, Travis WD. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs) in pulmonary lymphangiolo-myomatosis (LAM). *Hum Pathol* 1997;28:1071–1078.
- 3) Matsui K, Takeda K, Yu ZX, Travis WD, Moss J, Ferrans VJ. Role for activation of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of pulmonary lymphangiolo-myomatosis. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:267–275.
- 4) Taveira–DaSilva AM, Hedin C, Stylianou MP, Travis WD, Matsui K, Ferrans VJ, Moss J. Reversible airflow obstruction, proliferation of abnormal smooth muscle cells, and impairment of gas exchange as predictors of outcome in lymphangiolo-myomatosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1072–1076.
- 5) Matsui K, Beasley MB, Nelson WK, Barnes PM, Bechtel J, Falk R, Ferrans VJ, Moss J, Travis WD. Prognostic significance of pulmonary lymphangiolo-myomatosis histologic Score. *Am J Surg Pathol* 2001;25:479–484.
- 6) Kumasaka T, Seyama K, Mitani K, Sato T, Souma S, Kondo T, Hayashi S, Minami M, Uekusa T, Fukuchi Y, Suda K. Lymphangiogenesis in lymphangiolo-myomatosis. Its implication in the progression of lymphangiolo-myomatosis. *Am J Surg Pathol* 2004;28:1007–1016.
- 7) Odajima N, Betsuyaku T, Nasuhara Y, Inoue H, Seyama K, Nishimura M. Matrix Metalloproteinases –9 and –2 in Circulating Blood and Bronchoalveolar Lavage Fluid from Patients with Lymphangiolo-myomatosis. (submitted)
- 8) Miyauchi T, Kanekura T, Yamaoka A, Ozawa M, Miyazawa S, Muramatsu T. Basigin, a new, broadly distributed member of the immunoglobulin superfamily, has strong homology with both the immunoglobulin V domain and the beta–chain of major histocompatibility complex class II antigen. *J Biochem (Tokyo)* 1990;107:316–323.
- 9) Biswas C, Zhang Y, DeCastro R, Guo H, Nakamura T, Kataoka H, Nabeshima K. The human tumor cell–derived collagenase stimulatory factor (renamed EMMPRIN) is a member of the immunoglobulin superfamily. *Cancer Res* 1995;55:434–439.
- 10) Kanekura T, Miyauchi T, Tashiro M, Muramatsu T. Basigin, a new member of the immunoglobulin superfamily: genes in different mammalian species, glycosylation changes in the molecule from adult organs and possible variation in the N–terminal sequences. *Cell Struct Funct* 1991;16:23–30.
- 11) Fan QW, Kadomatsu K, Uchimura K, Muramatsu T. Embigin/Basigin subgroup of the immunoglobulin superfamily: different modes of expression during mouse embryogenesis and correlated expression with carbohydrate antigenic markers. *Dev Growth Differ* 1998;40:277–286.
- 12) Igakura T, Kadomatsu K, Kaneme T, Muramatsu H, Fan QW, Miyauchi T, Toyama Y, Kuno N, Yuasa S, Takahashi M, Senda T, Taguchi O, Yamamura K, Arimura K, Muramatsu T. A null mutation in basigin, an immunoglobulin superfamily member, indicates its important roles in peri–implantation development and spermatogenesis. *Dev Biol*, 1998;194:152–165.
- 13) Betsuyaku T, Tanino M, Nagai K, Nasuhara Y, Nishimura M, Senior RM. Extracellular matrix metalloproteinase inducer is increased in smokers’ bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:222–227.
- 14) Toole BP. Emmprin (CD147), a cell surface regulator of matrix metalloproteinase production and function. *Curr Top Dev Biol* 2003;54:371–389.
- 15) Kataoka H, DeCastro R, Zucker S, Biswas C. Tumor cell–derived collagenase– stimulatory factor increases expression of interstitial collagenase, stromelysin, and 72–kDa gelatinase. *Cancer Res* 1993;53:3154–8.
- 16) Guo H, Zucker S, Gordon MK, Toole BP, Biswas

- C. Stimulation of matrix metalloproteinase production by recombinant extracellular matrix metalloproteinase inducer from transfected Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1997;272:24–7.
- 17) Zucker S, Hymowitz M, Rollo EE, Mann R, Conner CE, Cao J, Foda HD, Tompkins DC, Toole BP. Tumorigenic Potential of Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer. *Am J Pathol* 2001;158:1921–8.
  - 18) Sameshima T, Nabeshima K, Toole BP, Yokogami K, Okada Y, Goya T, Koono M, Wakisaka S. Glioma cell extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) (CD147) stimulates production of membrane-type matrix metalloproteinases and activated gelatinase A in co-cultures with brain-derived fibroblasts. *Cancer Lett* 2000;157:177–84.
  - 19) Betsuyaku T, Kadomatsu K, Griffin GL, Muramatsu T, Senior RM. Increased basigin in bleomycin-induced lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28:600–606.
  - 20) Betsuyaku T, Griffin GL, Watson MA, Senior RM. Laser capture microdissection and real-time reverse transcriptase/polymerase chain reaction of bronchiolar epithelium after bleomycin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;25:278–284.
  - 21) Matsumoto Y, Horiba K, Usuki J, Chu SC, Ferrans VJ, Moss J. Markers of cell proliferation and expression of melanosomal antigen in lymphangioma leiomyomatosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;21:327–336.
  - 22) Kumasaka T, Seyama K, MD, Mitani K, Souma S, Kashiwagi S, Hebisawa A, Sato T, Kubo H, Gomi K, Shibuya K, Fukuchi Y, Suda K. Lymphangiogenesis-mediated shedding of LAM cell clusters as a mechanism for dissemination in lymphangioma leiomyomatosis. *Am J Surg Pathol* 2005;29:1356–1366.
  - 23) Tang Y, Nakada MT, Kesavan P, McCabe F, Millar H, Rafferty P, Bugelski P, Yan L. Extracellular matrix metalloproteinase inducer stimulates tumor angiogenesis by elevating vascular endothelial cell growth factor and matrix metalloproteinases. *Cancer Res* 2005;65:3193–3199.
  - 24) Tang Y, Nakada MT, Rafferty P, Laraio J, McCabe F, Millar H, Cunningham M, Snyder LA, Bugelski P, Yan L. Regulation of vascular endothelial growth factor expression by EMMPRIN via the PI3K–Akt signaling pathway. *Mol Cancer Res* 2006;4:371–377.
  - 25) Odajima N, Betsuyaku T, Nasuhara Y, Itoh T, Fukuda Y, Senior RM, Nishimura M. Extracellular matrix metalloproteinase inducer in interstitial pneumonias. *Hum Pathol* 2006;37:1058–1065.
  - 26) Tang W, Chang SB, Hemler ME. Links between CD147 function, glycosylation, and caveolin-1. *Mol Biol Cell* 2004;15:4043–4050.
  - 27) Tang W, Hemler ME. Caveolin-1 regulates matrix metalloproteinases-1 induction and CD147/EMMPRIN cell surface clustering. *J Biol Chem* 2004;279:11112–11118.

# 肥満低換気症候群およびメタボリックシンドローム 合併症例に関する調査 —横断的調査（中間報告）—

奈良県立医科大学内科学第二講座

吉川 雅則 福岡 篤彦 玉置 伸二 友田 恒一

牧之段 潔 児山 紀子 木村 弘

信州大学医学部内科学第一講座

久保 恵嗣

## 【はじめに】

肥満低換気症候群（obesity hypoventilation syndrome: OHS）は、高度の肥満と肺泡低換気の特徴とし、しばしば重篤な心血管系合併症をきたす。通常の睡眠時無呼吸症候群（sleep apnea syndrome: SAS）と比較して明らかに予後不良であることから注目される病態である。平成8年度（1996年度）呼吸不全調査研究班において作成された診断基準<sup>1)</sup>（表1）に基づく平成9年度（1997年度）研究報告<sup>2)</sup>では、OHS患者数が全国で180名と推計された。しかし、近年SAS診断症例数の著しい増加が認められることから、現時点でのOHS患者数を推計する必要がある。また、OHSの病態生理には不明な点も残されている。一部には、睡眠時無呼吸が明らかでないにもかかわらず低酸素血症が持続する症例も含まれており、診断基準の見直しをすすめる必要性もある。

メタボリックシンドローム（metabolic syndrome: MS）とは2005年に診断基準（表2）が示された内臓脂肪型肥満を基盤に高脂血症、高血圧、高血糖を呈する疾患概念である<sup>3)</sup>。動脈硬化病変による心血管イベントの原因となることから近年社会的にも注目を浴びている。OHSでは高度の肥満を呈することからMSの合併頻度を明確にし、合併症としてのMSを念頭においた治療指針を作成することが重要と考えられる。これらを背景に、平成17年度から本研究班として、『肥満低換気症候群およびメタボリックシンドローム合併症例に関する調査』を開始した<sup>4)</sup>。今回は、SAS診断症例数およびOHS診断症例数について、横断的調査の中間集計を行った。

表1 OHSの診断基準

●下記4項目を満たす症例

- 1) BMI $\geq 30\text{kg}/\text{m}^2$ を呈する。
- 2) 日中における高度の傾眠を呈する。
- 3) 慢性の高炭酸ガス血症 ( $\text{PaCO}_2 \geq 45\text{mmHg}$ ) を呈する。
- 4) 睡眠時呼吸障害の程度が重症以上である。  
(無呼吸指数 $\geq 30$ ,  $\text{SaO}_2$ 最低値 $\leq 75\%$ ,  $\text{SaO}_2 < 90\%$ の時間が45分以上または全睡眠時間の10%以上,  $\text{SaO}_2 < 80\%$ の時間が10分以上などを目安にして総合的に判定する)

(呼吸不全調査研究班平成8年度研究報告書)

表2 メタボリック症候群の診断基準

●下記の1)に加えて2)、3)、4)のうち2項目以上を満たす症例

- 1) ウエスト回りが男性の場合85cm以上、女性の場合90cm以上
- 2) 高脂血症  
(トリグリセリド値150mg/dL以上、HDLコレステロール値40mg/dL未満のいずれか、または両方)
- 3) 高血圧  
(収縮期血圧130mmHg以上、拡張期血圧85mmHg以上のいずれか、または両方)
- 4) 高血糖  
(空腹時血糖110mg/dL以上)

## 【調査方法】

1. 本研究班班員・研究協力者の施設および協力施設を含めた計23施設に調査票を送付して調査を依頼した。
2. SASおよびOHSの新規診断症例数を把握するための調査：  
SASおよびOHSの新規診断症例数を把握することを目的として、過去1年間（2004年10月～2005年9月）のPSG施行症例数、同期間におけるSASと診断された症例数、同期間におけるOHSの診断基準項目