

## はじめに

Liebow の古典的な分類<sup>1)</sup>のどれにも当てはまらない間質性肺炎として Katzenstein らが 1994 に報告した非特異性間質性肺炎 (non-specific interstitial pneumonia, NSIP)<sup>2)</sup>は肺病変が UIP とは異なって均一であることから (temporal homogeneity) 慢性炎症ではない、おそらくは一回の肺傷害によって肺胞壁にさまざまな程度の炎症と広範な線維化が同程度におきているものと考えられた<sup>1,2)</sup>。その炎症と線維化の程度の差が症例間で顕著であったことからグループ 1 として慢性炎症のみのもの、グループ 2 として炎症と線維化が混在しているもの、さらにグループ 3 として肺胞壁の線維化が顕著で炎症はほとんどないものを区別した。外科的肺生検からえられたこの新たな発見は NSIP というさまざまな疾患から成り立つ病態として新たな疾患概念として確立されるにいたった<sup>3)</sup>。炎症が主である NSIP はやがて cellular NSIP と呼ばれる一方、線維化が主である NSIP は fibrotic NSIP と呼ばれるようになった。その後のいくつかのレトロスペクティブ調査でその予後の差が示されている。特に NSIP のほとんどが膠原病関連肺と思われる一方で、原因が特定されない特発性の NSIP (idiopathic NSIP) の予後が UIP と差がないほどにわかったという最近の研究報告は NSIP の多彩さを示している<sup>5)</sup>。

実際の臨床の場合においても HRCT で明確な蜂巣病変が見当たらない間質性肺炎患者のなかに、ステロイドを中心とする免疫抑制療法にほとんど反応せずに肺の線維化が亢進する患者を経験する。それらの患者の外科的肺生検あるいは死亡後の病理解剖による肺組織は肺胞壁が著明に線維化をきたした fibrotic NSIP である。リンパ球の浸潤が IPF 同様あまりめだたないこれらの患者肺は臨床背景としてどのような特徴が挙げられるのか、最近 5 年間 (2002-2007) における東北大学病院に入院あるいは外来治療を行った f-NSIP 患者の臨床経過を検討した。もちろん外科

的肺生検もしくは病理解剖によって肺組織診断が確定されていることが条件である。

## 結 果

難治性 (fatal/severe) fNSIP 症例として 8 名の患者を認識した。以下その症例の臨床背景、画像所見および病理組織像を提示する。

### 症例 1

#### 死亡時 65 歳・女性 (病理組織; VATS と病理解剖)

既往歴として小児麻痺 (左半身筋力低下)、家族歴として母親が関節リウマチ。ペットなし。職業歴として 20-40 歳の間紡錘工場での勤務があり、糸屑等の粉塵を暴露した可能性を自覚していた。喫煙歴はまったくない。現病歴として 60 歳頃より乾燥咳嗽が出現し近医受診。胸部 CT にて蜂巣病変をほとんどみとめない間質性肺炎 (図 1) の所見を認めたことから当科外来に紹介された。胸腔鏡下肺生検施行した結果の組織所見は肺胞壁の線維化が顕著な fNSIP であった (図 1)。ステロイドパルス療法 (mPSL 1,000 mg×3 日間) および PSL 40 mg 内服としたところ呼吸状態の改善をみたため、その後は外来にて PSL 5 mg まで漸減していた。しかし 2001 年 4 月には増悪をきたし再度ステロイドパルス療法施行し PSL 30 mg 内服。さらに CsA を追加したが、低酸素血症が持続。在宅酸素療法を導入し退院。2002 年 6 月より労作時呼吸困難感が徐々に増強し、9 月 5 日に再入院となるが (図 1)、この後は 2 回のステロイドパルス

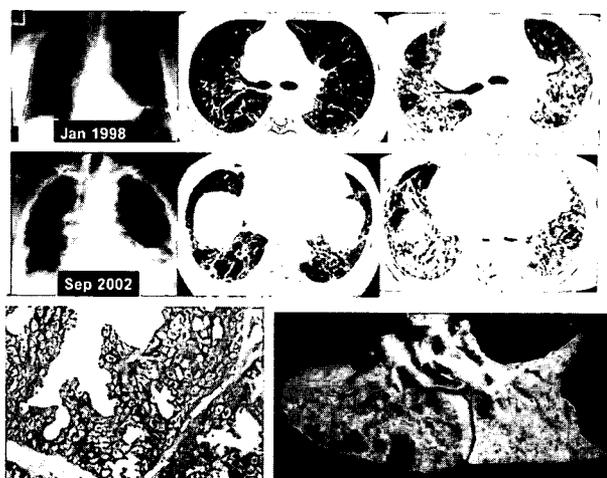


図 1 症例 1。咳嗽から発症し 5 年 7 ヶ月後 65 歳で死亡した女性

東北大学大学院医学系研究科内科病態学講座呼吸器病態学分野

東北大学病院呼吸器内科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 主任研究者

\*\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

療法にも反応せず死亡，病理解剖にいたった (図 1)。咳嗽を自覚してから死亡にいたるまで全経過は 5 年 7 ヶ月であった。臨床上明らかな膠原病は指摘しえなかったが関節リウマチの家族歴と長年の紡績工場勤務による慢性過敏性肺炎の可能性が否定しきれず，また病態が徐々に増悪していくことを特徴としていた。

## 症例 2

### 死亡時 48 歳・男性 (病理組織；病理解剖)

既往歴として 30 歳時に胆嚢摘出術があり，家族歴としては特記事項ない既喫煙者 (BI 600)。職歴としては製パン工場勤務で焼く前のパンの形を整える仕事をしており，小麦粉を 15 年間日常的に吸い込む職場で勤務していた。ペットなし。45 歳時健診にて間質性陰影を指摘されたが自覚症状もなく放置していたが 1 年後の 2005 年 4 月より咳嗽が出現し 5 月 23 日に近医受診したが経過観察されていた。2006 年 1 月から咳嗽と呼吸困難が増悪し 2 月になってようやく当科紹介 (図 2)。すでに著しい肺野の縮小と動脈血中酸素ガス濃度が安静時 60 台という低酸素状態で即日入院となった。ステロイドパルス療法 (mPSL 1,000 mg×3 日間) 後，PSL 30 mg，CsA 120 mg 処方外来通院となったが咳嗽発作を伴う呼吸困難は進行し，4 月 18 日に再入院となり (図 2)，再パルスやポリミキシン吸着カラム療法でもほとんど反応なく死亡するにいたった。当初より HRCT 上明らかな蜂巣病変を認めなかったが，病理解剖にても典型的な fNSIP 病巣で，肺胞壁の線維化が著明に亢進してい

た (図 2)。治療効果がほとんどなく死亡したのは胸部異常陰影が検診で指摘されてから約 3 年後，強い咳嗽出現からおおよそ 2 年であった。

## 症例 3

### 死亡時 38 歳 男性 (病理組織；病理解剖)

既往歴として特記事項はないが，父および父方祖父の妹に間質性肺炎の家族歴がある。喫煙はほとんどなく (BI 24)，鉄工プレス業に従事していたことから金属フェームの吸入歴はある。ペットなし。2005 年の職場健診にて胸部 X 線上間質性陰影を指摘され近医を受診したが経過観察となっていた。2006 年 11 月より労作時の呼吸困難感が出現したため前医を再受診し間質性陰影の増悪を確認され，精査のため 2007 年 1 月に当科紹介となり即日入院。そのときの HRCT を図 3 に示す。エラスポール 14 日間+mPSL 1,000 mg/日 3 日間パルス療法後 PSL 20 mg+CsA 150 mg の服薬と在宅酸素にて外来加療となった。約 8 ヶ月外来通院をしている間，肺移植申請も受理されたが，次第に呼吸困難感が増悪傾向を認め，10 月上旬に感冒様症状後急速に呼吸困難が増悪し入院となった。この後は mPSL による再パルス療法や PMX カラム療法も効果なく，短期間で死亡するにいたった。胸部異常陰影を指摘されてから 2 年，呼吸困難を自覚して 1 年の経過で死亡するにいたった。病理解剖組織からは両側肺の著しい縮小を認め (図 2)，小葉間隔壁ではなく肺胞壁自体が線維化していることから fNSIP と診断した。いわゆる金属肺のときに認められるような狭窄性細気管支炎の病理像は認めなかった。

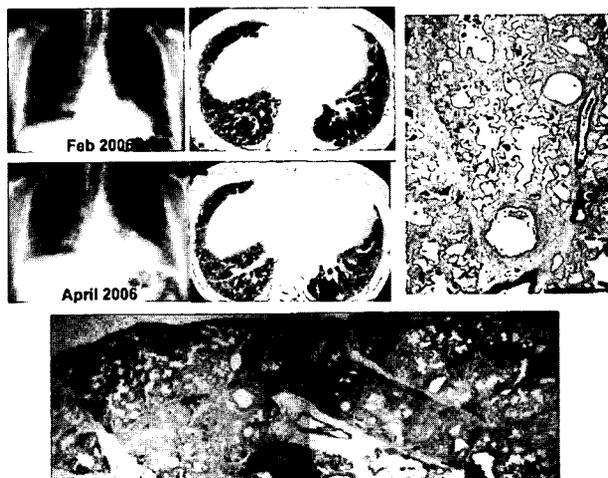


図 2 症例 2。強い咳嗽から 2 年，48 歳で死亡した男性



図 3 症例 3。息切れから 1 年，38 歳で死亡した男性

症例 4

死亡時 63 歳・男性 (病理組織; VATS と病理解剖)

既往歴として高脂血症と胆嚢炎, 家族歴として長兄が肺気腫, 非喫煙者 (BI=0), 職業歴としては建設/ビル清掃管理であり直接の粉塵暴露はなかった。ペットなし。58 歳時の 2000 年の夏より乾性咳嗽出現し近医受診。総合病院紹介となり, 肺機能検査・胸部 CT から間質性肺炎とされ経過観察をされていた (図 4)。2003 年より労作時呼吸困難の増悪あり 11 月 29 日に当科紹介となる。VATS で fNSIP の診断であったが術後自覚的に症状改善したことからさらに 3 ヶ月程度経過観察されていた。しかし次第に呼吸困難感が強まったことから PSL 15 mg/日にて外来治療開始後 1 ヶ月でさらに呼吸困難感が増強し入院 (図 4)。mPSL 1,000 mg/日 3 日間, エラスポール 14 日間, PSL 30 mg/日と CsA 200 mg/日の服用を開始したものの入院後 3 ヶ月亡くなるまで治療にまったく反応せず線維化病態が亢進し続けた。病理解剖は VATS 時の病態と同じく fNSIP パタンを呈した (図 4)。

症例 5

死亡時 69 歳・男性 (病理組織; VATS と病理解剖)

既往歴として陳旧性心筋梗塞, 高血圧, 高脂血症があり治療を受けていた。家族歴は特になく, 喫煙は 23 年前に禁煙をしていた (BI 530)。ダンボール物流管理をしていた職歴上直接の粉塵暴露歴はなかった。ただ 2003 年 1 月の検診で間質陰影指摘され, 経過観察となる少し前に, 自宅屋根裏のコウモリの糞

を片付けたおりに発熱をしていた。12 月からは労作時呼吸困難感も出現。鳥 (コウモリ) 関連慢性過敏性肺炎も疑われ, 2006 年 2 月 20 日に当科紹介となった。Scl-70 が若干高値であるのみで明らかな膠原病は指摘できなかった。11 月の胸部 X 線にて陰影増強, 同年 3 月に VATS 施行。VATS 組織標本では細気管支病変が顕著で粘液が多く産生されていた。異物型巨細胞もみとめられたが明確な肉芽腫を認めなかった。ステロイドパルス療法 (1,000 mg/日, 3 日間) 後, PSL 30 mg 内服とし外来治療, 6 月より呼吸苦増悪傾向あり CsA を追加。さらに感冒様症状後呼吸困難感増悪したために 10 月再入院したがその 2 週後に死亡するにいたった。病理解剖肺組織にても粘液産生をともなう細気管支病変と肺胞壁の線維化が著明であった。

症例 6

死亡時 61 歳・男性 (病理組織; 外科的肺生検)

既往歴として高血圧と高脂血症の治療歴がある。

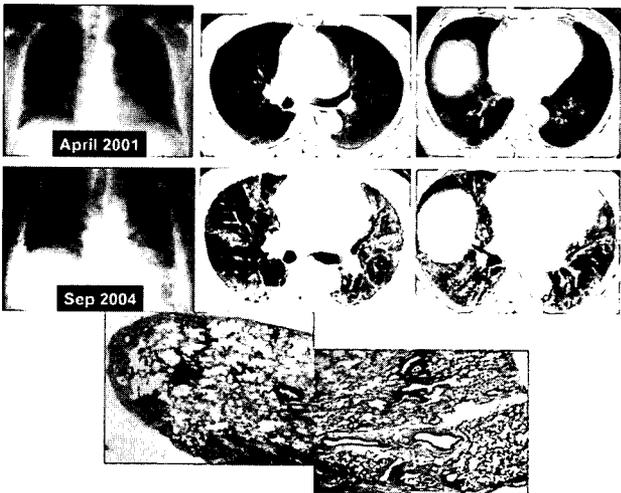


図 4 症例 4. 乾性咳嗽から 5 年, 63 歳で死亡した男性

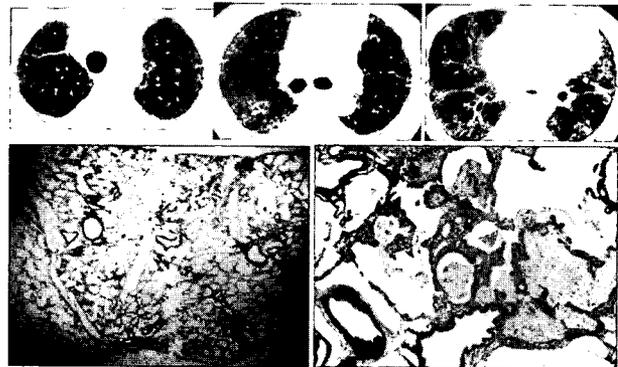


図 5 症例 5. 治療開始後約 1 年で死亡した 69 歳男性

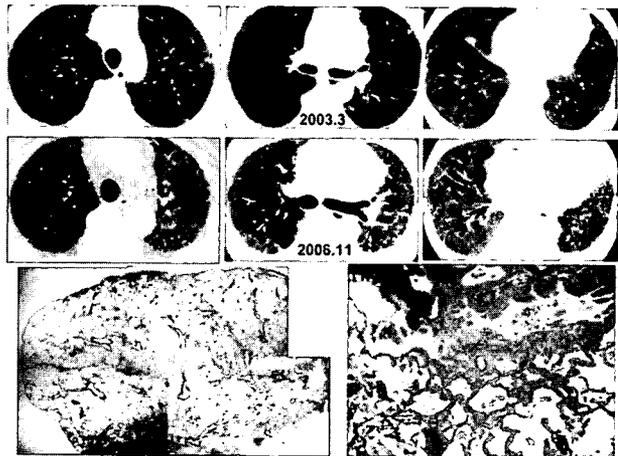


図 6 症例 6. 息切れ感から 4 年で死亡した 61 歳男性

家族歴は特になし。職業は土木やトラック運転で粉塵暴露歴はある。禁煙後31年経っていた (BI 520)。ペット飼育歴はない。57歳時の2002年末より労作時呼吸困難感が出現し総合病院受診し間質性肺炎の診断を受け2003年3月精査目的に当科紹介入院。4月15日よりステロイドパルス療法後はPSL 20 mg/日にて外来加療し約3年間の間に5 mg/日まで漸減。2006年7月に縦隔腫瘍摘出術を施行したときに (肺腺癌のリンパ節転移) 肺生検も施行。徐々に呼吸苦が増強傾向。11月に左肺肺炎併発 PSL 30 mg に増量し在宅酸素療法開始。さらに12月よりCsA追加。しかし徐々に呼吸困難増悪。2007年7月に線維化亢進にて死亡。

### 症例7

#### 死亡時67歳・女性 (病理組織; VATS)

家族歴として実弟が肺線維症の非喫煙者の主婦。2004年秋ごろより電話中の息切れを自覚して受診。症状や血清学的検査から膠原病は否定的。10年間室内犬飼育。VATS施行で肺胞壁の著明な線維化を確認し、外来でPSL 20 mg/日とCsAによる治療を開始した。しかしほとんど治療効果を見ず徐々に線維化が亢進。息切れの発症から3年。治療開始後2年5ヶ月で死亡するにいたった。粉塵暴露歴もなく、家族性肺線維症の可能性が強く疑われた。

### 症例8

#### 現在治療中62歳・男性 (病理組織; VATS)

喫煙BI800の会社経営者。猫室内飼育家族歴としては妹が膠原病関連肺線維症で17歳時死亡してい

る。患者本人に明らかな膠原病はない。3年前から職場の階下(オープンスペース)に木工製作所がはいつてきて木工粉塵暴露あり。血清間質性肺炎マーカーSPDが909, KLが6600とどちらも著しく高値であった。VATS組織から肺胞壁の線維化が顕著なことからfNSIPと診断したが、リンパ球の浸潤も伴っていた。PSL 20 mg/日+CsAで外来治療中を開始後1年経過し、息切れ等の自覚症状はやや改善・安定化しSpD・KL6はいずれも半分程度に低くなっている。

### 考 察

今回5年間で8名の難治性fNSIPを見出した。もちろんこのうちすべての症例が生前に外科的肺生検を受けているか、死後病理解剖で肺組織を検討されている。その点で病理診断がなくともその特徴的な画像所見で診断されるIPFとは数の比較ができなかった。8名中7名がすでに死亡していることから7名のfatal fNSIPと1名のsevere fNSIPの報告ということになる。これら8名の特徴としてはHRCT上明らかな蜂巣肺病変がないこと、膠原病はいずれも見出されず、むしろ粉塵暴露や慢性過敏性肺炎などを疑う症例がほとんど(7/8)であった。また3名に家族性肺線維症の疑いがあった。今後IPF死亡症例との比較をさらに詳細に行い、IPF同様に進行する予後の悪いfNSIPの病態の特徴を明らかにしていきたい。そしてより早くその患者群を診断して有効な線維化抑制療法を確立する必要がある。

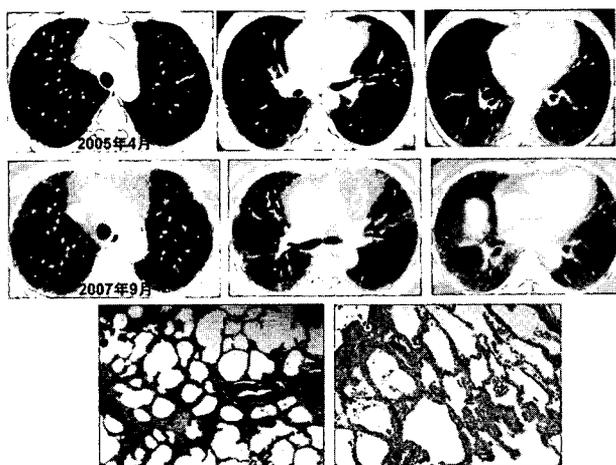


図7 症例7。息切れ感から3年で死亡した67歳女性

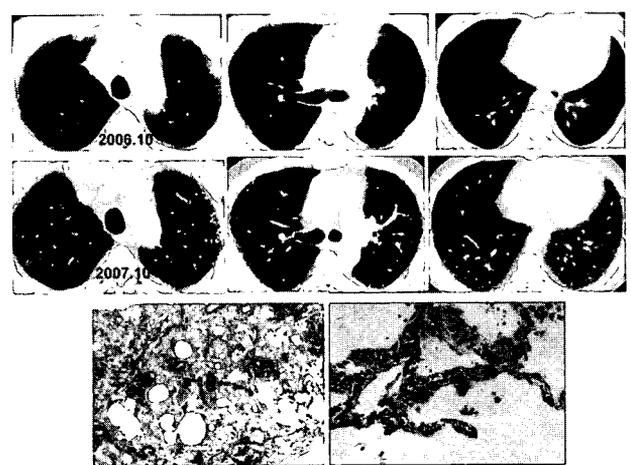


図8 症例8。治療開始後1年経過中の62歳男性

## 引用文献

- 1) Liebow AA. Definition and classification of interstitial pneumonias in human pathology. *Prog Respir Res* 1975; 8: 1-31.
- 2) Katzenstein AL, Fiorelli RF. Nonspecific interstitial pneumonia/fibrosis: histological features and clinical significance. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 136-147.
- 3) Katzenstein AL, Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1301-1315.
- 4) American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 277-304.
- 5) Park JH, Kim DS, et al. Prognosis of fibrotic interstitial pneumonia: Idiopathic versus collagen vascular disease-related subtypes. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 705-711.

# レドックス関連蛋白セレノプロテイン P (SEPP) の 特発性間質性肺炎 (IPF) 病態における意義

谷野 功典<sup>1</sup> 斎藤 芳郎<sup>2</sup> 棟方 充<sup>1\*</sup>

特発性肺線維症患 (IPF) におけるこれまでの Redox 関連蛋白発現の検討では、患者由来の肺線維芽細胞において SEPP の発現が亢進し、IPF 患者肺においては線維芽細胞、II 型上皮細胞、気道平滑筋細胞で強い SEPP の発現が認められた。また、正常肺線維芽細胞株 TIG7 と肺胞上皮細胞株 A549 を用いた検討では、TGF- $\beta$  刺激によりこれらの細胞において SEPP と  $\alpha$ -SMA の誘導を認め、SEPP の IPF の病態への関与が示唆された。

そこで、我々は SEPP に対する単クローン抗体を開発し、それを利用した ELISA システムを使用して、健常者、IPF を含む各種間質性肺炎患者血清中の SEPP 濃度を測定し、IPF の病態 (重症度、予後、他のマーカーなど) との関連性の検討を試みた。SEPP は血清中において数  $\mu\text{g/ml}$  で存在するが、健常者と IPF、IPF 以外の特発性間質性肺炎、膠原病に伴う間質性肺炎患者では差が認められなかった。以上の結果から、SEPP は全身性ではなく、肺の局所において IPF の病態に関与していることが示唆された。

## **Analysis of serum Selenoprotein P concentration in patients with idiopathic pulmonary fibrosis**

Yoshinori Tanino<sup>1</sup>, Yoshiro Saito<sup>2</sup>, and Mitsuru Munakata<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Pulmonary Medicine, Fukushima Medical University*

<sup>2</sup>*Human Stress Signal Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology*

Selenoprotein P (SEPP) is an extracellular protein that functions as a selenium supply protein and as a strong antioxidant. We have previously demonstrated that SEPP is expressed in fibroblasts and alveolar type II cells in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) lungs, and SEPP and  $\alpha$ SMA are expressed in both normal lung fibroblasts (TIG-7) and A549 cells after TGF- $\beta$  stimulation. These results suggest that SEPP has an important role during phenotypic transition of fibroblasts and alveolar type II cells in IPF. In this study, we tried to establish ELISA system for SEPP and compare the serum SEPP concentration in IPF patients with healthy volunteers and other interstitial pneumonia patients. The ELISA system for SEPP has been established and the serum concentration of SEPP was measured. However, we could not detect the difference in serum SEPP concentration among all groups. These results suggest SEPP has important roles at local sites, not systemically, in IPF lungs.

はじめに

Selenoprotein (SEP) はセレノシステイン残基を有する一連のタンパク質であり、生体内酸化還元反応において重要な役割を果たしている<sup>1)</sup>。SEP の1つである Selenoprotein P (SEPP) は特有の構造を持ち、多数のセレノシステイン残基を有し、他の SEP よりも強い抗酸化能を持つ。これまで、我々は特発性肺線維症 (IPF) 患者肺由来の初代培養細胞および IPF 患者生検肺組織標本を用いて SEPP の発現の検討を行い、IPF 患者肺由来線維芽細胞では正常肺線維芽細胞と比較して SEPP mRNA が増加していることや正常線維芽細胞や II 型肺胞上皮細胞株を TGF- $\beta$  で刺激すると SEPP の発現が亢進すること、更に IPF 患者肺における免疫組織学的検討では線維芽細胞と II 型肺胞上皮細胞に強い SEPP の発現が認められることから、IPF の病態への SEPP の関与を示した<sup>2)</sup>。

方法

SEPP に対する単クローン抗体を開発し、それを利用した ELISA システムを使用して、健常者と IPF を含む各種間質性肺炎患者血清中の SEPP 濃度を測定し、IPF の病態との関連性を検討する。

結果

SEPP に対する単クローン抗体は開発され、それを利用した ELISA システムが使用可能となった。この ELISA システムを使用し、健常者と IPF を含む各種間質性肺炎患者 (Table) の血清中の SEPP 濃度を測定し比較検討した。SEPP は血清中に数 ng/ml の濃度で存在した。しかし、健常者、IPF、IPF 以外の特発性間質性肺炎 (IIP)、膠原病に伴う間質性肺炎 (CVD-IP) 患者の血清中濃度には差が認められなかった (Figure)。

結論と考察

SEPP はセレノシステイン残基を有する一連のタンパク質である selenoprotein (SEP) のひとつであり、生体内における selenium の移動に重要な役割を果たすとともに、phospholipid hydroperoxide reductase としての作用、つまり抗酸化作用をもつことが報告されている<sup>3)</sup>。これまで我々は、IPF 患者肺組織において SEPP が線維芽細胞と II 型肺胞上皮細胞に強く発現していることを免疫組織学的に証明し、更に IPF 患者肺由来の線維芽細胞では正常肺線維芽細胞と比較して SEPP の発現が増強していることを示した<sup>2)</sup>。また、正常肺線維芽細胞株 TIG7 と肺胞上皮細胞株 A549 を

Table Characteristics of Patients with Interstitial Pneumonia

	IPF	IIP	CVD-IP	P-value
Subjects (n)	24	19	10	
Age (yrs)	66.7 $\pm$ 1.7	68.9 $\pm$ 2.2	62.8 $\pm$ 2.3	NS
%VC (%)	79.3 $\pm$ 4.5	82.2 $\pm$ 4.6	66.2 $\pm$ 5.9	NS
PaO <sub>2</sub> (Torr)	80.7 $\pm$ 3.0	80.4 $\pm$ 4.0	82.6 $\pm$ 3.6	NS
ESR (mm/hr)	29 $\pm$ 4	35 $\pm$ 6	50 $\pm$ 11	NS
LDH (U/ml)	260 $\pm$ 17	231 $\pm$ 18	218 $\pm$ 30	NS
KL-6 (U/ml)	1482 $\pm$ 207	1153 $\pm$ 175	1291 $\pm$ 137	NS
SP-A (ng/ml)	129.3 $\pm$ 20.1	106.3 $\pm$ 16.8	77.2 $\pm$ 12.4	NS
SP-D (ng/ml)	247.5 $\pm$ 33.6	205.5 $\pm$ 25.6	164.6 $\pm$ 34.9	NS

<sup>1</sup> 福島県立医科大学医学部呼吸器内科学講座

<sup>2</sup> 独立行政法人産業技術総合研究所ヒューマンストレスシグナル研究センター

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 分担研究者

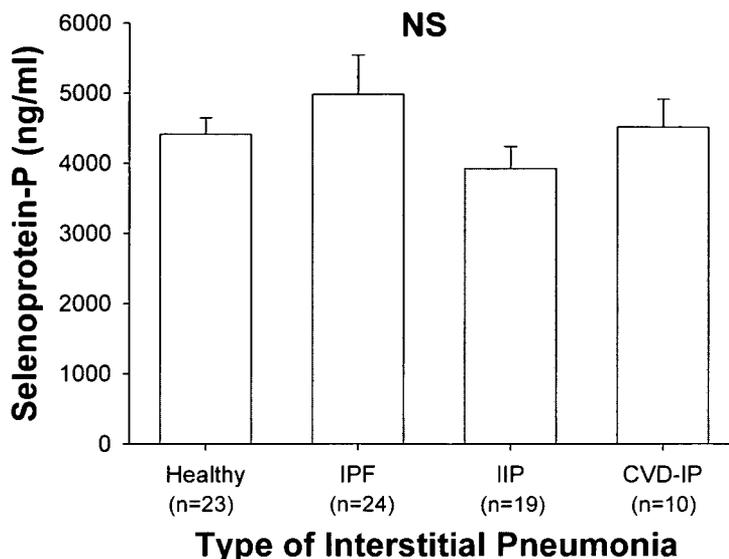


Figure Serum Concentration of SEPP in Patients with Interstitial Pneumonia

TGF- $\beta$ で刺激するとSEPPと $\alpha$ SMAの発現が亢進することから、SEPPは線維芽細胞並びにII型肺胞上皮細胞の筋線維芽細胞への形質転換などIPFの病態に重要な役割を果たしていることが推測された。

IPFでは、肺胞マクロファージなど気道炎症細胞からの活性酸素産生が亢進し、epithelial lining fluid中で抗酸化物質であるグルタチオンの濃度が低下していること<sup>45)</sup>や、グルタチオンの前駆物質であるN-アセチルシステインの投与がIPFの肺機能低下を抑制すること<sup>6)</sup>からoxidant-antioxidantの不均衡が病態へ重要な役割を果たしていると考えられている。今回行った血清SEPP濃度の検討では、健常者とIPF、IPF以外の特発性間質性肺炎、膠原病に伴う間質性肺炎患者に差は認められなかった。しかし、これまでの結果からSEPPはIPFの肺局所において線維芽細胞やII型上皮細胞などの細胞を介して病態に深く関与していることが示唆される。今後、IPFにおけるSEPPの役割を更に明らかにすることが、IPFの病態解明や治療法の開発に役立つことが期待される。

#### 参考文献

1) Raymond FB and Kristina EH, SELENO-

PROTEIN P: An Extracellular Protein with Unique Physical Characteristics and a Role in Selenium Homeostasis. *Annu. Rev. Nutr.* 2005, 25: 215-235.

2) Kabuyama Y, *et al.*, Involvement of selenoprotein P in the regulation of redox balance and myofibroblast viability in idiopathic pulmonary fibrosis. *Genes to Cells.* 2007, 12: 1235-1244.

3) Saito Y, *et al.*, Selenoprotein P in human plasma as an extracellular phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase. *J Biol Chem.* 1999, 274: 2866-2871.

4) Cantin AM, *et al.*, Glutathione deficiency in the epithelial lining fluid of the lower respiratory tract in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989, 139: 370-372.

5) Borok Z, *et al.*, Effect of glutathione aerosol on oxidant-antioxidant imbalance in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet.* 1991, 338: 215-216.

6) Demedts M, *et al.*, High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 2005, 353: 2229-2242.

# 診察前検査に対応可能な CLEIA 法を用いた KL-6 測定試薬の基礎的検討

伊東 裕之<sup>1</sup> 畑中 徳子<sup>1</sup> 山本 慶和<sup>1</sup>  
松尾 収二<sup>1</sup> 田口 善夫<sup>2\*</sup>

一般病院にも数多く導入されているルミパルス (富士レビオ社製) を用いた KL-6 測定試薬の基礎的な検討を行った。同時再現性の CV は 2.6~3.7%, 日差再現性の CV は 2.3~4.1% であり, 約 5,000 U/ml の検体において直線性が確認できた。またビリルビン F, C, ヘモグロビン, 乳びによる測定値への影響は認められず, 検体は 20 日間安定であり, 従来試薬との相関は回帰直線  $y=0.95x+37$ , 相関係数  $r=0.971$  と良好であった。本試薬は, 測定レンジが広いためほとんどの検体は再検査の必要が無く, 検査受付から 60~90 分で結果報告が可能であり, 診察前検査として対応可能であると思われた。

## Basic study of the measuring reagent of KL-6 by the chemiluminescent immunoassay to react before the medical examination

Hitoyuki Ito<sup>1</sup>, Hatanaka Tokuko<sup>1</sup>, Yamamoto Hirokazu<sup>1</sup>, Matsuo Shuji<sup>1</sup>, and Taguchi Yoshio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Pathology, Tenri Hospital

<sup>2</sup>Department of Respiratory Medicine Tenri Hospital

Basic study was performed for measuring reagent of KL-6 with LUMIPULSE produced by FUJIREBIO inc. The coefficient of variation to within-run reproducibility and between-run reproducibility were from 2.6 to 3.7% and from 2.3 to 4.1%. Linearity of the results was confirmed with specimen of 5,000 U/ml. The results of examination was not effected by bilirubin F, C, hemoglobin and chyle. The data were stable for 20 days. Correlation with pre-existing reagent was good. (regression curve was  $y=0.95x+37$  and the coefficient of correlation was  $r=0.971$ ) Because of broad measurement range, re-examination was not needed. The result could be reported within 90 minutes. Therefore we conclude that this reagent can be fit for the clinical use.

はじめに

現在、KL-6 の自動測定用装置はピコルミ (三光純薬社製) が主であるがそのほとんどは検査センターに導入されているため一般病院においては診察前検査に対応できていないのが現状である。この度、一般病院にも数多く導入されているルミパルス (富士レビオ社製) にアプリケーションされた KL-6 測定試薬が開発され、我々はその試薬の基礎的な検討を行ったので報告する。

従来試薬と検討試薬の仕様の比較

従来試薬は、測定装置がピコルミ、測定原理は電気化学発光免疫測定法 (ECLIA 法) であるのに対し、今回の検討試薬は、測定装置がルミパルス、測定原理は化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA 法) であった。反応時間、測定レンジに大きな差は無かった (表 1)。

対象検体および検討方法

同時再現性は 3 濃度 プール血清を連続 10 回測定

し、日差再現性は同様のプール血清を 8 日間朝夕 2 回測定し求めた。また希釈直線性は、高値検体を 2n 希釈し 2 回測定の平均値でみた。干渉物質の影響をみるために、干渉チェック A プラス (シスメックス社製) を使いビリルビン F, C, ヘモグロビン、乳びによる測定値への影響をみた。検体の安定性をみるため冷蔵・凍結の各条件下においてプール血清を 20 日間測定した。また、従来試薬との相関性には平成 19 年 2 月～6 月の間に当院から外部委託 (従来試薬) によって測定された 40 検体を用いた。

結 果

同時再現性は CV が 2.6～3.7% (表 2)、日差再現性は CV が 2.3～4.1% であった (表 3)。希釈直線性は図 1 に示したごとく約 5,000 U/ml まで良好であった。干渉物質の測定値に対する影響は、ビリルビン F 18.2 mg/dl, ビリルビン C 20.1 mg/dl, 溶血ヘモグロビン 482 mg/dl, 乳び 1,670 FTU まで認められなかった (図 2)。検体の安定性は初日の測定値を 100% としたとき、変動幅は 10% 以内であり、冷蔵と凍結の条件下において 20 日間安定であった (図 3)。また、従来試薬との相関

表 1 従来試薬と検討試薬の仕様の比較

	従来試薬	検討試薬
測定機器	ピコルミ	ルミパルス
測定原理	電気化学発光法 (ECLIA 法)	化学発光酵素法 (CLEIA 法)
反応時間	20 分	25 分
測定レンジ	51～10200 U/ml	1～10000 U/ml
基準範囲	105～401 U/ml	発売前のため未定
カットオフ値	500 U/ml	発売前のため未定

表 2 同時再現性

回数	低濃度	中濃度	高濃度
1	150	488	5378
2	144	476	5434
3	141	473	5519
4	146	485	5476
5	149	493	5824
6	144	476	5464
7	155	488	5730
8	154	514	5662
9	145	500	5099
10	147	497	5603
平均 (U/ml)	148	489	5519
SD (U/ml)	4.5	12.6	203.7
CV (%)	3.1	2.6	3.7

1 天理よろづ相談所病院臨床病理部

2 同 呼吸器内科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 分担研究者

表 3 日差再現性

	低濃度	中濃度	高濃度
平均(U/ml)	145	469	5148
SD	4.0	17.4	331.9
CV	2.8%	3.7%	6.4%

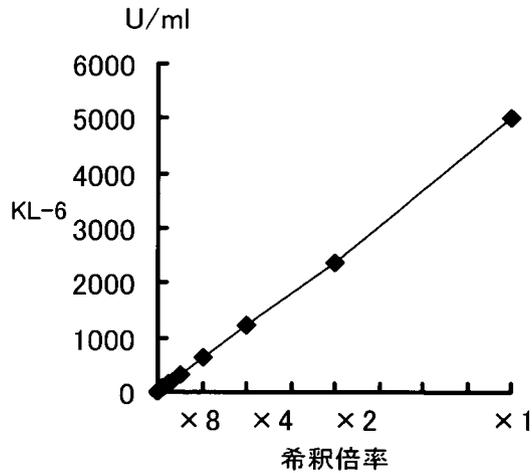


図 1 希釈直線性

は、回帰直線  $y=0.95x+37$ 、相関係数  $r=0.971$  と良好であった (図 4)。

考 察

KL-6 は間質性肺炎のマーカーとして評価<sup>1)</sup>され、最早臨床上必須の検査となっている。しかしながら従来法では迅速性には欠け<sup>2)</sup>ており、緊急時や外来での検査法としては問題があった。また近年では IPF の急

性増悪、カリニ肺炎の評価、薬剤性肺炎の評価など様々な疾患において有用性が報告<sup>3-5)</sup>され、それらの病態でも迅速性が要求されている。今回我々は迅速検査が可能である CLEIA 法による KL-6 測定を行い、従来法と比較し検討を行った。

その有用性が同時、日差再現性ともに CV 約 3~6% の範囲であり良好な結果が得られた。希釈直線性は約 5,000 U/ml まで確認でき、干渉物質の影響はビリルビン F, C, ヘモグロビン、乳びについて測定値への影響は認められなかった。検体の安定性は冷蔵・凍結の各条件下において 20 日間安定していた。以上より日常検査に必要とされる基本的な性能は充分に有していると考えられた。また、従来試薬との相関は良好であり基準範囲、カットオフ値とも従来試薬からの大きな変更は無いものと思われた。

診察前検査への対応については、当院における 2007 年 1 月から 6 月までの半年間の測定値の分布をみたところ、98% の検体は 5,000 U/ml 以下でありほとんどの検体が希釈再検査の必要がなく初回検査値にて報告が可能と考えられた (表 4)。また現在、当院においてルミパルスを用い PSA の診察前検査を実施しているが、その PSA のある一日の外来検体の所要時間をみたところほとんどが 60~90 分の間に報告されてお

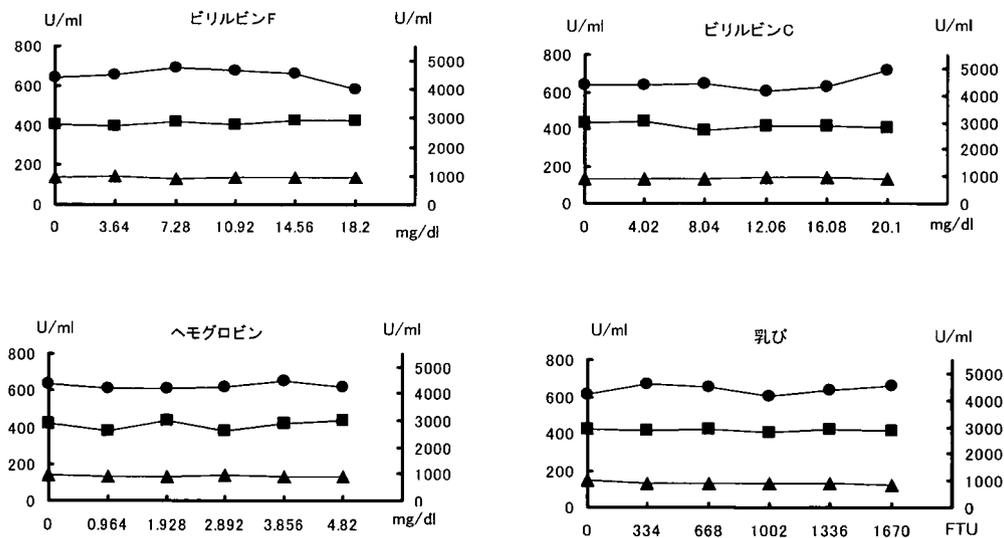


図 2 干渉チェック A プラスを用いた測定値への影響

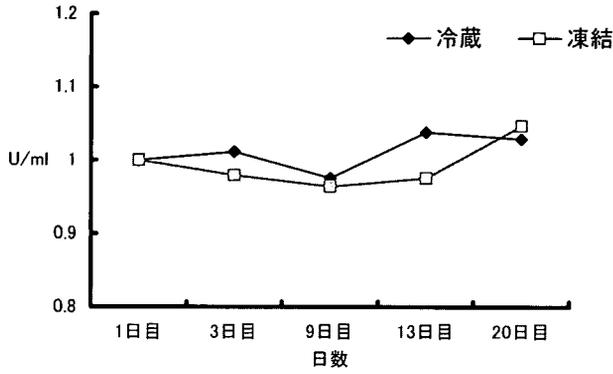


図3 検体の安定性

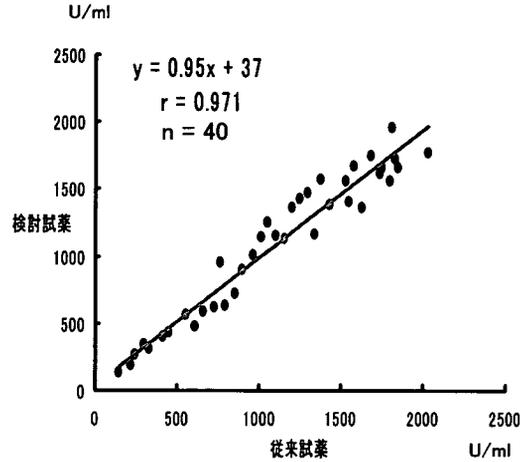


図4 従来試薬と検討試薬の相関

表4 外部委託（従来試薬）による測定値の分布

測定値(U/ml)	件数	比率
0~1000	802	71.4%
1000~2000	224	19.9%
2000~3000	52	4.6%
3000~4000	18	1.6%
4000~5000	7	0.6%
-----		
5000~6000	5	0.5%
6000~7000	3	0.3%
7000~8000	4	0.4%
8000~9000	5	0.5%
>9000	3	0.3%

98% → 初回検査にて報告可能

----- 直線性確認 (5000U/ml)

2% → 再検査が必要

件数

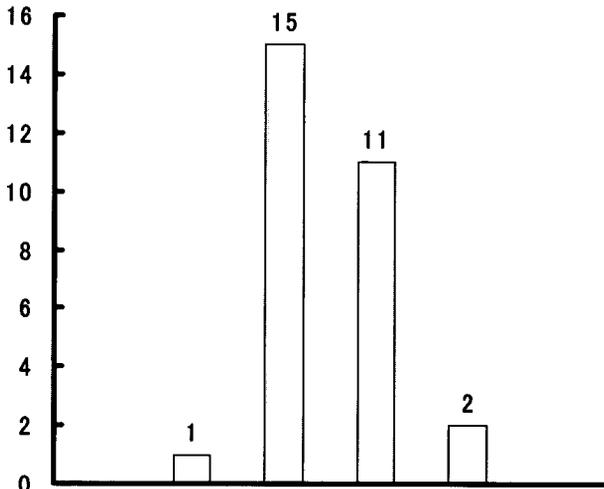


図5 PSAの検査受付から結果報告までの所要時間

り(図5), KL-6においても同様の時間内での報告が可能と思われた。

以上のように直線性を認めるレンジが広く再検査が少ないこと, 検査受付から60~90分間で報告可能なことより充分診察前検査に対応可能であると思われる。

今回検討した KL-6 測定試薬は一般病院に数多く導入されているルミパルス専用が開発された試薬であり, 多くの施設において診察前検査に利用されることが期待される。

まとめ

検討試薬は日常検査に必要な基本的な性能を有し測定値は従来試薬とほぼ一致していた。

また測定レンジが広く再検査の比率が少なく, 検査受付から60~90分で結果報告が可能なことより診察前検査に対応可能であると思われた。

## 参考文献

- 1) Kohno N, Kyoizumi S, Awaya Y, et al: New serum indicator of interstitial pneumonitis activity. Sialylated carbohydrate antigen KL-6. *Chest* 96: 68-73, 1989.
- 2) 神辺眞之, 大下慎一郎, 河野修興: 免疫・アレルギー疾患の最新病態検査 呼吸器疾患の免疫検査 SP-A, SP-D, KL-6. *臨床病理* 55: 381-387, 2007.
- 3) 日本呼吸器学会びまん性肺疾患 診断・治療ガイドライン作成委員会編: 特発性肺線維症 特発性間質性肺炎. 診断と治療の手引き. 南江堂, 東京, 2004, p. 37-40.
- 4) Takahashi T, Ebihara Y, Manabe A, et al: Surfactant protein D and KL-6 as serologic indicators of *Pneumocystis carinii* pneumonia in a child with acute lymphoblastic leukemia. *J Med* 32: 41-51, 2001.
- 5) Nakajima M, Kawahara Y, Yoshida K, et al: Serum KL-6 as a possible marker for amiodarone-induced pulmonary toxicity. *Intern Med* 39: 1079-1100, 2000.

# 間質性肺炎における血清中 amphiregulin の検討

前山 隆茂<sup>1</sup> 濱田 直樹<sup>1</sup> 福元重太郎<sup>1</sup> 河口 知允<sup>1</sup>  
原田 知佳<sup>1</sup> 桑野 和善<sup>2</sup> 中西 洋一<sup>1\*</sup>

amphiregulin は epidermal growth factor ファミリーに属する膜蛋白であり、上皮細胞、線維芽細胞、癌細胞などの増殖を刺激する。膜型から可溶性型に変換されて、autocrine, paracrine に細胞に作用する。近年、腸管や肝臓などで組織の損傷修復過程において amphiregulin が重要な働きをもつことが報告されており、組織の損傷・線維化過程への関与が推定される。そこで間質性肺疾患におけるヒト血清中の amphiregulin の測定を計画した。特発性肺線維症 (IPF,  $n=18$ ), 非特異性間質性肺炎 (NSIP,  $n=5$ ), 膠原病関連間質性肺炎 (CVD-IP,  $n=8$ ) および対照健常者 (HV,  $n=18$ ) の血清中 amphiregulin 濃度を ELISA 法で測定した。HV 群での血清中 amphiregulin 濃度は  $5.0 \pm 6.6$  pg/ml に対して、間質性肺疾患 (IPs) 群では  $68.9 \pm 97.0$  pg/ml と有意に上昇していた。また IPs 群では %VC 70% 未満群では 70% 以上群と比べて amphiregulin はより高い傾向を示した。amphiregulin は、間質性肺疾患の病態進行に関連している可能性が示唆され、さらなる検討の余地がある。

## Amphiregulin level in serum from patients with interstitial pneumonias

Takashige Maeyama<sup>1</sup>, Naoki Hamada<sup>1</sup>, Jyutaro Fukumoto<sup>1</sup>, Tomonobu Kawaguchi<sup>1</sup>,  
Chika Harada<sup>1</sup>, Kazuyoshi Kuwano<sup>2</sup>, and Yoichi Nakanishi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute for Disease of the Chest, Graduate School of Medical Science, Kyushu University

<sup>2</sup>Respiratory Medicine, Department of Internal Medicine, Jikei University School of Medicine

Amphiregulin is transmembrane glycoprotein, which is a member of epidermal growth factor family. Soluble forms of amphiregulin are released by proteolytic cleavage, and act as an autocrine/paracrine factor. Amphiregulin stimulates proliferation of epithelial cell, fibroblast, and cancer cell line *in vitro*. There are reports that suggest amphiregulin may play important role in tissue repair or remodeling processes after injury in skin, liver and intestinal tract. Thus we hypothesized that amphiregulin involved in pathogenesis of interstitial pneumonias. The purpose of this study was to investigate the significance of measuring amphiregulin levels in serum of interstitial pneumonias. Serum samples were obtained from 18 patients with idiopathic pulmonary fibrosis, 5 with nonspecific interstitial pneumonia, 8 with interstitial pneumonia associated with collagen vascular diseases, and 18 healthy controls. Amphiregulin levels were significantly increased in patients with interstitial pneumonias (mean  $\pm$  SD,  $68.9 \pm 97.0$  pg/ml) compared with those of healthy controls ( $5.0 \pm 6.6$  pg/ml). Amphiregulin level from patients with interstitial pneumonia whose %VC < 70% tended to be higher than those from patients whose %VC  $\geq$  70%. Although careful interpretation is needed, those results encourage to carry out further examination.

はじめに

かつて肺線維症の病態は慢性の炎症が主体と捉えられていたが、現在は、なんらかの刺激により繰り返される肺上皮傷害と、それに引き続き生じるリモデリングと線維化がその本体と考えられている。上皮損傷が正常に修復されていくか、あるいは不適切な修復過程をとるかは、上皮細胞と線維芽細胞の相互作用が重要とされている<sup>1)</sup>。アポトーシスを主体とした肺上皮細胞の損傷の後、生存した上皮細胞あるいは線維芽細胞は活性化し、様々なサイトカインや増殖因子を産制する。増殖因子としては epidermal growth factor をはじめとする EGF 受容体 ligand が、上皮細胞や線維芽細胞から産制され、autocrine あるいは paracrine 的に作用する。EGF 受容体の活性化によって肺胞上皮細胞の再生が促されると考えられるが、一方で、線維芽細胞の増殖や matrix の合成を促進する側面も併せ持つ。

Amphiregulin は EGF ファミリーの一つであり、分子量 18 kD の膜型糖タンパク質である。当初は MCF-7 ヒト乳ガン細胞の培養液中から単離され、*in vitro* では正常な上皮細胞、線維芽細胞、角化細胞の増殖を刺激することが知られている<sup>2)</sup>。Amphiregulin は肺の発生・発達過程において間質細胞から産制されて正常上皮の成長を促す働きをもつと考えられている<sup>3)</sup>。近年、皮膚障害や炎症性腸炎、急性肝障害で、組織損傷の修復過程における amphiregulin の重要性が報告されている<sup>4-6)</sup>。肺損傷モデルでは肺組織中で amphiregulin が増加していたとの報告<sup>7)</sup>があるが、肺損傷・線維化での検討はない。そこで間質性肺炎における amphiregulin の関与についての検討を計画した。最近、ヒト肺癌患者での血清中 amphiregulin 濃度の測定が報告<sup>8)</sup>されていることから、ヒト間質性肺炎患者における血清中 amphiregulin 濃度を測定した。

対象と方法

九州大学病院呼吸器科を受診した特発性肺線維症 (IPF, *n*=18)、非特異性間質性肺炎 (NSIP, *n*=5)、膠

原病関連間質性肺炎 (CVD-IP, *n*=8) の患者および対照健康者 (HV, *n*=18) を対象とした。IPF 症例は臨床診断例または生検確定例、NSIP 症例は全例組織確定例である。血液を採取して血清中 amphiregulin 濃度を ELISA 法で測定した (R&D 社)。amphiregulin 濃度を IP 群 (IPF, NSIP, CVD-IP) と HV 群で比較した。また IP 群間における血清中 LDH、血清中 KL-6、PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> 比 (P/F 比)、%VC、気管支肺胞洗浄液中リンパ球分画 (BAL-%Lym) との関連を検討した。統計解析は StatView ver. 5.0 で行い、2 群の比較には Mann-Whitney U 検定を、多群間の比較には Dunnett 法を、相関関係の検定には Spearman 相関係数検定をそれぞれ用いた。

結 果

IP 症例における血清中 amphiregulin 値

HV 群での血清中 amphiregulin 濃度は 5.0±6.6 pg/ml に対して、間質性肺疾患 (IP) 群では 68.9±97.0 pg/ml と有意に上昇していた (図 1)。IP 群を疾患別に検討すると IPF 87.3±120.8 pg/ml、NSIP 75.1±81.8 pg/ml、CVD-IP 30.9±19.9 pg/ml で、HV に対して IPF 例で有意に上昇していた (図 2)。

血清中 amphiregulin と LDH、KL-6 値

図 3 に IP 例における血清中の amphiregulin と LDH、KL-6 の相関を示す。Amphiregulin と LDH (図

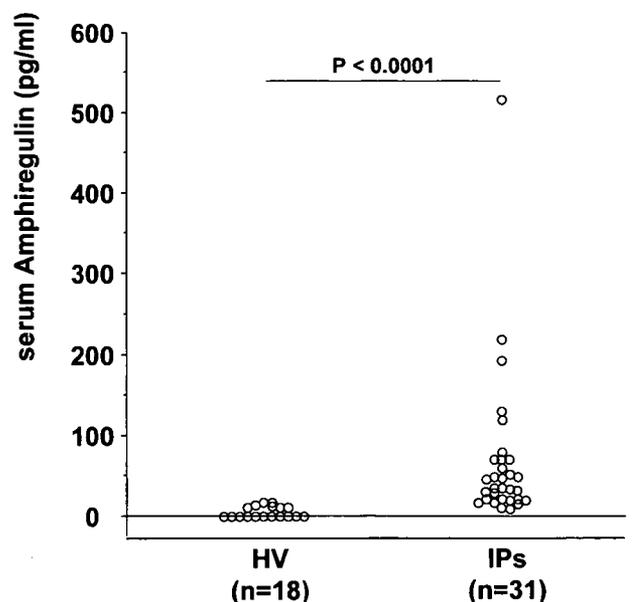


図 1 間質性肺炎における血清中 amphiregulin 濃度。IPs; 間質性肺炎。HV; 健康対照者。

<sup>1</sup> 九州大学大学院医学研究院附属胸部疾患研究施設

<sup>2</sup> 東京慈恵会医科大学内科学講座呼吸器内科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 分担研究者

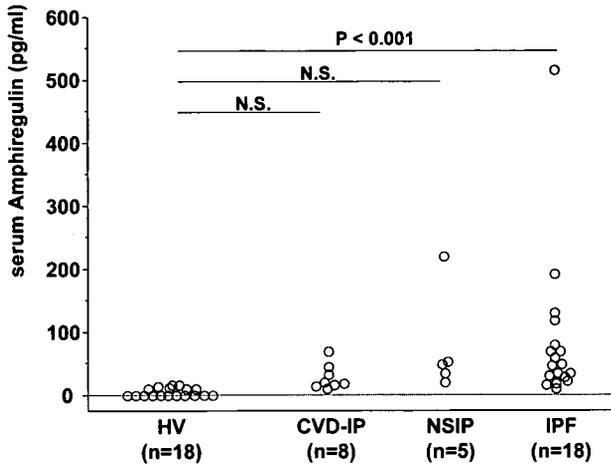


図2 各間質性肺炎における血清中 amphiregulin 濃度。CVD-IP; 膠原病関連間質性肺炎, NSIP; 非特異性間質性肺炎, IPF; 特発性肺線維症, HV; 健康対照者。

3A), あるいは LK-6 (図 3B) の間にいずれも相関関係は認めなかった。

**血清中 amphiregulin と P/F 比, %VC, BAL-%Lym**

便宜上, P/F 比 350 以上と未満群 (図 4A), %VC 70% 以上と未満群 (図 4B), BAL-%Lym 30% 以上と未満群 (図 4C) におおの分けて血清 amphiregulin 値の検討を行った。血清 amphiregulin 値は, P/F ratio 350 以上群と未満群の間, あるいは BAL-%Lym 30% 以上群と未満群との間で, いずれも有意差は認めなかった。%VC の検討では %VC 70% 未満群で以上群と比べて血清 amphiregulin 値が高い傾向にあった。

**考 察**

間質性肺疾患患者では健康対象者と比較して血清

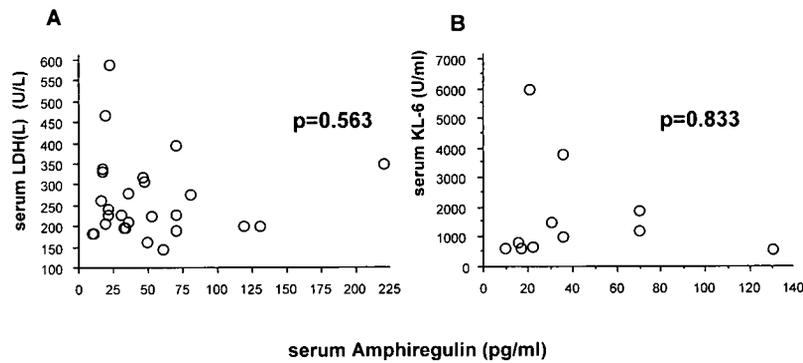


図3 間質性肺炎における血清中 amphiregulin と LDH 値 (A), KL-6 値 (B) との相関。

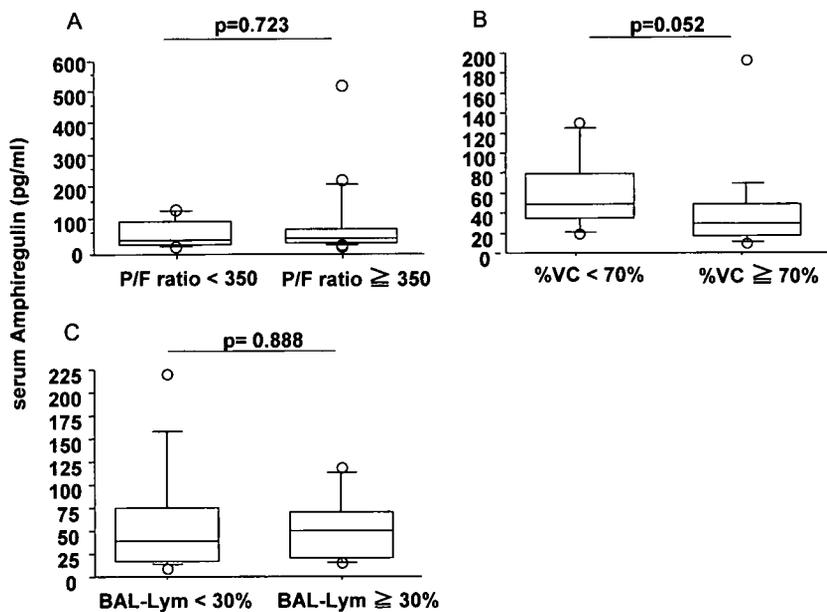


図4 間質性肺炎における血清中 amphiregulin と P/F 比 (A), %VC (B), BAL 中リンパ球分画 (C)。

中の amphiregulin 濃度が有意に上昇していることが今回の検討で示された。IPF 患者に限っても amphiregulin 濃度は有意に上昇していた。NSIP, CVD-IP では有意差は認められなかったものの上昇傾向にあり、症例数を増やして検討していく余地がある。また細菌性肺炎など他の炎症性肺疾患との比較検討を追加していく予定である。血清中 Amphiregulin の由来は今回の検討では不明であるが、肺損傷・線維化病変では肺胞上皮細胞や線維芽細胞から産制されているのではないかと想定される。今後、間質性肺疾患における肺組織中での amphiregulin の発現と分布を検討する予定である。

#### 参考文献

- 1) Gross TJ, Hunninghake GW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2001 Aug 16; 345(7): 517-25.
- 2) Syoyab M, McDonald VL, Bradley JG, Todaro G. Amphiregulin, a bifunctional growth-modulating glycoprotein produced by the phorbol 12-myristate 13-acetate-treated human breast adenocarcinoma cell line MCF-7. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6528-32.
- 3) Schuger L, Johnson GR, Gilbride K, Plowman GD, Mandel R. Amphiregulin in lung branching morphogenesis: interaction with heparan sulfate proteoglycan modulates cell proliferation. *Development* 1996; 122: 1759-67.
- 4) Schelfhout VR, Coene ED, Delaey B, Waeytens AA, De Rycke L, Deleu M, De Potter CR. The role of heregulin-alpha as a motility factor and amphiregulin as a growth factor in wound healing. *J Pathol* 2002 Dec; 198(4): 523-33.
- 5) Keates S, Han X, Kelly CP, Keates AC. Macrophage-inflammatory protein-3alpha mediates epidermal growth factor receptor transactivation and ERK1/2 MAPK signaling in Caco-2 colonic epithelial cells via metalloproteinase-dependent release of amphiregulin. *J Immunol* 2007 Jun 15; 178(12): 8013-21.
- 6) Berasain C, Garcia-Trevijano ER, Castillo J, Erroba E, Santamaria M, Lee DC, Prieto J, Avila MA. Novel role for Amphiregulin in protection from liver injury. *J Biol Chem* 2005 May 13; 280(19): 19012-2011.
- 7) Dolinay T, Kaminski N, Felgendreher M, Kim HP, Reynolds P, Watkins SC, Karp D, Uhlig S, Choi AM. Gene expression profiling of target genes ventilator-induced lung injury. *Physiol Genomics* 2006 Jun 16; 26(1): 68-75.
- 8) Ishikawa N, Daigo Y, Takano A, Taniwaki M, Kato T, Hayama S, Murakami H, Takeshima Y, Inai K, Nishimura H, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y. Increases of amphiregulin and transforming growth factor-alpha in serum as predictors of poor response to gefitinib among patients with advanced non-small cell lung cancers. *Cancer Res* 2005 Oct 15; 65(20): 9176-84.

# 慢性鳥関連過敏性肺炎 (chronic bird-related hypersensitivity : BRHP) の病態解明

—— 肺局所における原因抗原の局在と樹状細胞との関連 ——

宮崎 泰成 見高 恵子 倉持 仁 立石 知也  
大谷 義夫 稲瀬 直彦 吉澤 靖之\*

昨年までの研究で, chronic BRHP の UIP (usual interstitial pneumonia) パターンでは, ケモカインは Th2 にシフトしていることが明らかとなった (Thorax 2008, in press). Th2 に誘導する樹状細胞を検討するために, 外科的肺生検を施行した acute BRHP 1 例, chronic BRHP 5 例および膠原病肺 1 例を比較検討した. 原因抗原 (鳩排泄物抽出物; pigeon dropping extracts, PDE) に対する抗体 (抗 PDE 抗体) で免疫染色をすると, 細気管支上皮の基底膜側に顆粒状に染色され, myeloid dendritic cell (DC) のマーカーである CD1a 陽性細胞の分布と似ており, この樹状細胞が抗原をプロセスしている可能性が考えられた. マウスモデルでの検討では, C57BL/6 (Th1 優位) と A/J (Th2 優位) を使用し Th1 および Th2 の影響を検討した. BRHP モデルにおいては, Th2 優位である A/J マウスは, Th1 優位である C57BL/6 に比較して強く線維化する傾向にあった. マウスモデルにおいても Th2 優位な免疫状態は肺の線維化に関わっていると考えられたが, 樹状細胞の関与は今回の研究では明らかにされなかった. BRHP の肺病変形成における PDE と樹状細胞の役割をさらに検討していく必要があると考えられた.

## Characterization of dendritic cells during the fibrotic process in chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis

Yasunari Miyazaki, Mitaka Keiko, Jin Kuramochi, Tomoya Tateishi, Yoshio Ohtani  
Naohiko Inase, and Yasuyuki Yoshizawa

*The Department of Integrated Pulmonology, Tokyo Medical and Dental University*

Th2 predominance appears to favor development of pulmonary fibrosis both through the induction of profibrotic events and through the inhibition of Th1 cytokine production with antifibrotic properties. We have reported that a Th2 predominant immune response in chemokine balance may play an important role in the development of UIP (usual interstitial pneumonia)-like lesions of chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis (chronic BRHP) as already observed in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) (Thorax in press). Recent study suggests pulmonary dendritic cells (DCs) could control Th1 or Th2 responses in local microenvironment. The aim of this study is to determine which pulmonary dendritic cells contribute to the Th2 predominance of immune response.

We analyzed one patient with acute BRHP, 5 patients with chronic BRHP and one patient with Sjögren syndrome who had lung specimens of surgical lung biopsies. We established rabbit anti-PDE (pigeon dropping extracts) antibody and performed immunohistochemistry for PDE and CD1a as a myeloid DC marker. PDE staining was observed as granular staining in membranous epithelial cells and CD1a positive cells resides close to PDE positive granules. In PDE lung models, we compared disease progression between two immunologically different murine strain; C57BL/6 as a Th1-prone mouse and A/J as a Th2-prone mouse. In analysis of collagen content, Th2-biased A/J had a tendency to have more fibrosis compared to Th1-biased C57BL/6. These results suggest Th2-prone in immune response may play an important role in a process of pulmonary fibrosis also in murine BRHP model.

We need more work to determine how pulmonary dendritic cells contribute to the Th2 predominance in chronic BRHP.

はじめに

過敏性肺炎あるいは外因性アレルギー性胞隔炎は、免疫学的な機序で起こる原因の明らかな間質性肺炎の代表的疾患である。鳥関連過敏性肺炎 (bird-related hypersensitivity pneumonitis; BRHP) は、鳥関連を抗原とする過敏性肺炎で、慢性が多い<sup>1)</sup>。UIP/IPF の BAL の解析では CXCR3+CD4+細胞が CCR4+CD4+細胞に対して相対的に低下し、BALF 中の IP-10(CXCL10) が低下していた。Th1/Th2 ケモカインのバランスが Th2 へシフトしていると考えられる<sup>2)</sup>。同様に chronic BRHP の UIP (usual interstitial pneumonia) パターンでは、ケモカインは Th2 にシフトしていることを我々は報告した<sup>3)</sup>。一方、T 細胞に抗原提示する樹状細胞は、ナイーブヘルパー T 細胞を Th1 細胞や Th2 細胞に分化誘導することが知られている<sup>4)</sup>。Chronic BRHP において Th2 に誘導する樹状細胞の役割を外科的肺生検および BRHP マウスモデルで検討した。

方法と対象

外科的肺生検を施行した acute BRHP 1例, chronic BRHP 5例および膠原病肺 1例を比較検討した。まず、原因抗原 (鳩排泄物抽出物; pigeon dropping extracts, PDE) に対する抗体 (抗 PDE 抗体) を

作製し、免疫染色を行った。パラフィン包埋された肺標本から 4 μm の切片を作成し、脱パラ後、クエン酸にて抗原賦活した。1次抗体として抗 PDE 抗体 (rabbit)。抗 CD1a, 抗 S100 抗体を使用し、ビオチン化抗マウス IgG あるいは抗ラビット IgG の2次抗体を使用し、ABC Kit (Vector) でシグナルを増幅し、DAB あるいは AI-P で発色させ、ヘマトキシリンで核染色を行った。

マウスモデルの作製 (図 3): C57BL6 (Th1) および A/J マウス (Th2) を Th2 アジュバントである Alum<sup>®</sup> および鳩糞抽出物 (PDE) 2 μg により皮下注により感作したあと (day-3・-1), PDE 8 μg を週 3 回経鼻吸入させ、6 週後および 12 週後の肺を検討した。

結果と考察

鳥関連過敏性肺炎の外科的肺生検での検討 (図 1, 2)

まず急性鳥関連過敏性肺炎で検討した。抗 PDE 抗体の免疫組織染色では、膜性細気管支上皮内に顆粒状に染色された。この顆粒状の染色は、non-immune IgG を一次抗体とした陰性コントロールでは発現は認めず、またシェーグレン症候群の fNSIP (fibrotic nonspecific interstitial pneumonia) 病変でも細気管支上皮に発現は認められなかった。一方 CD1a 抗体で染色してみると、急性症例の膜性細気管支の基底膜

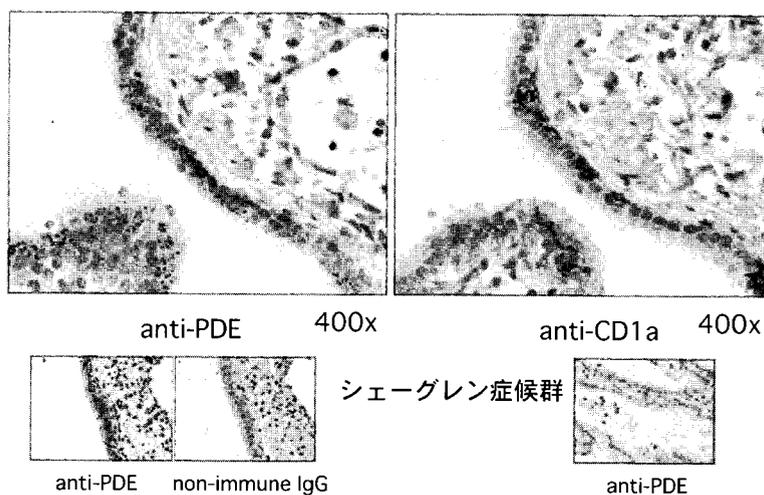


図 1 急性鳥関連過敏性肺炎

東京医科歯科大学 呼吸器内科

\* びまん性肺疾患に関する患調査研究班 分担研究者

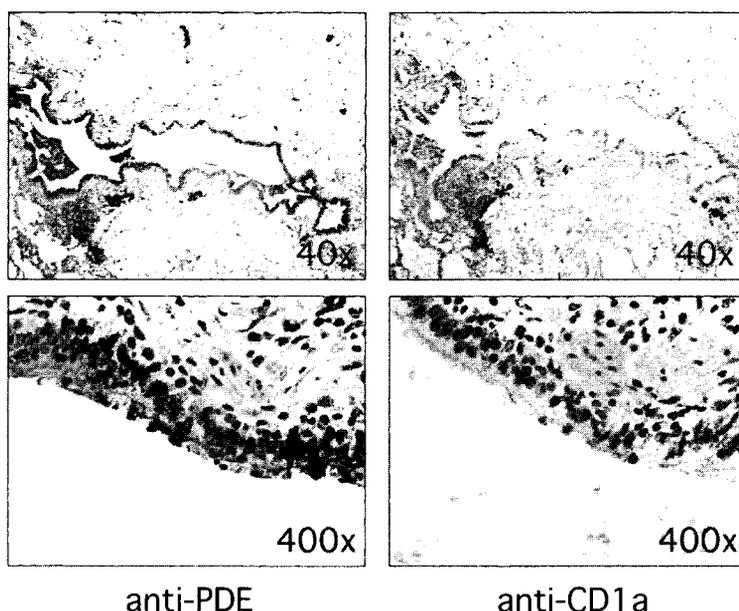


図2 慢性鳥関連過敏性肺炎

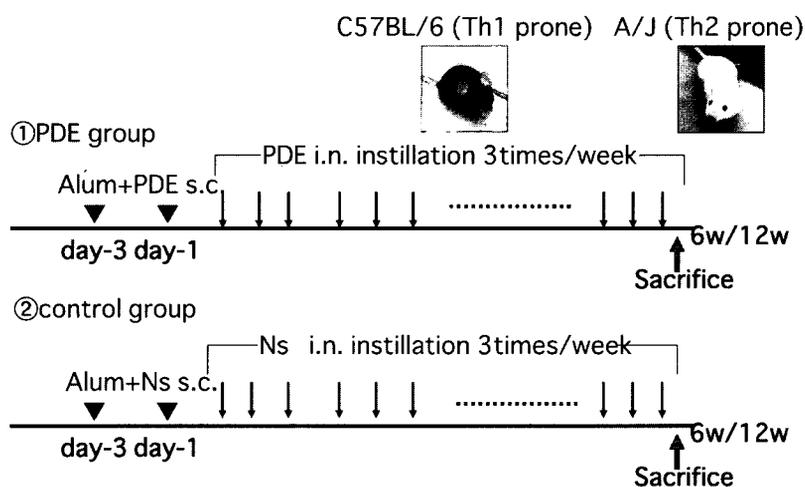


図3 慢性鳥関連過敏性肺炎モデル

側に、四方に突起をのばす樹状細胞を認め、抗原である PDE と考えられる顆粒状のものと分布が近かった。この樹状細胞が抗原をプロセスしている可能性が考えられた。次に慢性鳥関連過敏性肺炎で検討したが、やはり細気管支上皮の基底膜側に顆粒状に PDE が染色されたが、CD1a の発現は、急性と比較して低い傾向にあるようだったが、症例数が少ないのでもう少し検討が必要である。

#### 鳥関連過敏性肺炎モデルでの検討 (図 3-6)

図 3 に実験プロトコルを示す。6 週吸入後 (図 4) では、両群 (それぞれ  $n=3$ ) とともに腔内に大型のマクローファージの集簇と気管支・血管周囲にリンパ球浸

潤を認め、A/J マウスには肉芽腫や多核巨細胞を認めた。12 週後の検討 (図 5, それぞれ  $n=3$ ) では、A/J マウスにのみ肺胞構造の変化・胞隔の肥厚および肺泡道の拡張を認め、BL6 では 6 週後と変化はほぼ同様であった。6 週、12 週ともに、マクローファージ内の PDE の取り込みは、BL6 より A/J に強い傾向にあった

マウス肺のコラーゲン量を測定したところ (図 6) 12 週では、A/J マウスにコラーゲン量が多い傾向にあった。

過敏性肺炎の動物モデルは農夫肺モデルでよく研究されている。Th1 細胞がその病変形成に関与して