

# 外科的肺生検確定 fibrosing interstitial pneumonia 症例に対する 少量ステロイドおよびシクロスポリン A の前向き検討

一門 和哉 高木 誠 村中 裕之 具嶋 泰弘  
岩本 範博 一口 修 吉岡 正一 菅 守隆\*

## **The efficacy of cyclosporine A and low-dose prednisolone in fibrosing interstitial pneumonia diagnosed by surgical Lung biopsy : prospective study**

Kazuya Ichikado, Makoto Takaki, Hiroyuki Muranaka, Yasuhiro Gushima, Norihiro Iwamoto,  
Osamu Ichiguchi, Masakazu Yoshioka, and Moritaka Suga

*Division of Respiratory Medicine, Saiseikai Kumamoto Hospital*

**Purpose :** We conducted a prospective evaluation to examine the efficacy of cyclosporine A and low-dose prednisolone in patients with a biopsy-proved fibrosing interstitial pneumonia and to evaluate whether the response to this therapy would be a biomarker to differentiate cases of usual interstitial pneumonia from pathologically indistinguishable usual interstitial pneumonia (UIP)/fibrotic nonspecific interstitial pneumonia (f-NSIP).

**Methods :** Two independent expert pathologist prospectively evaluated the pathologic lung specimens obtained from 15 patients suspected interstitial pneumonia by surgical lung biopsy. Of 15 patients there were nine men and six women ( $59.5 \pm 10.4$  years). Their pathological diagnoses were divided into two patterns between the two pathologists : seven patients with concordant diagnosis of f-NSIP and eight patients with discordant diagnosis of UIP/f-NSIP. All patients were treated by cyclosporine A and low-dose prednisolone (10 mg/day) for  $13.2 \pm 6.8$  months.

**Results :** Seven patients with concordant diagnosis of f-NSIP showed significant improvement of % predicted vital capacity and serum KL-6 ( $p < 0.05$ ), while eight patients with discordant diagnosis of UIP/f-NSIP did not. According to response criteria of the ATS/ERS consensus statement, 86% of concordant cases improved, but 88% cases of discordant ones showed unchanged or worsened.

**Conclusions :** The combination therapy of cyclosporine A and low-dose prednisolone was effective in patients with fibrotic NSIP and may be a potential therapy to differentiate cases of UIP from pathologically indistinguishable fibrosing interstitial pneumonia.

## はじめに

2002年に発表されたATS/ERS Consensus Statementにおいて、臨床所見と合わせて、典型的な通常型間質性肺炎 (usual interstitial pneumonia: UIP) のHRCT所見を呈する場合には、特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) の臨床診断が可能と報告された<sup>1)</sup>。一方で、非典型的な画像所見の場合には、外科的肺生検を含めた診断が必要とされ、さらに、病理所見だけでなく、臨床-画像-病理を総合した診断 (Clinico-Radiological-Pathological diagnosis: CRP diagnosis) により、診断確度を高めるべきことが提唱されている。しかしながら、CRP diagnosisを実際どのように行うかの具体的な表記はなく、臨床の場では、治療反応性や経過を考慮した上での診断が必要になると考えられる。

IPF/UIPと頻度や治療反応性の上で最も鑑別が問題となるfibrotic nonspecific interstitial pneumonia (f-NSIP)は、積極的な免疫抑制剤の併用治療により、IPF/UIPとの予後の違いが報告されている<sup>2)</sup>。

今回の検討の目的は、2004年10月より、当院で外科的肺生検を施行した23症例の線維性間質性肺炎 (UIPもしくはf-NSIP) 症例に対して、一律に少量ステロイドとシクロスポリン Aによる併用療法を施行し、2名の病理診断医の診断に応じた治療反応性を前向きに検討した。この過程で、(1) f-NSIP症例におけるこの併用治療の有用性を検討するとともに、(2) 病理学的にUIP/f-NSIP診断困難症例について、CRP diagnosisにおける治療反応性をみる上での、同併用療法の臨床的指標の有用性の2点について明らかにすることとした。

## 対象と方法

### 1) 症例

2004年10月から当院で外科的肺生検を施行し、線維性間質性肺炎 (UIP or f-NSIP) と診断された症例のうち、プレドニゾロン 10 mg/day にシクロスポリン A 2-3 mg/kg/day (目標トラフ 80-150 ng/ml) にて、前向きに一律に治療を行い、6ヵ月以上の経過が得ら

済生会熊本病院呼吸器科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 分担研究者

表1 当科にて2004/10月以降 VATS 生検にて診断された線維性間質性肺炎 23 症例中、治療導入 6ヵ月以上経過した 15 症例

性別	M / F : 9 / 6
年齢	59.5 ± 10.4歳
治療	PSL 10 mg/day + CsA 2-3mg/kg/day (トラフ 90-150 ng/ml)
観察期間	13.2 ± 6.8ヵ月
2名の病理医による病理診断	
Fibrotic NSIP (診断一致例)	7 症例
UIP / fibrotic NSIP (診断不一致例)	8 症例

表2 治療前データの比較

	Fibrotic NSIP (診断一致例: n = 7)	UIP / fibrotic NSIP (診断不一致例: n = 8)	
年齢 (歳)	53.3 ± 10.3	64.9 ± 6.3	0.043
性別 (M / F)	2 / 5	7 / 1	0.046
VC % pred	74.5 ± 11.4	65.4 ± 15.1	0.11
DLco % pred	57.4 ± 18.7	49.9 ± 12.2	0.48
PaO <sub>2</sub> Torr	85.6 ± 25.7	84.5 ± 16.3	0.78
KL-6	2675 ± 1535	1597 ± 841	0.093

れた 15 症例を対象とした (表 1, 2)。

### 2) 病理所見の評価

2名の病理医により、個別に臨床情報と症例のkey画像を送付し、病理診断を依頼する形式で行った。それぞれの病理医からの病理診断を基に、診断一致群 7 症例と、診断不一致群 8 症例に分けられ、診断一致群の病理診断はすべて f-NSIP であり、診断不一致群の病理診断は、UIP と f-NSIP に分類された。

### 3) HRCT 画像所見の評価

すべての症例で、VATS 施行前に、HRCT 所見から判断される診断名について記載した。診断名はパターンで表記し、その内訳は、UIP, fibrotic NSIP, chronic hypersensitivity pneumonitis (CHP) とし、UIP と f-NSIP 鑑別困難症例については、UIP/f-NSIP indeterminate とした<sup>4,5)</sup> (表 3)。

### 4) 臨床所見の比較と、治療前後の治療反応性の評価

治療前後における肺機能指標 (%VC, %Dlco) と、血清マーカー KL-6 の推移、さらに、ATS/ERS Statement における治療反応性の評価基準に応じて、改善、不変および悪化に分類した。

表3 病理診断と VATS 前 HRCT 診断の対比

Fibrotic NSIP (診断一致例: n = 7)	HRCT 診断	UIP / fibrotic NSIP (診断不一致例: n = 8)
4	Fibrotic NSIP	2
2	F-NSIP/UIP indeterminate	5
1	Chronic HP Probable UIP	1

結 果

1. 治療前後の肺機能指標と血清マーカーの推移

診断一致群と不一致群の各群における治療前後の肺機能指標の推移と、血清マーカーの推移を図1に示す。診断一致の f-NSIP 症例は、治療前後で、有意な%

VC の改善 ( $p=0.02$ ) と、KL-6 の改善 ( $p=0.01$ ) を認めた。%DLco も有意差はなかったが、改善傾向 ( $p=0.22$ ) が確認された。一方、診断不一致の UIP/f-NSIP 鑑別困難症例は、いずれの指標も治療による有意な改善はみられなかった ( $p>0.05$ )。

2. ATS/ERS Consensus Statement の治療効果判定基準からの評価

診断一致群と不一致群の各群における治療前後の効果判定基準による結果を図2に示す。診断一致群は、改善 87%，不変 13% であり、悪化症例はみられなかった。一方、UIP/f-NSIP 診断困難症例は、不変と悪化で 88% を占め、悪化例には死亡症例 2 例も含まれた。

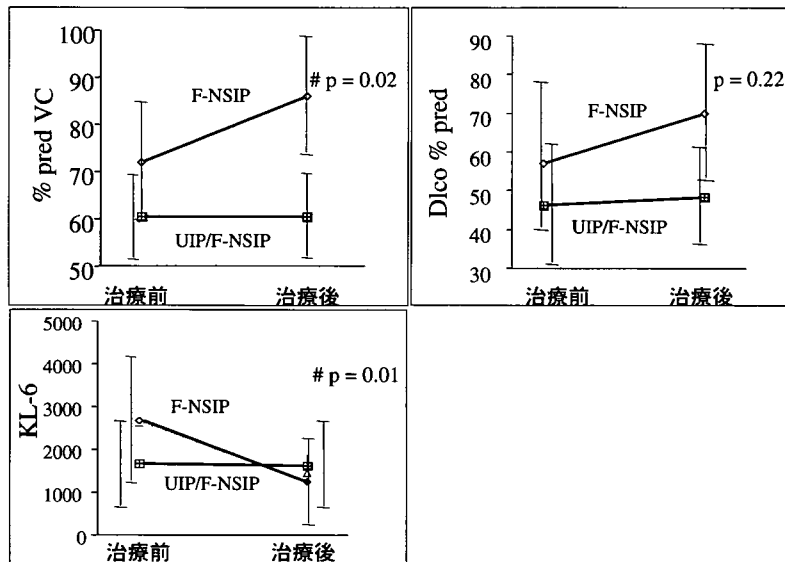


図1 F-NSIP 群は、治療前後で %VC および KL-6 の有意な改善

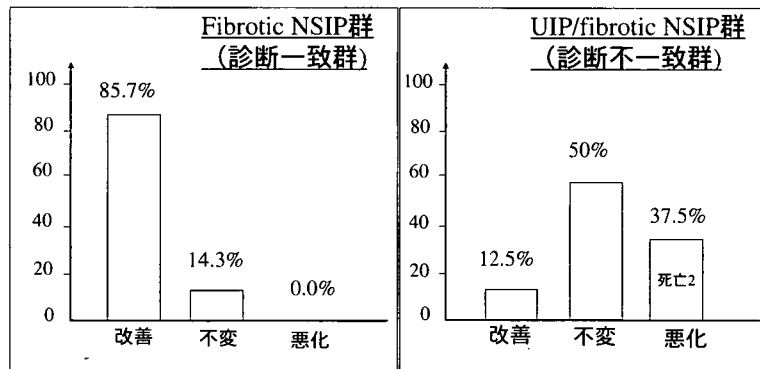


図2 ATS/ERS ガイドライン効果判定基準から

## 考察と結語

今回の検討において、10 mg のプレドニゾロンにシクロスポリン A を併用することで、fibrotic NSIP 症例への効果が確認された。一方、病理学的にも UIP/f-NSIP との鑑別困難症例については、同併用療法の効果は乏しいという結果となった。病理学的にも鑑別が困難な線維性間質性肺炎症例群に対しては、臨床的に CRP diagnosis が必要となる症例群であり、VATS 時のみのデータを総合しても、CRP diagnosis として診断を決定することの困難な症例は、過去 3 年間の治療例に限っても、実際に当科では 15 症例中 8 症例と半数以上であった。

治療経過を含めた判断を要すると考えられるが、実際に、治療薬剤に何を選擇して反応性を評価するか、ATS/ERS ガイドラインでも明確にされていない。これまで、IPF/UIP 症例と、f-NSIP 症例の予後の違いは報告されている<sup>3)</sup>が、両群を同様の治療 regimen にて治療して、その反応性を明確に示した報告は少ない<sup>2)</sup>。Kondoh ら<sup>2)</sup>は、外科生検症例の IPF/UIP と f-NSIP に限った検討にて、パルス療法後、20 mg 隔日の少量ステロイドとシクロフォスファミドの維持療法を一律に施行して、f-NSIP 症例群で有意な改善を報告し、IPF/UIP との治療反応性・予後の違いを明確にしている。この報告と同様に、今回の検討で行った少量ステロイドとシクロスポリン A の併用療法は、反応性のある f-NSIP と反応性の乏しい線維性間質性肺炎群を線引きすることが可能であると考えられる。

一方、筆者らは、治療反応性の乏しい線維性間質性肺炎群は、すべて UIP と診断すべきとは思わない。f-

NSIP group III 症例が含まれる可能性は否定できないためであり、このような症例群を CRP 含めて再度検討する必要があると思われる。

## 参考文献

- 1) American Thoracic Society: Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus treatment. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). *Am J Respir Crit Care Med* 2000; **161**: 646-664.
- 2) Kondoh Y, Taniguchi H, Yokoi T, et al. Cyclophosphamide and low-dose prednisolone in idiopathic pulmonary fibrosis and fibrosing nonspecific interstitial pneumonia. *Eur Respir J* 2005; **25**: 528-533.
- 3) Nicholson AG, et al. The prognostic significance of the histologic pattern of interstitial pneumonia in patients with clinical entity of cryptogenic fibrosing alveolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; **162**: 2213-2217.
- 4) Flaherty KR, et al. Radiological versus histological diagnosis in UIP and NSIP: survival implications. *Thorax* 2003; 143-148.
- 5) Johkoh T, et al. Nonspecific interstitial pneumonia: correlation between thin-section CT findings and pathologic subgroups in 55 patients. *Radiology* 2002; **225**: 199-204.

# 間質性肺炎 (IP) および IP 合併肺癌組織における SUV 値と Glut-1 の対比

磯部 和順<sup>1</sup> 秦 美暢<sup>2</sup> 阪口 真之<sup>1</sup>  
杉野 圭史<sup>1</sup> 坂本 晋<sup>1</sup> 篠崎 稔<sup>3</sup>  
渋谷 和俊<sup>3</sup> 高木 啓吾<sup>2</sup> 小澤 幸彦<sup>4</sup>  
本間 栄<sup>1\*</sup>

背景と目的：standardized uptake value (SUV) 値とグルコーストランスポーターI (Glut-1) 陽性率は相関する。IP および肺癌における SUV 値と Glut-1 染色陽性細胞の肺組織内局在の関連性を明らかにすることを目的とした。

対象と方法：2004年4月～2007年10月まで当センターでFDG-PETを施行したIP合併肺癌27例(IP-LC群)と肺癌非合併22例(IP群)を対象とし、肺癌領域とIP領域のSUVmaxを測定し比較検討した。また、手術肺(n=8)を用いてGlut-1染色結果との対比を行った。

結果：IP-LC群の平均SUVmaxは肺癌領域では $8.6 \pm 6.3$ 、IP領域では $1.5 \pm 0.4$ であり肺癌領域で有意な上昇を認めた( $P < 0.001$ )。一方、IP群の平均SUVmaxは $1.6 \pm 0.4$ でありIP-LC群とIP群のIP領域に有意差は認められなかった( $P = 0.46$ )。また、Glut-1染色ではIP領域における増生血管内赤血球の他に、一部のII型肺胞上皮細胞、化生細胞に陽性所見を認めた。

結論：IP領域におけるSUV値上昇は血管増生の他、化生細胞やII型肺胞上皮細胞の増生に基づく糖代謝亢進との関連性が示唆された。

## Comparison between SUV and Glut-1 expressions in interstitial pneumonia (IP) and IP associated with lung cancer

Kazutoshi Isobe<sup>1</sup>, Yoshinobu Hata<sup>2</sup>, Shinji Sakaguchi<sup>1</sup>, Keishi Sugino<sup>1</sup>, Susumu Sakamoto<sup>1</sup>, Minoru Shinozaki<sup>3</sup>, Kazutoshi Shibuya<sup>3</sup>, Keigo Takagi<sup>2</sup>, Yukihiro Ozawa<sup>4</sup>, and Sakae Homma<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Respiratory Medicine, <sup>2</sup>Chest Surgery, <sup>3</sup>Pathology, Toho University Omori Medical Center  
<sup>4</sup>Yuai clinic

Aim: The aim of this study was to demonstrate correlation between SUV and Glut-1 expressions in IP and lung cancer.

Subjects and methods: 27 patients with interstitial pneumonia (IP) associating lung cancer (IP-LC group) and 22 patients with IP non-associating lung cancer underwent 18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) during April 2004 through October 2007. Among those 49 patients, eight underwent surgical lung resection as a therapeutic or a diagnostic procedure. SUV were analyzed in both IP fields and lung cancer fields. Additionally, Glut-1 expressions in the resected lung tissues and those SUV were evaluated, respectively.

Results: Although there was significant difference of SUV between lung cancer fields ( $8.6 \pm 6.3$ ) and IP fields ( $1.5 \pm 0.4$ ) in LC-IP group ( $p < 0.001$ ), there was no significant difference of SUV in IP fields between LC-IP and IP group ( $p < 0.46$ ). In addition to RBC in the vessels along alveolar walls, hyperplastic alveolar type II cells and metaplastic cells in the fibrotic lung lesion revealed positive Glut-1 expressions.

Conclusion: The elevation of SUV in IP fields can be caused by neovascularization and/or hyperplasia of alveolar type II cells and metaplastic cells in the fibrotic lesions.

## はじめに

18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) において、間質性肺炎 (IP) の線維化病変では、FDG がびまん性に集積することが報告されているが<sup>1)</sup>、そのメカニズムについては明らかにされていない。

また、肺癌組織において、FDG の取込みを示す standardized uptake value (SUV) 値とグルコーストランスポーター 1 (Glut-1) 染色陽性細胞比率が相関することが報告されている<sup>2-4)</sup>。今回、IP および IP 合併肺癌における IP 領域と肺癌領域の SUV 値と Glut-1 染色陽性細胞の肺組織内局在との関連性を明らかにすることを目的とした。

## 対象および方法

### 対象

2004 年 4 月～2007 年 10 月まで当センターで FDG-PET を施行した IP 合併肺癌：27 例 (IP-LC 群) と肺癌非合併 IP：22 例 (IP 群) を対象とした。

### 方法

1. FDG-PET で、肺癌領域と IP 領域の SUVmax (1 時間値) を IP-LC 群と IP 群において測定し以下の項目を比較検討した。

- 肺癌領域と IP 領域の SUV 値
- 肺癌組織型と SUV 値
- 肺癌合併例と非合併例における IP 領域の SUV 値
- IP の亜分類と SUV 値

2. 手術検体 (n=8) を用いて Glut-1 染色を施し、肺癌領域、IP 領域における陽性細胞の局在について検討した。尚、Glut-1 染色はウサギ抗 Glut-1 ポリクローナル抗体 (Dako, product code: OBT1748) を用いた。

## 結 果

1. IP-LC 群と IP 群との患者背景を表 1 に示す。IP-LC 群の平均年齢は 70.2 歳 (58-87 歳)、IP 群では 69.5 歳 (58-81 歳) と両群で差は認められなかった。性差は IP-LC 群で男性が多く、女性が少ない傾向があった。IP の亜分類では IPF (clinical, pathological) が IP-LC 群で 17 例、IP 群で 12 例であったが、IIP/non-UIP はそれぞれ 6 例、CVD-IP は 4 例と両群に差はなかった。また、両群の血清マーカーと呼吸機能の比較では KL-6、SP-D は IP 群で有意に高値で、%VC が IP 群で有意に低い傾向があった (表 2)。

肺癌領域と IP 領域の SUV 値の比較では肺癌領域 (SUV: 8.5±6.3) は IP 領域 (SUV: 1.5±0.4) より SUV 値の有意な上昇を認めた ( $P<0.001$ ) (図 1)。

肺癌組織型と SUV 値の比較では、腺癌 (SUV: 8.7±6.2) や扁平上皮癌 (SUV: 11.9±7.6) が小細胞癌 (SUV: 5.8±1.1) より高い傾向であった (図 2)。

肺癌合併例と非合併例における IP 領域の比較では IP-LC 群 (SUV: 1.3±0.79) と IP 群 (SUV: 1.6±0.47) に有意差は認めなかった (図 3)。

IP の亜分類と SUV 値の比較では、IPF (SUV: 1.8±0.7)、IIP/non-UIP (SUV: 2.0±0.9)、CVD-IP (SUV: 1.4±0.3) の 3 群間で有意差は認めなかった (図 4)。

2. 次に手術摘出肺を用いて Glut-1 染色を行った。患者背景を表 3 に示す。IP-LC 群が 4 例 (IPF/UIP: 3, CVD-IP (RA): 1)、IP 群が 4 例 (IPF/UIP: 2, IIP/unclassified: 1, CVD-IP (DM): 1) であった。また、IP-LC 群の肺癌の組織型は小細胞癌 1 例、腺癌 (高分化) 2 例、扁平上皮癌 (中分化) 1 例であった。

肺癌領域の Glut-1 染色では癌細胞、壊死組織、腫瘍内血管の赤血球に陽性所見を認めた (図 5)。症例 1 の小細胞癌 (肺癌領域: SUVmax 6.2) では主に腫瘍内に増生した血管内の赤血球に強陽性所見を認め、腫瘍細胞は弱陽性であった (図 6A)。また、症例 3 の中分化扁平上皮癌 (肺癌領域: SUVmax 9.3) では腫瘍細胞および壊死組織に陽性所見が認められた (図 6B)。しかし、症例 4 の高分化腺癌 (肺癌領域: SUVmax 2.2) では陰性であった (図 6C)。肺癌領域では Glut-1 染色陽性細胞が増加するに伴い SUV 値が上昇する傾向が認められた (図 7)。

IP 領域の Glut-1 染色では、増生血管内の赤血球の

<sup>1</sup> 東邦大学医療センター大森病院呼吸器内科

<sup>2</sup> 同 呼吸器外科

<sup>3</sup> 同 病理

<sup>4</sup> ゆうあいクリニック

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

表 1 患者背景

	IP-LC群(n=27)	IP群(n=22)
• 年齢(平均年齢)	58~87(70.2)歳	58~81(69.5)歳
• 性別 男/女	24/3	12/10
• IPの亜分類		
IPF	17	12
clinical	13	9
pathological	4	3
IIP/non-UIP	6	6
CVD-IP	4	4
• 肺癌の組織型		
Ad/Sq/Small/NSLC	8/10/5/4	0

表 2 IP-LC 群と IP 群の血清マーカーと呼吸機能

	IP-LC群	IP群	p-value
LDH (IU/L)	467 ± 178	462 ± 194	0.9
KL-6 (U/ml)	838 ± 563	1449 ± 1223	0.03
SP-D (ng/ml)	113 ± 106	224 ± 118	0.001
PaO2 (Torr)	78 ± 15	78 ± 14	0.95
%VC (%)	99 ± 23	76 ± 20	0.001
%Dlco (%)	58 ± 16	45 ± 28	0.07

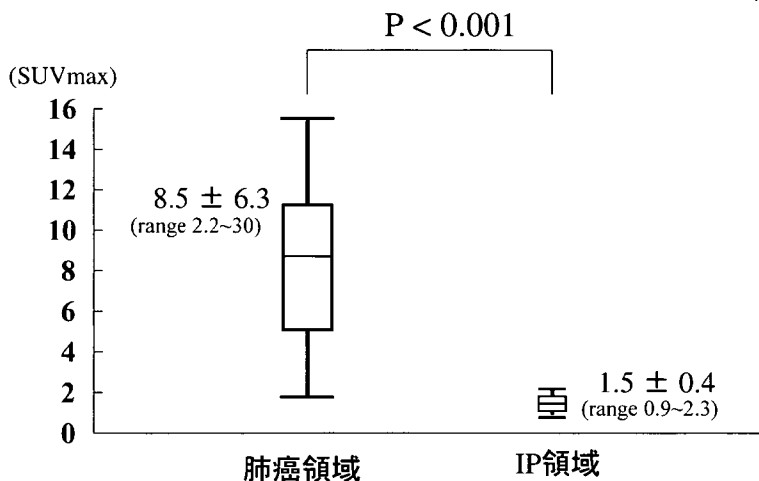


図 1 肺癌領域と IP 領域の SUV 値の比較では肺癌領域の SUV 値は IP 領域に比較して有意な上昇を認めた。

他に、II 型肺胞上皮細胞や化生細胞にも陽性所見を認めた (図 8)。症例 7 の IIP/unclassified (IP 領域: SUVmax 2.2) では気腔面に接した増生した毛細血管内の赤血球に陽性所見が認められ (図 9A)、一部の II 型肺胞上皮細胞や化生細胞にも陽性所見を認めた

(図 9B, 9C)。また、症例 1 の IPF/UIP (IP 領域: SUVmax 1.8) では IP 領域で増生した扁平上皮化生細胞に陽性所見が認められた (図 9D)。

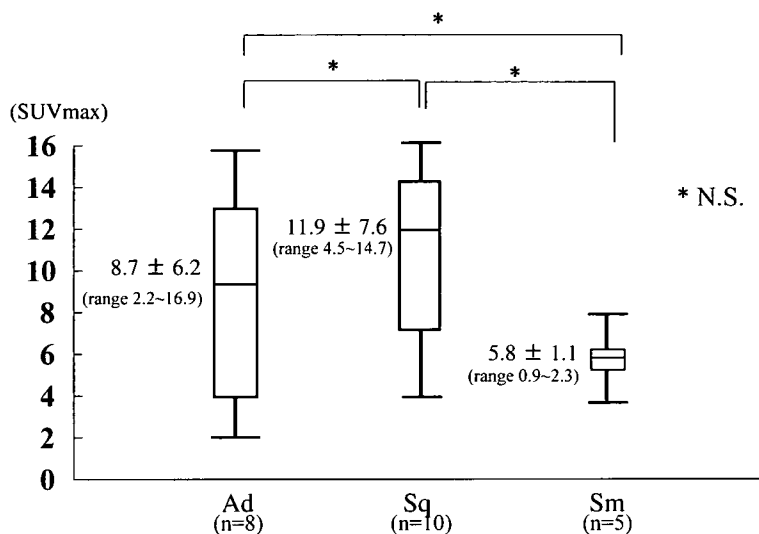


図2 肺癌組織型と SUV 値の比較では、腺癌や扁平上皮癌が小細胞癌より高い傾向であった。

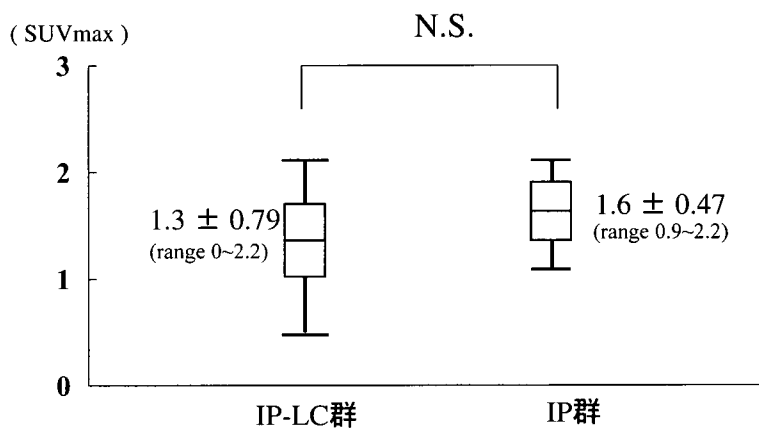


図3 肺癌合併例と非合併例における IP 領域の比較では IP-LC 群と IP 群に有意差は認めなかった。

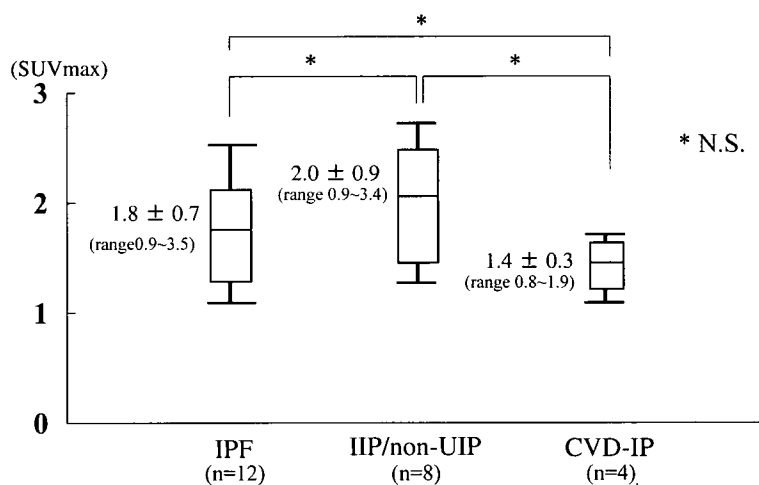


図4 IP の亜分類と SUV 値の比較では、IPF, IIP/non-UIP, CVD-IP の 3 群間で有意差は認めなかった。



表 3 患者背景 (Glut-1 染色, n=8)

	症例	年齢/性別	IP亜分類	肺癌組織型	分化度
IP-LC群	1	64/M	IPF/UIP	Sm	Poorly
	2	76/M	IPF/UIP	Ad	Well
	3	76/M	IPF/UIP	Sq	Moderately
	4	69/M	CVD-IP (RA)	Ad	Well
IP群	5	59/M	IPF/UIP		
	6	71/M	IPF/UIP		
	7	60/F	IIP/unclassified		
	8	59/F	CVD-IP (DM)		

	赤血球	扁平上皮癌 (壊死組織)	小細胞癌	高分化 腺癌
肺癌領域	+++	++ (++)	+	-

+++: 強陽性 ++: 中等度陽性 +: 弱陽性 -: 陰性

図 5 肺癌領域の Glut-1 染色では癌細胞, 壊死組織, 腫瘍内血管の赤血球に陽性所見を認めた。

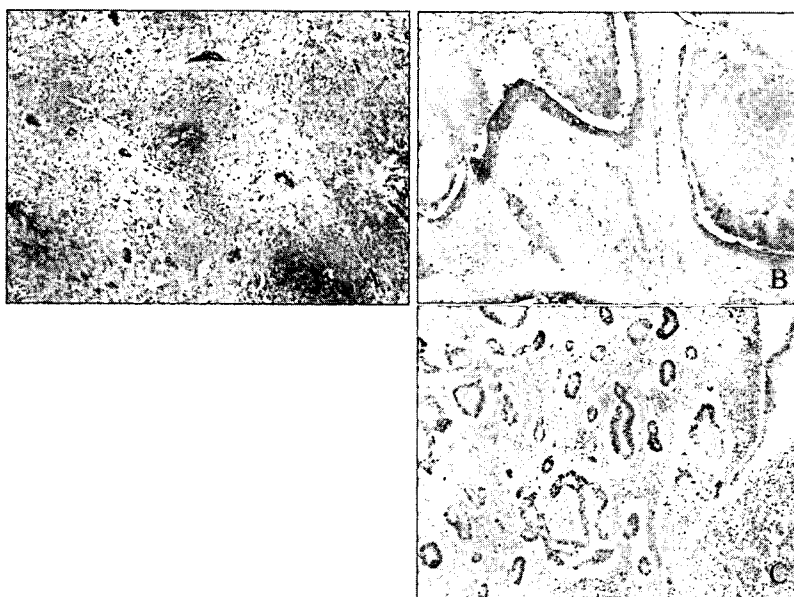


図 6 A) 症例 1 の小細胞癌 (肺癌領域: SUVmax 6.2) では主に腫瘍内に増生した血管内の赤血球に強陽性所見を認め、腫瘍細胞は弱陽性であった。B) 症例 3 の中分化扁平上皮癌 (肺癌領域: SUVmax 9.3) では腫瘍細胞および壊死組織に陽性所見が認められた。C) 症例 4 の高分化腺癌 (肺癌領域: SUVmax 2.2) では陰性であった。

## 考 察

間質性肺炎には高頻度に肺癌を合併するが<sup>5-9)</sup>, 画像上, 蜂巣肺, すりガラス状陰影などに混在し, 早期

発見が困難になる場合がある。このような多彩な画像所見を有する既存肺に発癌した場合の FDG-PET の有用性が報告されている<sup>1)</sup>。これは, FDG が糖代謝が亢進している肺癌領域のみを明瞭に描出するため

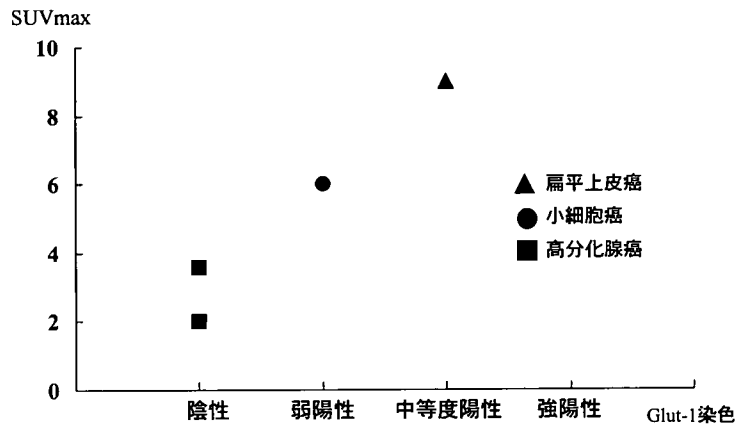


図7 肺癌領域では Glut-1 染色陽性細胞が増加するに伴い SUV 値が上昇する傾向が認められた。

	赤血球	線毛円柱上皮	I型肺胞上皮細胞	II型肺胞上皮細胞	化生細胞
IP領域	+++	-	-	+	+~+++

+++: 強陽性 ++: 中等度陽性 +: 弱陽性 -: 陰性

図8 IP領域の Glut-1 染色では、増生血管内の赤血球の他に、II型肺胞上皮細胞や化生細胞にも陽性所見を認めた。

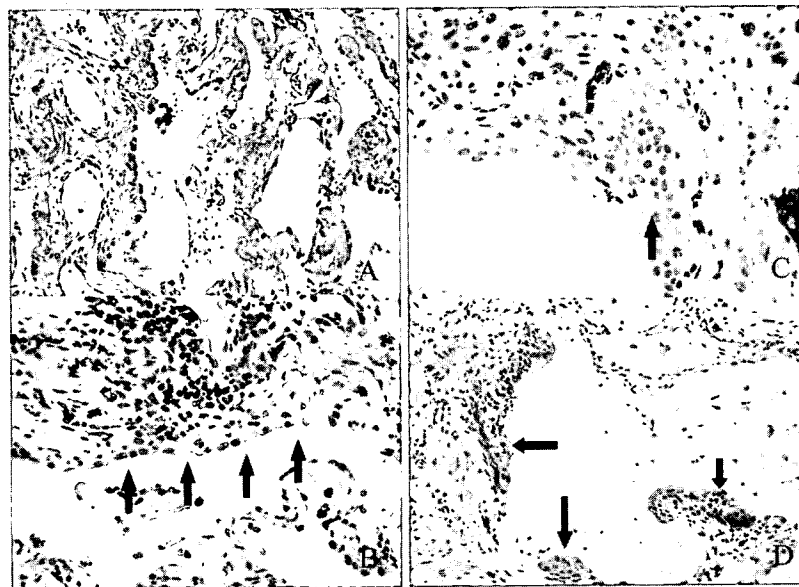


図9 A) 症例7のIIP/unclassified (IP領域: SUVmax 2.2) では気腔面に接し、増生した毛細血管の赤血球に陽性所見が認められた。B), C) 一部のII型肺胞上皮細胞や化生細胞に陽性所見を認めた。D) 症例1のIPF/UIP (IP領域: SUVmax 1.8) ではIP領域で増生した扁平上皮化生細胞に陽性所見が認められた。

あると考えられる。さらに、既存肺と肺癌との鑑別が困難な放射線肺臓炎、術後変化を背景にもつ癌の検出においての有用性も報告されている<sup>10,11)</sup>。現在、FDGの集積の程度を表す SUV max は 1.6~2.5 を越えた場

合に悪性腫瘍の可能性が高いとされる<sup>12-16)</sup>。このように形態診断のみの CT よりも機能診断も合わせ持つ PET を併用することで間質性肺炎合併肺癌の診断率が上昇することが期待される。

しかし、間質性肺炎にも FDG がびまん性に集積することが報告されているが<sup>1)</sup>、このメカニズムは未だ解明されていない。このため、本検討では最初に、間質性肺炎合併肺癌における肺癌領域と IP 領域、IP の亜分類、肺癌組織型、肺癌合併例と非合併例での IP 領域それぞれの SUV 値の検討を行い、次に上記肺組織における Glut-1 陽性細胞との関連性を検討した。

FDG はグルコースと同様に細胞内にグルコーストランスポーターを介して取り込まれる。肺癌、頭頸部癌においては SUV 値と Glut-1 の陽性細胞率が相関することが報告されている<sup>2-4)</sup>。今回の検討でも肺癌領域の SUV 値は IP 領域と比較して有意に高い傾向があった。さらに、Glut-1 染色陽性細胞率が高くなるにつれて、肺癌領域の SUV 値も上昇する傾向が認められた。肺癌の組織型では、諸家の報告<sup>17)</sup>と同様、本検討でも扁平上皮癌の SUV 値が高い傾向にあった。これは腫瘍細胞以外に壊死組織にも Glut-1 染色で中等度の陽性所見が認められたためであると考えられる。このような壊死組織では低酸素環境下での糖代謝亢進が報告されている<sup>18)</sup>。また、本検討では小細胞癌の Glut-1 染色では腫瘍細胞は弱陽性であったが、腫瘍組織内に増生した血管内の赤血球に陽性所見が認められ、小細胞癌が扁平上皮癌や腺癌と比較して SUV 値が低い傾向であった一因と考えられた。

IP 領域における SUV 値は  $1.5 \pm 0.4$  と軽度の上昇が認められた。本検討では IP の亜分類や肺癌の合併の有無で SUV 値の有意な差は認められなかった。IP 組織においては血管の新生が報告されており<sup>19)</sup>、これに関連し、Glut-1 染色では肺胞腔に接し新生した毛細血管内の赤血球が強陽性を示した。さらに、線維化巣に増生した異型化生細胞や II 型肺胞上皮細胞などに陽性所見が認められた。このような異型化生細胞は発癌との関連性が指摘されており<sup>20)</sup>、今後、癌関連遺伝子との関連性も合わせて検討する。

なお、間質性肺炎における FDG-PET はその集積が低い 1 cm 以下の肺癌や肺胞壁に沿って進展する高分化腺癌が合併した場合には検出に限界がある。逆に、FDG の高度集積を認める肺癌の場合には肺膿瘍、肺真菌症などの炎症性疾患、肉芽腫病変などとの鑑別が困難であり、これらの疾患における糖代謝との関連性も検討する必要がある。

## 結 語

IP 領域における SUV 値上昇は血管新生の他、化生細胞、II 型肺胞上皮細胞などの上皮増生に基づく糖代謝亢進が示唆された。

## 文 献

- 1) Lyburn ID, Lowe JE, Wong WL. Idiopathic pulmonary fibrosis on F-18 FDG positron emission tomography. Clin Nucl Med 2005; 30: 27.
- 2) Yen TC, See LC, Lai CH, et al. 18F-FDG uptake in squamous cell carcinoma of the cervix is correlated with glucose transporter 1 expression. J Nucl Med 2004; 45: 22-29.
- 3) Higashi K, Ueda Y, Sakurai A, et al. Correlation of Glut-1 glucose transporter expression with. Eur J Nucl Med 2000; 27: 1778-1785.
- 4) Nguyen XC, Lee WW, Chung JH, et al. FDG uptake, glucose transporter type 1, and Ki-67 expressions in non-small-cell lung cancer: correlations and prognostic values. Eur J Radiol 2007; 62: 214-219.
- 5) 青山克彦, 星永進, 生方幹夫, 高柳昇, 河端美則, 金沢実, 他. 特発性間質性肺炎の臨床. 肺癌の合併とその対応. 日本胸部臨床. 2003; 62: S114-S120.
- 6) 竹内栄治, 山口俊彦, 森雅秀, 田中茂治, 中川勝, 横田総一郎, 他. 肺癌を合併した特発性間質性肺炎症例の臨床的検討. 日本胸部疾患学会雑誌. 1996; 34: 653-658.
- 7) 大塚義紀, 浮田英明, 正木芳孝, 土肥勇, 棟方充, 川上義和, 他. 特発性間質性肺炎 (IIP) からの肺癌発症一prospective study一. 日本胸部疾患学会雑誌. 1991; 29: 560-565.
- 8) 饗庭三代治, 内田和仁, 稲富恵子, 本間日臣. 特発性間質性肺炎と肺癌合併症例の背景因子と治療の問題点. 肺癌. 1985; 25: 617-623.
- 9) 谷村一則, 清水透, 本間行彦, 小笠原英紀, 日下大隆, 井上幹朗, 他. 特発性間質性肺炎と肺癌合併例の特徴, とくに頻度, 組織型, 生部位, 病期, 年齢, 肺機能について. 日本胸部疾患学会雑誌. 1987; 25: 216-221.
- 10) 安藤性實, 新井徹, 井上義一, 他: FDG-PET により癌病巣の局在を同定しえた特発性肺線維症に

- 合併した肺腺癌の 1 例. 日呼吸会誌. 2005; 43: 476-480.
- 11) Bury T, Corhay JL, Duysinx B, et al. Value of FDG-PET in detecting residual or recurrent non-small cell lung cancer. *Eur Respir J* 1999; 14: 1376-1380.
- 12) Hebert ME, Lowe VJ, Hoffman JM, et al. Positron emission tomography in the pretreatment evaluation and follow-up of non-small cell lung cancer patients treated with radiotherapy: preliminary findings. *Am J Clin Oncol* 1996; 19: 416-421.
- 13) 窪田和雄. FDG-PET の原理と評価法. 画像診断. 2003; 23: 1118-1128.
- 14) Alavi A, Gupta N, Alberini JL, et al. Positron emission tomography imaging in nonmalignant thoracic disorders. *Semin Nucl Med* 2002; 4: 293-321.
- 15) Yang SN, Liang JA, Lin FJ, et al. Differentiating benign and malignant pulmonary lesions with FDG-PET. *Anticancer Res* 2001; 21: 4153-4158.
- 16) Kapucu LO, Meltzer CC, Townsend DW, et al. Fluorine-18-fluorodeoxyglucose uptake in pneumonia. *J Nucl Med* 1998; 39: 1267-1269.
- 17) Hashimoto Y, Tajikawa T, Kondo C, et al. Accuracy of PET for diagnosis of solid pulmonary lesions with 18F-FDG uptake below the standardized uptake value of 2.5. *J Nucl Med* 2006; 47: 426-431.
- 18) De Geus-Oei LF, van Krieken JH, Aliredjo RP, et al. Biological correlates of FDG uptake in non-small cell lung cancer. *Lung cancer* 2007; 55: 79-87.
- 19) 中山智子, 小野美紀子, 山本滋樹, 他. 間質性肺炎繊維化巣における血管新生とリンパ管新生の検討. びまん性肺疾患にかんする調査研究班 平成 17 年度研究報告書. 2007: 73-77.
- 20) Hiroshima K, Iyoda A, Shibuya K, et al. Evidence of neoangiogenesis and an increase in the number of proliferating cells within the bronchial epithelium of smokers. *Cancer* 2002; 95: 1539-1545.

# 日本人に見られる急性肺障害・間質性肺炎の遺伝学的研究

萩原 弘一\*

我々は、GeneChip データを用いて遺伝学的解析を行なうためのアルゴリズムであるホモ接合ハプロタイプ法、およびそのプログラムを開発した。ホモ接合ハプロタイプ法、および既存の全ゲノム関連解析などのアルゴリズムを使い、日本人にみられる急性肺障害・間質性肺炎 (ILD)、および特発性肺線維症急性増悪の責任遺伝子を解明する計画を立てた。既知の疫学データに人類遺伝学的考察を加えると、急性肺障害・間質性肺炎の責任遺伝子は日本人の 5.8% 以上が保持している浸透率の高い遺伝子であるという結論が導きだせる。この結論に基づき、適切な数の症例サンプルを収集し、解析を行って行く予定である。

## **A proposal for the genetic analysis of the interstitial lung disease/ interstitial pneumonia observed in the Japanese population**

Koichi Hagiwara

*Department of Respiratory Medicine, Saitama Medical University*

We have invented an algorithm called “homozygosity haplotyping” where the SNP haplotype is uniquely determined from the genomewide SNP genotyping data obtained by a large-scale SNP arrays, and implemented it in a C program. We hereby propose a project for the genetic analysis of the interstitial lung disease/interstitial pneumonia observed in the Japanese population using the algorithm for the “homozygosity haplotyping” algorithm and that for the whole genome association. The target diseases are the interstitial lung disease/interstitial pneumonia observed in the acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis and those observed during the gefitinib treatment. Population genetics suggest that more than 5.8% of the Japanese individuals have the susceptibility gene with a high penetrance. We plan to collect the DNA samples from the patients and perform the analysis.

## ホモ接合ハプロタイプ法の確立

我々は GeneChip データを用いて遺伝学的解析を行なうためのアルゴリズムであるホモ接合ハプロタイプ法 (Miyazawa et al. *Am J Hum Genet* 80(6): 1090-1102, 2007: PCT 出願 PCT/JP2007/062368: 国内特許出願 特願 2006-214300), およびそのプログラム (<http://homepage.mac.com/hagiwark/FileSharing1.html>) を開発した。以下に、同手法に関して簡単にまとめる。

疾患感受性遺伝子(以後疾患遺伝子と記載)の探索を行う場合、多数の患者が常染色体中に共通に有する共通先祖由来の染色体断片(以後共通先祖由来断片と記載)の探索は、単因子疾患、多因子疾患双方に有望な手法と考えられる。このような断片では患者間でハプロタイプ (haplotype) が保存されており、それを利用して同定できるはずである。しかしながら、ハプロタイプの同定は現在の手法では容易ではなく、全ゲノムレベルで高密度のハプロタイプを得ることは不可能に近い。我々は、ハプロタイプの代替として、ホモ接合ハプロタイプ (homozygosity haplotype: HH) を考案した。ホモ接合ハプロタイプ (HH) はホモ接合型の SNP のみを使用するハプロタイプのサブセットであり、高密度 SNP 型情報より容易に得ることができる。2コピーある相同染色体は同一のホモ接合ハプロタイプ (HH) を取る。それゆえ2本の相同染色体を1本であるかのように取り扱うことができる。その結果として、多数の患者の常染色体同士を直接比較することが可能になる。我々は、単因子疾患の例として常染色体優性遺伝である Marfan 症候群患者を多数有する大家系、多因子疾患の例として 10-25 世代前に存在した共通先祖由来疾患遺伝子が原因となった仮想多因子疾患患者集団の両者を使用して検討を行った。ホモ接合ハプロタイプ (HH) を使用した解析により、両者で疾患遺伝子の存在領域を同定できた。ホモ接合ハプロタイプ (HH) は、単因子疾患、多因子疾患の両者に対し、有望な疾患遺伝子同定法となると考えられる。

埼玉医科大学呼吸器内科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

## びまん性肺疾患の解析計画

ホモ接合ハプロタイプ法を含む各種の疾患遺伝子同定法を使用して、びまん性肺疾患に關与する疾患遺伝子を同定することを目的として、以下の計画を立て、その準備を行っている。対象となるのは、gefitinib による肺障害をはじめとする薬剤による急性肺障害・間質性肺炎 (ILD), および特発性肺線維症の急性増悪である。

## 日本人に見られる急性肺障害・間質性肺炎に関する疫学データと人類遺伝学的考察

Gefitinib (イレッサ) の重要な副作用として急性肺障害・間質性肺炎 (ILD) がある。Gefitinib 投与 3,350 例を対象としたプロスペクティブ調査 (特別調査) によると、gefitinib 投与患者の ILD 頻度は 5.8% であった。意外なことに、この頻度は西欧、アジア諸国 (中国、香港など) では低く、日本の 1/100 程度である (Azuma A and Kudo S. *JMAJ* 50: 1-7, 2007)。一般に、疾患は遺伝因子と環境因子両者が作用して発症する。日本のみで高率に ILD が出現することを、日本と他国との環境因子の違い (喫煙、食事、大気汚染、化学物質など) で説明するのは困難である。遺伝因子 (遺伝子異常や遺伝子多型) の大きな関与を想定する以外、日本人と他国人の ILD 頻度差を説明できない。日本人の人類遺伝学的背景を考えると、ILD を引き起こす遺伝因子が、日本人にのみ高頻度に存在する可能性は十分にある。

原日本人は、約 3 万年前に大陸から移動して成立した。このころ、日本海は地中海であり、大陸から日本列島に移動する、サハリン経由と朝鮮半島経由の 2 つの陸上経路が存在した。この後、氷河期が終わるとともに海面が上昇し、日本列島は大陸から切り離され、日本は遺伝的に孤立した地域となった。少数の人間が移動して定住する際、「瓶の首効果」(ボトルネック効果) という集団遺伝学的作用が働く。これは、少数の人間が遺伝子プールの運び手となるため、移動前の遺伝子プールを万遍なく運搬できず、結果として移動前と移動後の遺伝子プール構成が大きく異なったものとなることを言う。さらに移動後の集団には「偶然の遺伝的浮動」(ランダムジェネティックドリフト) が働く。これは、集団構成員が少数のため、遺伝子プールを世

代間で万遍なく受け継ぐことができず、結果として世代を経て大きく遺伝子プールが変動することを言う。両作用の結果、移動後の集団では遺伝子プールが単純化し、さらに世代を経るたびに移動前との差異が大きくなる。典型的な例は、アメリカ大陸のアジア系先住民（アメリカインディアンなど）に見られる。これら先住民は、3万年前にベーリング海峡を渡ったアジア人が祖先となっているが、おそらくはかなりの数の人間が移動したにもかかわらず、結果として古代アジア人80名分の遺伝子プールしか受け継いでいない。そしてその遺伝子プールは現在のアジア人の遺伝子プールと大きく異なっている（Hey J. PLoS Biology 3: 965-974, 2005）。遺伝子プール変化の1つの現れとして、移動前に頻度の低かった遺伝子が、移動後の集団内で高頻度になることがある。西洋における嚢胞性線維症遺伝子（人口の3%がヘテロ接合で遺伝子を保持）、 $\alpha 1$ アンチトリプシン欠損症責任遺伝子（機能欠失性 $\alpha 1$ アンチトリプシン遺伝子変異：人口の1-2%がヘテロ接合で遺伝子を保持）は、ヨーロッパ内の民族移動と、移動後の民族の遺伝的孤立（他民族との婚姻を行わない）により、集団内頻度を増加させたと考えられる。同様に、原日本人のように（おそらくは）少数の人間が移動して成立し、さらに移動後に遺伝的に孤立集団となった集団では、移動前の集団（アジア大陸の集団）とは遺伝子プールが大きく異なるのが通例である。

GefitinibのILDに関与する遺伝因子は複数あると思われるが、5.8%という高い発症率、日本人にのみ見られること、の2点を満足するためには、主となる遺伝因子は1つと想定するのが妥当である。なぜならば、複数の肺障害関連遺伝子が存在し、それらが全て日本人集団内で頻度を増した、と考えることもできるが、遺伝子が1つの場合と比較して、そのようなことが起こる確率は遥かに低いと考えられるからである。

このような遺伝因子の日本人内での頻度は、遺伝因子が優性形質を有するとして5.8%以上、劣性形質を有する場合は20%以上と計算される。この遺伝因子の相対危険度は高い、すなわち遺伝因子を有する個人ではgefitinibによるILDが起こる可能性があるが、有しない個人では起こらない。なぜならば、それ以外に他国での低いILD頻度を説明できないからである。

## 日本人に見られる他の急性肺障害

国際学会等の情報交換を通じて、特発性肺線維症の急性増悪、特定の抗癌剤（ジェムシタビンなど）による肺障害、筋障害を伴わない皮膚筋炎（amyopathic DM）に見られる急性肺障害なども、海外の頻度は低く、日本人にのみ高率に見られることが明らかとなってきている（Azuma A and Kudo S. JMAJ 50: 1-7, 2007）。これらの障害も、日本人と他国人との頻度差を環境因子で説明するのは困難であり、遺伝因子の関与を想定せざるを得ない。この場合、gefitinibのILDで想定した遺伝因子との異同が問題になる。肺障害に関与する複数の遺伝因子が、たまたま日本人にのみ高頻度で存在する可能性は皆無ではないが、人類遺伝学的にはその説明には無理がある。そのようなことが起こるのは、確率的に難しいからである。最も可能性の高いのは、肺障害に大きく関与し、日本人内での存在頻度が他国と比較して高い遺伝因子が1つ存在し、gefitinibのILD、特発性肺線維症の急性増悪、抗癌剤の肺障害など日本人特有の肺障害に共通に関与している、というものである。

## 全ゲノムSNP解析

近年のGeneChip技術の進歩により、数十万のSNP（単塩基多型）解析が、比較的安価に施行できるようになった。また、相対危険度が高く、集団内での頻度が数%の疾患責任遺伝子同定に適した手法として、全ゲノム関連解析（The Wellcome Trust Case Control Consortium. Nature 447: 661-683, 2007）や、我々が開発したホモ接合ハプロタイプ法が利用可能である。相対危険度が高く、集団内での頻度が数%の前提では、両手法とも100例以下の症例数で疾患遺伝子同定が可能である（全ゲノム関連解析では、100例のcase-control、疾患相対危険度を8、適切なSNP数解析が行われたと仮定し、90%の検出可能性があるとして計算される。ホモ接合ハプロタイプ法では、遺伝的に孤立した集団の解析で数十例程度で検出可能）。本研究では、これらの計算に基づき、全ゲノム関連解析およびホモ接合ハプロタイプ法を用いて、日本人に見られる急性肺障害・間質性肺炎の責任遺伝子の検索を行う。

## 生存シグナル

疫学データより推論できる一つの仮説がある。日本人に多い急性肺障害の原因は、細胞内の生存シグナル伝達系 (EGFR などの分子から PI3 キナーゼ→Akt→BAD などに至る経路) の機能低下を来す遺伝子異常である、というものである。この仮説は以下のような考察により設定された。すなわち、EGFR は、細胞増殖刺激シグナル、細胞生存刺激シグナルの 2 種類のシグナルを伝達する。gefitinib は両シグナルを遮断するため、生存シグナル伝達系の機能低下が基盤にあれば、大量の細胞死を引き起こす可能性がある。別の EGFR 阻害剤である Erlotinib (タルセバ) でも日本人に急性肺障害が認められる。同様の作用を有する 2 種の薬剤が同様の副作用を示すことは、その共通の作用経路に異常がある可能性を考えるべきである。また、生存シグナル伝達系に異常があれば、特発性肺線維症などで潜在的な障害がある細胞が、感染などを契機に大量死することも十分考えられる。

本仮説では、生存シグナル伝達経路の 1 つの分子が、ヘテロ接合で機能欠損している (2 コピーある相同遺伝子のうち 1 コピーが変異、1 コピーが正常) 異常を考えている。この場合、正常コピーがあるために、通常では生存シグナルは正常に機能する。しかし、gefitinib によるシグナル遮断、特発性肺線維症での潜在的細胞障害などがあると、機能欠損が顕在化する。この作業仮説は検証する価値が十分にあると考えている。臨床的観察を理論的に説明できる仮説は何か、との考察より、実際に遺伝子異常の存在が明らかになった研究として、肺癌における EGFR 遺伝子異常の発見、家族性肺線維症の一部におけるテロメラーゼ遺伝子変異の発見などがある。機能からの原因遺伝子の推定は重要な戦略である。

## 本計画の目的

本研究では、一般的方法論として確立された全ゲノムレベルの検索を行うとともに、一つの仮説に絞った個別的検索も行う。この二方面からの検索により、日本人特有の肺障害に関与する遺伝因子を同定することを目的とする。

## 本計画における検体収集と解析計画

100 例以上の検体収集、100 例以上の全ゲノム SNP データ決定、それらのデータを利用した全ゲノム関連解析およびホモ接合ハプロタイプ解析、20 例を対象とした生存シグナル伝達経路分子の全コーディングエクソン検索を行う。これらの結果同定された領域から、肺障害患者に共通して存在する遺伝子変異を同定する。その遺伝子変異が日本人にのみ存在し、米国、および中国で採取されたサンプルには存在しないことを確認する。同定された変異遺伝子がコードする変異タンパク機能を検討し、日本人特有の急性肺障害の原因を探る。

A. 検体収集：本研究では以下の疾患を対象として患者末梢血 DNA を収集する。1. gefitinib による ILD。2. 特発性肺線維症の急性増悪。3. ジェムシタビンによる間質性肺炎。4. amyopathic DM による急速に進行する間質性肺炎。5. 放射線肺臓炎で、放射線照射対側肺に見られる間質性肺炎。患者同意が得られた場合は、患者末梢血リンパ球を EB ウイルスで不死化して保存する。これは、より進んだ研究機器が利用できるようになった場合など、将来の再解析に備えて DNA を不死化細胞から再採取するための処置である。検体収集に関しては、東北大学、日本医科大学、埼玉医科大学、気仙沼市立病院が協力で同意している。今後も協力施設が増える可能性がある。上記 5 疾患を合計して 100 例以上のサンプルを収集する。

B. 全ゲノム SNP 解析：一度に 50 万の SNP 解析が可能な GeneChip (Affymetrix human 500k mapping array set) を使用して SNP データを収集する。埼玉医科大学ゲノム医学研究センターでは日常的に解析しており、本研究もそれを利用する。上記 5 疾患を合計して 100 例以上の解析を目的とする。

C. 全ゲノム関連解析、ホモ接合ハプロタイプ解析：GeneChip 解析データが 50 例を超えた時点から、順次全ゲノム関連解析、ホモ接合ハプロタイプ解析プログラムにより、疾患遺伝子存在領域の同定を行う。疾患と有意な関連のある領域が同定できた場合、当該領域内にある遺伝子に関して順次解析を行う。

D. 生存シグナル解析：本研究ではこの解析が最も先に進行する。20 症例に関し、生存シグナル伝達経路に存在する 10 遺伝子 AKT1, BAD, BCL2, BCL2L1, PIK3CA, PIK3CB, PIK3R1, PIK3R2,



PIK3R3, PDPK1 の全コーディングエクソンのダイレクトシーケンスによる検索を行う。

#### 本計画の意義

本計画により、日本人特異的な急性肺障害患者のサンプルを収集でき、その SNP データを蓄積できる。その結果、本研究自体、または本研究に引き続く研究により、病態解明を行える。また、本研究により、日本

人特異的な急性肺障害患者に、生存シグナル伝達系の異常があるかどうか検討できる。いずれかの戦略により、日本人特異的な急性肺障害の遺伝因子の解明が期待できる。遺伝因子が明らかとなった場合、急性肺障害を引き起こす可能性のある薬剤投与の適否を、遺伝因子保有の有無で判定でき、安全な薬剤投与が実現できる。また、疾患遺伝子の機能より、肺線維症急性増悪の適切な治療が確立できる。本研究の呼吸器病学における意義は大きなものと考えられる。

# 日本に於ける SP-C 遺伝子変異からみた間質性肺炎の 成立機序と臨床像

瀬戸口靖弘 河野 雄太 玉置 若巳

家族性間質性肺炎 (FIP) 20 症例, 非家族性間質性肺炎 (sporadic IP: SIP) 38 症例について画像, 病理所見, 発症年齢, surfactant protein C 遺伝子 (SFTPC) の遺伝子解析, 変異 SFTPC のクローニングと機能解析を行ってきた。変異 SFTPC は FIP で 7 症例, SIP で 4 症例であった。発症年齢では, 20 歳以上の adult-onset, 20 歳未満の infant-onset で分けると FIP では adult-onset が 5 症例, infant-onset が 2 症例, SIP では 4 症例全例 infant-onset で生後 1 カ月以内の発症であった。画像, 病理学的には, FIP は, UIP pattern で SIP は, UIP パターンは存在せず NSIP パターン, DIP パターン, 肺胞蛋白症であった。変異 SFTPC は, FIP では, exon3 の missense mutation で proSP-C C 末側の BRICHOS Domain の変異を示し, II 型肺胞上皮細胞は, アポトーシスを起こすかシャペロン蛋白の発現を誘導し adaptation も起こっていることが認められた。また, SIP では, exon2 の missense mutation を認める症例では, SP-C のコア部分の  $\alpha$  ヘリクス構造改変が生じていることが予測された。Exon3 の missense mutation を認めるものの中で, proSP-C の C 末側の BRICHOS Domain より外側の変異を生じているものは, II 型肺胞上皮内では early endosome での変異 proSP-C の蓄積をまねき, SP-C の recycle の異常が起こっていることが推測された。今回の研究では欧米で報告されている遺伝子変異と異なる変異を発見し, また, その変異の位置により II 型肺胞上皮の機能異常が異なること, また臨床の表現型が異なることを明らかにした。間質性肺炎全体からみると SP-C 遺伝子変異を伴う間質性肺炎は, 少数であるが, II 型肺胞上皮細胞の機能異常も間質性肺炎の成立に関与している点は, 今後の間質性肺炎の成立の機序を考える上で示唆に富む事象と考えられた。また, 細胞内での変異 proSP-C の動態を制御することが治療につながる可能性もあり研究を進展させていきたい。

## Clinico-pathophysiological consequences of mutations in the surfactant protein C gene (SFTPC) in Japanese patients with interstitial pneumonia

Y. Setoguchi, Y. Kono, and F. Tamaoki

*Dept. of Respiratory Medicine, Tokyo Medical University*

Idiopathic interstitial pneumonias (IIPs) are one of a large number of diffuse parenchymal lung diseases without any known cause. Recently, mutations in SFTPC were reported to be identified in patients with familial IP. Based on this knowledge, we analyzed SFTPC in patients with IIPs and evaluated the clinical characteristics of these patients. Methods: We enrolled 18 patients with familial IP, 36 patients with sporadic IP, and 43 healthy volunteers. Sequencing of SFTPC locus was performed in DNA extracted from blood. Results: We identified six heterozygous missense mutations in SFTPC, containing four novel mutations in exon 2 (V39L, V49A, S61G) and exon3 and two well-known mutations in exon 3 (I73T, Y104H). Clinico-pathological evaluation resulted in data shown in Table. Mutations of exon 3 in SFTPC coding a part of BRICHOS domain were associated with UIP in surviving affected both adults and infants. Interestingly, one family with the mutation (Y102G) included three affected males over three different generations, whose onset of disease tended to be younger with generational change, suggesting an additional association of telomere shortening. In contrast, mutations of exon 2 and exon 3 (non-BRICHOS) were identified in affected newborn infants, whose pathological phenotype indicated NSIP or DIP with PAP. In vitro evaluation demonstrated that this mutant targeted abnormally to early endosomal compartment in alveolar type II cell. Conclusion: These data suggest that clinical phenotype of IP could vary by location of mutation in SFTPC.

## はじめに

Surfactant protein C (SP-C) は、肺 surfactant (SP) に含まれる分子量 3.7 kDa の疎水性蛋白である。また、SP-C は、SP-A, SP-B, SP-D と異なり肺胞 II 型上皮細胞でのみ産生され、もう一つの疎水性蛋白 SP-B とともに SP の肺胞腔表面への拡がり、またその安定性に関わっている。SP-C をコードしている SP-C 遺伝子は、約 3,500 bp の大きさで第 8 染色体短腕 (8p23.1) に存在し、6 個の exon と 5 個の intron からなっている。まずアミノ酸 197 個で分子量 22,000 Da の SP-C の前駆体 proSP-C が産生され、細胞内小器官を通過過程で細胞内修飾により N 末端から 23 個、C 末端から 134 個 (59-197) のアミノ酸が切除され、成熟 SP-C (アミノ酸 24-58) が生成される<sup>1,2)</sup>。この SP-C 遺伝子の変異と間質性肺炎の発症の関連性が欧米で報告され、注目を集めている<sup>3,4)</sup>。これらの知見を基に本邦における間質性肺炎の中に SP-C 遺伝子の変異の頻度と臨床的な表現型の特徴についてこれまで東京周辺地域の成人発症家族性間質性肺炎について報告を行ってきた<sup>5,6)</sup>。この研究では、SP-C 遺伝子の変異は遺伝子多型以外に同定されなかったが、exon5 の N186S 遺伝子多型は、孤発性間質性肺炎 (非家族性間質性肺炎) の発症との関連性が示唆された<sup>5-7)</sup>。今回は、日本全国まで及び、また、成人のみならず小児まで拡大して SP-C 遺伝子解析、臨床的特徴について検討をくわえた。

## 方 法

対象は、インフォームドコンセントの得られた家族性間質性肺炎 20 症例、孤発性間質性肺炎 38 症例、コントロールとして健常者 40 名について検討した。間質性肺炎症例については画像診断 (胸部 X 線写真、胸部 CT 写真)、可能なものについては呼吸生理学的検査、TBLB 或いは VATS による病理学的評価を行った。特に SP-C 遺伝子変異を認めた症例について発症時年齢により 20 歳以上で発症したものを成人発症型、15 歳以下で発症したものを小児発症型、16 歳から 20 歳の間に発症したものを青年期発症型として分類を試

東京医科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 研究協力者

みた。SP-C 遺伝子解析については、各症例より得られた末梢血 4~6 ml より抽出された DNA を用い exon1 から exon5 における Direct sequence により塩基配列を決定した。SP-C 遺伝子変異を伴った間質性肺炎の成立機序解析を行うため遺伝子変異のあったものについては、クローニングを行い、発現ベクターへ組み込みを行った、また、proSP-C の 3 次元構造が決定されているため、このデータをもとに変異 proSP-C について構造解析も試みた。

## 結果と考察

## SP-C 遺伝子変異

6 カ所の SP-C 遺伝子変異が同定され、いずれも heterozygous missense mutation であった。2 カ所 (I73T, Y104H) は欧米でも同定されているものであったが、4 カ所 (V39L, V49A, S61G, V102G) は、これまで報告がなく新しい遺伝子変異であった<sup>8)</sup>。Exon2 に 4 カ所で exon3 に 2 カ所の変異であり、欧米では exon2 に比して exon3, exon4, exon5 に変異が多い傾向があり、この違いは人種的なものに由来している可能性が示唆された。

## SP-C 遺伝子変異と臨床像

表 1 に示すように家族性間質性肺炎 20 症例中 5 症例に SP-C 遺伝子変異を認め、全例 exon3 に変異を認めた。また、2 症例が小児発症例で 1 症例は、乳児期の発症であった。画像解析、病理診断では、全例 UIP パターンを呈しており、小児発症の 1 症例は、乳児期の画像では、NSIP パターンを呈しており約 10 年の経過で NSIP パターンから UIP パターンへと変化していることは、現在、fNSIP と UIP の異同が議論されていることを考え合わせると興味深い知見である。Exon3 から exon5 のコードしている領域は、proSP-C の C 末側にあたり、この部分は、BRICHOS ドメインと呼ばれ British and Danish dementia ファミリー蛋白、chromomodulin-1, CA11 などの変性や増殖性疾患

表 1 SP-C 遺伝子変異の同定数と構造変化  
number

Familial IP	5/20 (25%)	(Exon3)
Adult onset	3/5 (60%)	UIP pattern
Infant onset	2/5 (40%)	
Sporadic IP	4/38 (11%)	(Exon2 and exon3)
Infant onset	4/4 (100%)	NSIP or DIP pattern

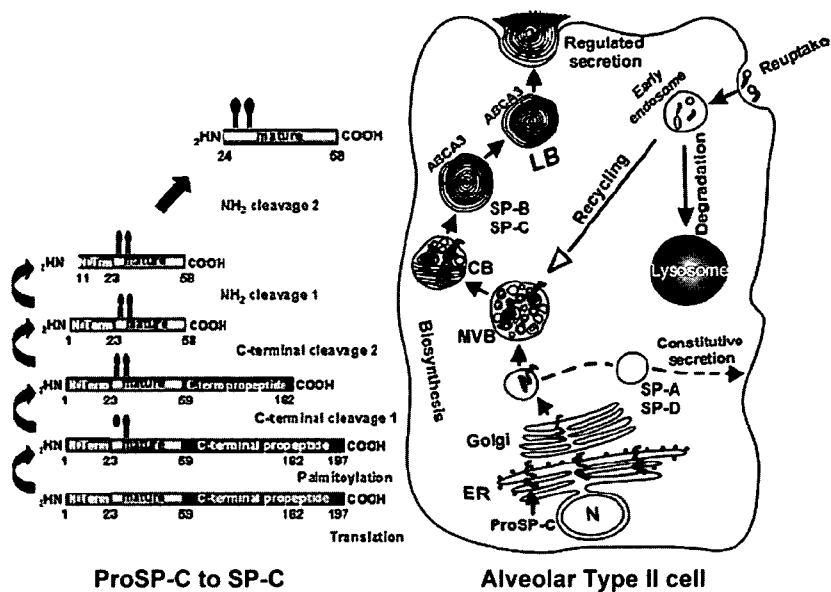


図1 肺胞II型上皮細胞とSP-C生成過程

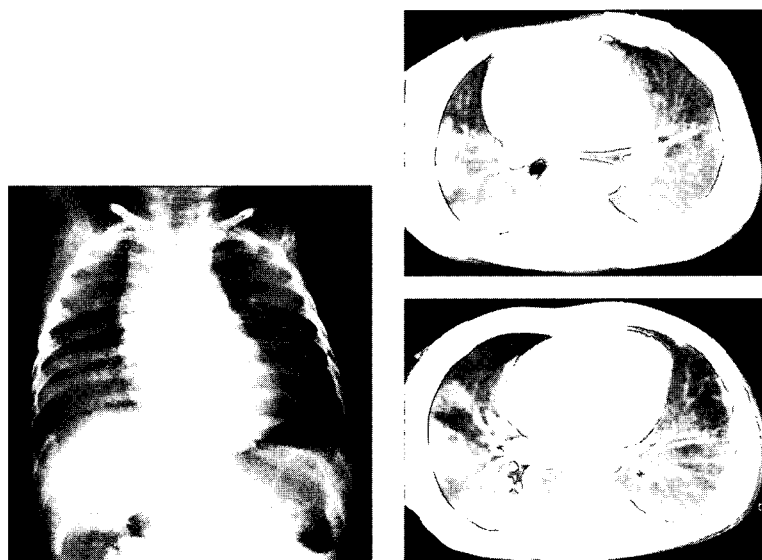


図2 SP-C 遺伝子変異を伴った孤発間質性肺炎 (新生児例)

に関連する蛋白のC末のアミノ酸配列と強い相同性をもつことが明らかになっている<sup>9,10</sup>。この部分は遺伝子変異により蛋白の彎曲構造が失われ細胞内の分子動態の変化をもたらし細胞自体の機能変化やアポトーシスを誘導するといわれている<sup>11</sup>。このことを考え合わせると肺胞II型上皮細胞の機能異常を誘導しているはずであるが本症例については現在解析中である。

孤発性間質性肺炎 38 症例中 4 症例に SP-C 遺伝子変異を同定した。この 4 症例は小児発症特に新生児発

症間質性肺炎であり、病理学的には NSIP, DIP パターンを呈し 2 症例に肺胞蛋白症を認めた。遺伝子変異の部分も 3 症例が exon2, 1 症例が exon3 であるが、先に述べた BRICHOS ドメイン外に位置した。この症例は、肺胞蛋白症を合併しており、その原因を探るべくクローニングした変異 SP-C 遺伝子の A549 細胞への遺伝子導入による検討から SP-C の再吸収後の細胞内輸送の異常をきたしていることが明らかになった。このことから再吸収過程の異常により肺胞腔への surfactant の蓄積ならびに肺胞 II 型上皮細胞の機能異常