

- antigens, KL-6, CA19-9 and SLX as serum markers for interstitial pneumonia. *Respirology* 1998 ; 3 : 199-202.
- 11) Ishii H, Mukae H, Kadota J, Kaida H, Nagata T, Abe K, Matsukura S, Kohno S. High serum concentrations of surfactant protein A in usual interstitial pneumonia compared with non-specific interstitial pneumonia. *Thorax* 2003 ; 58 : 52-57.
- 12) Hirasawa Y, Kohno N, Yokoyama A, Inoue Y, Abe M, Hiwada K. KL-6, a human MUC1 mucin, is chemotactic for human fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997 ; 17 : 501-507.

間質性肺炎における抗 SP-D 自己抗体

高橋 弘毅* 千葉 弘文 林 伸好 大塚 満雄
工藤 和実 村上 聖司 白鳥 正典

肺サーファクタントは肺胞II型細胞で合成され、主成分である脂質と4つの特異的蛋白質より構成される。肺サーファクタントは、間質性肺炎の病態に深く関与することが、近年の研究で明らかになっている。肺サーファクタント蛋白質 (SP)-D は、SP-A と同様にコレクチンに属する蛋白質であり、肺局所での生体防御に重要な役割を担っている。また SP-D 自体も間質性肺炎の病態に関与しているとの報告がある。

一方、SP-A、SP-D は、KL-6 とともに間質性肺炎の血清マーカーとして一般臨床の場で応用されている。临床上、これら3つのマーカーの動向が一致しない乖離現象を経験することがある。3つのマーカー蛋白質は、産生細胞、機能、分子量、クリアランスが異なっており、この乖離現象が示す意味を考察することは、間質性肺炎の病態解明にも重要である。皮膚筋炎の亜型である Amyopathic dermatomyositis (ADM) に間質性肺炎が合併した症例において、SP-A、KL-6 は上昇しているが、SP-D は低値という乖離現象が起きることがわかった。我々は、血清 SP-D が上昇しない原因として、抗 SP-D 自己抗体の存在が測定系に干渉しているためという仮説をたてて検討し、患者血清中に自己抗体を確認した。

ADM とそれ以外の膠原病合併間質性肺炎、特発性肺線維症においても自己抗体の陽性率を検討した。ADM 合併例では12例中6例 (50%) で陽性、強皮症合併例でも10例中5例 (50%) で陽性、一方、肺線維症では46例中4例 (9%) が陽性という結果であった。

さらに自己抗体のエピトープの検討では、自己抗体は SP-D の肺コレクチンとしての機能を発現するのに重要な領域である糖鎖認識領域に結合することがわかった。自己抗体が SP-D と結合し、その機能を阻害する可能性があり、間質性肺炎の病態への関与が示唆された。

Autoantibodies to surfactant protein D in interstitial pneumonia

Hiroki Takahashi, Hirofumi Chiba, Mitsuo Otsuka, Nobuyoshi Hayashi,
Kazumi Kudoh, Seiji Murakami, and Masanori Shiratori

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

Pulmonary surfactant is synthesized by alveolar type II cells and composed of mainly lipids and four specific proteins. It is becoming clear that pulmonary surfactant is related to the pathogenesis of interstitial pneumonia. Surfactant protein (SP)-D is a member of a family of collagenous carbohydrate binding proteins (C-type lectins), termed the collectins. SP-D plays an important role innate immunity against various pulmonary pathogens, and also related to the pathogenesis of interstitial pneumonia by itself.

Serum levels of SP-A, SP-D and KL-6 are utilized as biomarker of interstitial lung disease at clinical field. The dissociation of these biomarkers is often experienced.

We found that serum levels of surfactant protein (SP)-A and KL-6 were high but SP-D was markedly low in patients with amyopathic dermatomyositis (ADM). For the explanation of this curious dissociation, we hypothesized that the existence of autoantibodies to SP-D disturbed the measurement of SP-D by sandwich ELISA system. We demonstrated that autoantibodies to SP-D existed in sera by ligand blot analysis and ELISA. The presence of anti SP-D antibodies in serum samples from patients with collagen diseases, idiopathic pulmonary fibrosis and normal controls were assessed by ELISA. In total, patients with ADM and SSC, anti SP-D autoantibody levels were significantly higher than those in normal controls.

Furthermore, in the examination about the epitope of the autoantibody, it was demonstrated that the autoantibodies bound to carbohydrate recognition domain (CRD) that is important to possess collectin property. It is possible that autoantibodies to SP-D are related to progression of interstitial pneumonia through the obstruction of the function of SP-D.

はじめに

皮膚筋炎は骨格筋の広範囲な非化膿性炎症と特徴的な皮疹をみる膠原病のひとつである。本疾患において間質性肺炎は予後を規定する重要な合併症である¹⁾。特に筋症状を認めない ADM に合併する間質性肺炎は急速に進行し、治療抵抗性で極めて予後不良とされている^{2,3)}。

SP-D は、肺胞 II 型上皮細胞で主に産生され、肺局所での生体防御、炎症反応の調節に重要な役割を持つ C 型レクチン (コレクチン) に属する蛋白質である。欠損マウスを用いた検討では、bleomycin 投与による肺傷害から個体を保護する方向に機能することが報告されており、間質性肺炎の病態においても重要な役割を担っていると考えられる。一方、SP-D は、間質性肺疾患の血清マーカーとしても他の SP-A, KL-6 同様に広く臨床の場で利用されている^{4,5)}。

KL-6, SP-A および SP-D の血清値は疾患活動性やその予後を反映する。しかしこれら 3 つのマーカー間の間質性肺炎における相関は決して強いわけではなく、しばしばマーカー値の乖離に遭遇する。この乖離現象を検討することは、その反映している病態を理解する上で重要である。ADM 症例においても SP-A, KL-6 が高値であり SP-D は正常値となる乖離現象が認められることがある。この乖離は ADM 患者に抗 SP-D 自己抗体が産生され、同自己抗体が血清 SP-D 測定に用いられる測定系 (ELISA) に干渉するためであることがわかった。今回の検討では、ADM 以外の膠原病合併間質性肺炎および肺線維症についても抗 SP-D 自己抗体の陽性率を検討した。さらに検出された自己抗体のエピトープを決定するために SP-D の carbohydrate recognition domain のみを発現させた deletion mutant を用いて自己抗体との結合実験を ELISA 法にて検討した。

研究方法

患者と血清；血清検体は、ADM 合併間質性肺炎の中の 9 例以外は、自験症例の保存血清を用いた。皮膚筋炎合併例 25 例 (12 例の ADM 症例を含む)、関節リ

ウマチ合併例 8 例、強皮症合併例 10 例、シェーグレン症候群合併例 5 例、特発性肺線維症 46 例、健常者 100 例の血清を用いた。ADM は、Euwer's criteria に基づいて診断した。

Ligand blot 法；1 マイクログラムのリコンビナント SP-D を電気泳動後、ニトロセルロース膜に転写し、3% スキムミルク/リン酸緩衝液でブロッキング (室温, 90 分)。ニトロセルロース膜と 25 倍希釈の血清を反応 (室温, 120 分)。3% スキムミルク/リン酸緩衝液でニトロセルロース膜を洗浄。5,000 倍希釈 HRP-抗ヒト IgG 抗体と反応 (室温, 90 分)。3% スキムミルク/リン酸緩衝液でニトロセルロース膜を洗浄。ECL plus western blotting detection system (Amersham Biosciences) を用いて発色した。

ELISA 法；ELISA プレート 1 ウェルにつき 500 ナノグラムのリコンビナント SP-D をリン酸緩衝液で希釈し固相化。3% スキムミルク/リン酸緩衝液でブロッキング (90 分)。血清を各々の濃度に希釈しウェルに加える (37°C, 120 分)。3% スキムミルク/リン酸緩衝液でウェルを洗浄。5,000 倍希釈 HRP-抗ヒト IgG 抗体もしくは 1,500 倍希釈 HRP-抗ヒト IgM 抗体と反応 (37°C, 90 分)。3% スキムミルク/リン酸緩衝液でウェルを洗浄。OPD により発色した。

統計解析；各疾患群間の抗体価についての多群間解析には Dunnet's test を用いた。

研究成果

Ligand blot 法 (Figure 1) による検出では、ADM 合併症例において SP-D の分子量に相当する 43 kDa 付近にバンドを認め、結合する自己抗体の存在が確認された。一方、健常者の血清中には SP-D に結合する自己抗体を認めなかった。ELISA プレートに固相化された SP-D に対する結合実験でも ADM 合併症例において同様に血清の濃度に依存した抗 SP-D 自己抗体 (IgG, IgM) (Figure 2) の結合が認められた。

膠原病合併間質性肺炎および特発性肺線維症における抗 SP-D 自己抗体の陽性率については、カットオフ値を健常者血清 100 例における抗体価の平均値 + 2SD と定めて検討した。皮膚筋炎合併 25 例は、12 例の ADM 症例と 13 例の Classic DM に分けて検討し、各々の陽性率は 50%, 15% で ADM 症例で高い結果であった。強皮症合併 10 例では、陽性率 50% と ADM 症

札幌医科大学第三内科

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

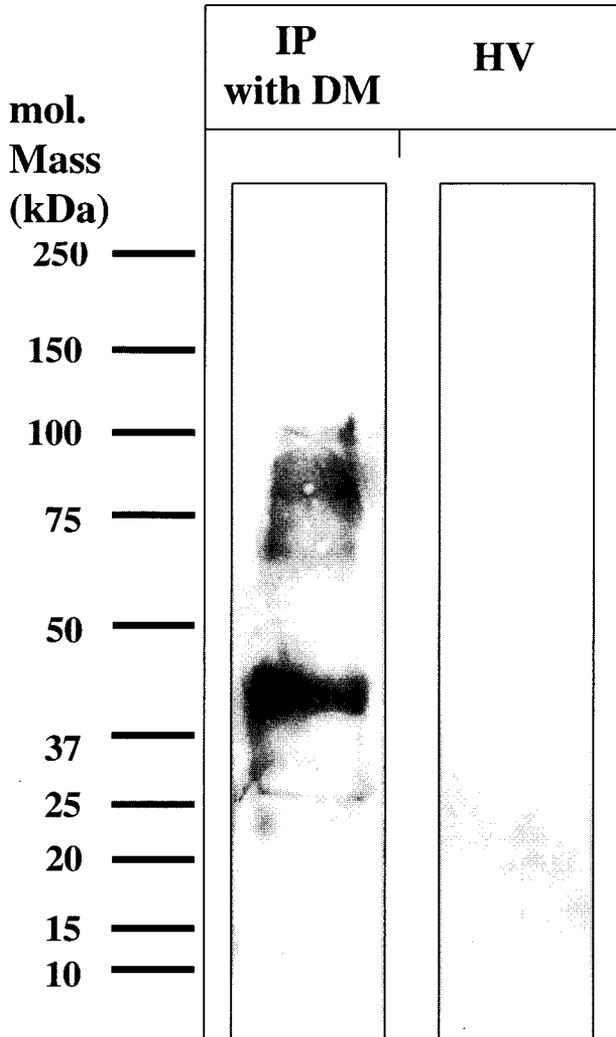


Figure 1 抗 SP-D 自己抗体の検出 (ligand blot 法)

例と同様に高率であった。関節リウマチ合併 8 例およびシェーグレン症候群合併例 5 例では陽性例は存在せず (0%)、特発性肺線維症 46 例では、4 例が陽性 (9%) であった (Figure 3,4)。健常者 100 例と抗体価について多群間比較検定を行ったところ ADM 合併例

と強皮症合併例で有意に高値であった。

抗 SP-D 自己抗体の陽性率が高かった ADM および強皮症症例について陽性例の発症時血清マーカー値 (SP-D, KL-6) を調べた。ADM 症例では陽性者 6 例中 5 例が KL-6 高値, SP-D 低値と乖離していたが、それに反して強皮症陽性例では 5 例中 1 例のみが乖離していた (Figure 5)。

SP-D はコレクチンに特徴的な 4 つのドメインから構成された蛋白である。C 末端には、病原微生物や Toll 様受容体との結合部位であり、SP-D の機能発現に必要な carbohydrate recognition domain (CRD) が存在する。CRD のみを発現した deletion mutant を用いて、ADM 合併例において、自己抗体のエピトープの同定を試みた。ELISA 法で CRD のみの mutant でも結合性が保持されており、自己抗体は CRD を介して結合することが示唆された (Figure 6)。

考 察

本研究で、ADM および強皮症合併の間質性肺炎症例に抗 SP-D 自己抗体の存在が確認された。その抗原蛋白 SP-D は、主に肺胞 II 型細胞で合成され、肺胞腔に分泌されるアポ蛋白質である。その生体内での機能としては気道-肺胞系における生体防御機構 (innate defense) に重要である⁵⁾。最近の報告では免疫担当細胞上の Toll 様受容体や CD14 等との結合を介して、肺局所での炎症反応を調節していることが知られている⁵⁻⁷⁾。さらに、SP-D 欠損マウスによる検討では、生後 3 週間目以降より肺胞に形態的变化を認め、このマクロファージでは過酸化水素やマトリクスメタプロテアーゼの産生が亢進していると報告されており、SP-D の欠損ではマクロファージを中心として生じる

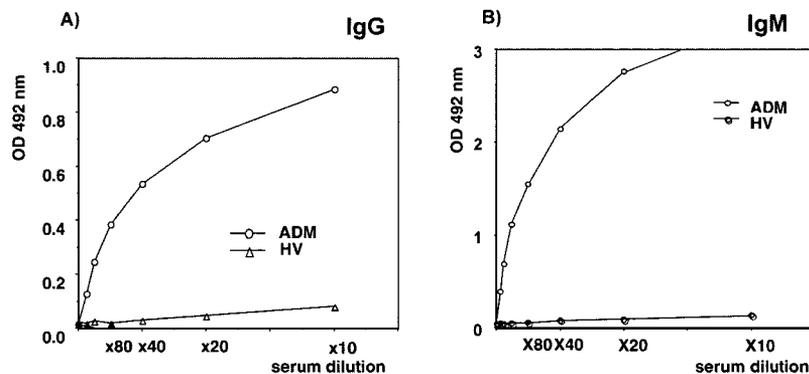


Figure 2 固相化 SP-D と自己抗体の結合 (A) IgG 抗体の結合 (B) IgM 抗体の結合

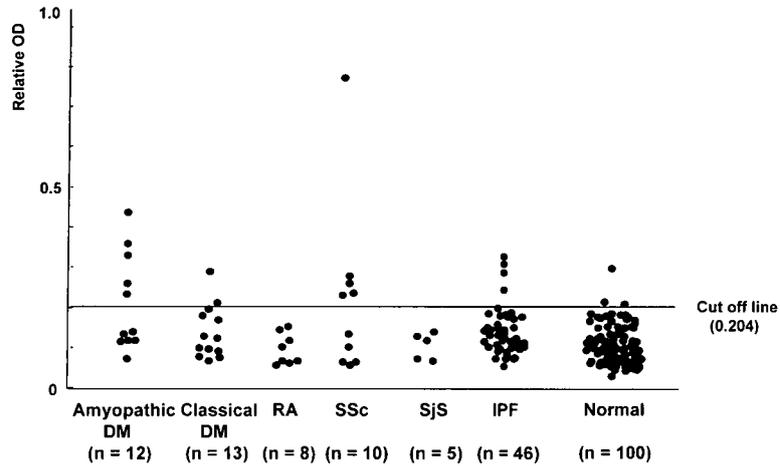


Figure 3 各疾患における抗 SP-D 自己抗体の抗体価

	抗体価 (平均値)	陽性率	Dunnett's test
Amyopathic DM	27.2	6/12 (50%)	p < 0.01
Classic DM	13.9	2/13 (15%)	N/S
RA	9.6	0/8 (0%)	N/S
SSc	22.01	5/10 (50%)	p < 0.01
Sjs	10.54	0/5 (0%)	N/S
IPF	13.9	4/46 (9%)	N/S
Normal	10.9	3/100 (3%)	

Figure 4 各疾患における抗 SP-D 自己抗体陽性頻度

	KL-6 (U/ml)	SP-D (ng/ml)
ADM1*	961	<17.2
ADM2*	639	<17.2
ADM3*	1820	70.5
ADM4*	612	<17.2
ADM5*	1275	<17.2
ADM6	2351	155
SSc1	2361	299
SSc2	702	219
SSc3	5295	358
SSc4	1891	154

Figure 5 抗 SP-D 自己抗体陽性症例の血清マーカー値

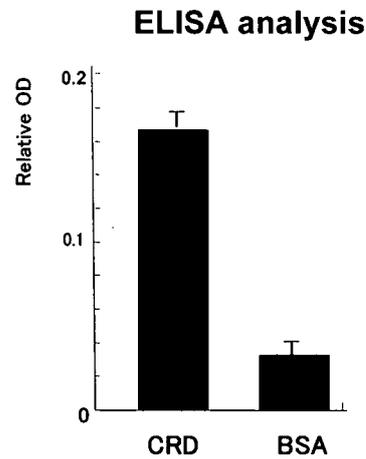
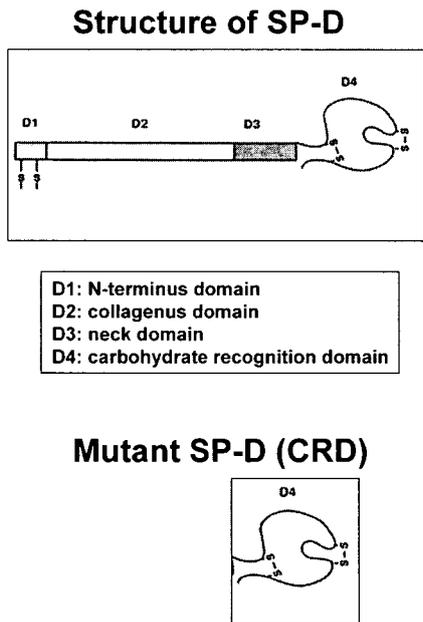


Figure 6 抗 SP-D 自己抗体のエピトープの検討. SP-D と deletion mutant (CRD) の構造を左に示す.

オキシダントやプロテアーゼの産生亢進が肺の形態学的変化に関与している⁸⁾。また欠損マウスにブレオマイシンを投与して惹起させた肺病変は野生種と比較して肺の線維化が増強し、死亡率が上昇すると報告されている⁹⁾。すなわちこれら SP-D に対する知見は、間質性肺疾患の特異的マーカーとしての有用性だけでなく、SP-D の機能そのものが間質性肺疾患の病態に強く関与していることを示唆している。

今回の deletion mutant を用いた検討の結果、CRD にこの自己抗体のエピトープが存在することがわかった。CRD は CD14, Toll 様受容体との結合部位でもあり、SP-D の機能発現に重要な領域である^{6,7)}。抗 SP-D 自己抗体は、この CRD に結合し SP-D の機能を阻害することによって肺病変の進行を促進している可能性がある。

Suda らは、この ADM 症例を間質性肺炎の発症経過によって急性・亜急性型と慢性型に分けて検討し、急性・亜急性型で肺病変は治療抵抗性であり、死亡率が高いと報告している²⁾。今回はデータを示さなかったが、予後の悪い急性・亜急性型で血清マーカーの乖離が見られ、抗 SP-D 自己抗体の抗体価が上昇していた。この現象も自己抗体が肺病変の進行を促進している可能性を示唆している。

本研究で、ADM 以外に強皮症合併例でも自己抗体が検出された。しかしながら、ADM 合併例のような血清マーカーの乖離が見られなかった。この違いについては、さらに検討が必要であるが、可能性としては、強皮症における自己抗体のエピトープは、ADM のそれとは違い測定系に干渉しないのかも知れない。

現在、国内では、間質性肺疾患の特異的血清マーカーとして SP-A, SP-D, KL-6 の測定が広く普及している。各々のマーカーが間質性肺疾患の早期診断、疾患活動性の評価および予後の評価に有用であるが、これら 3 つのマーカーの値には必ずしも強い相関は認められない¹⁰⁾。これは分子量、産生細胞、機能等が分子間で違い、病態によってお互い異なった動向をとることを意味している。この動向に目を向け、今回のように、特にマーカー間に乖離が見られた場合に、その乖離がおきる機構を考察することによって、間質性肺疾患の病態を知る手がかりとなる。保険医療上の問題もあり 3 つのマーカーを一般臨床の場で計測することは、現時点では困難であるが、今後も多くの知見を集積していく必要がある。

研究協力施設

東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野
福島県立医科大学医学部呼吸器科
浜松医科大学第二内科
長崎大学医学部第二内科

参考文献

- 1) 縄田泰史. 膠原病の心肺病変と対応. 皮膚筋炎と間質性肺炎. 日内会誌. 1996; 85: 1850-54.
- 2) Suda T, Fujisawa T, Enomoto N et al. Interstitial lung diseases associated with amyopathic dermatomyositis. *Eur Respir J.* 2006 Nov; 28(5): 1005-12.
- 3) Sakamoto N, Mukae H, Fujii T et al. Nonspecific interstitial pneumonia with poor prognosis associated with amyopathic dermatomyositis. *Intern Med.* 2004 Sep; 43(9): 838-42.
- 4) Al-Salmi QA, Walter JN, Colasurbo GN et al. Serum KL-6 and surfactant proteins A and D in pediatric interstitial lung disease. *Chest.* 2005 Jan; 127(1): 403-7.
- 5) Takahashi H et al. Pulmonary surfactant proteins A and D: innate immune functions and biomarkers for lung diseases. *Curr Pharm Des.* 2006; 12(5): 589-598, 2006.
- 6) Ohya M, Nishitani C, Sano H et al. Human pulmonary surfactant protein D binds the extracellular domains of Toll-like receptors 2 and 4 through the carbohydrate recognition domain by a mechanism different from its binding to phosphatidylinositol and lipopolysaccharide. *Biochemistry.* 2006 Jul 18; 45(28): 8657-64.
- 7) Sano H, Chiba H, Iwaki D et al. Surfactant proteins A and D bind CD14 by different mechanisms. *J Biol Chem.* 2000 Jul 21; 275(29): 22442-51.
- 8) Wert SE, Yoshida M, LeVine AM et al. Increased metalloproteinase activity, oxidant production, and emphysema in surfactant protein D gene-inactivated mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 May 23; 97(11): 5972-7.

- 9) Casey J, Kaplan J, Atochina-Vasserman EN et al. Alveolar surfactant protein D content modulates bleomycin-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005 Oct 1; 172(7): 869-77.
- 10) 高橋弘毅, 白鳥正典, 千葉弘文. 間質性肺炎の血清マーカーKL-6の最新知見 SP-A,SP-Dとの乖離を中心に 病態からとらえた血清マーカー乖離の解釈. *分子呼吸器病.* 2006; 10(2): 111-6.

【平成 17 年度】

特発性間質性肺炎における抗血管内皮細胞抗体の検討

千田 金吾* 松井 隆 須田 隆文 乾 直輝

抗血管内皮細胞抗体 (AECA) は, SLE などの膠原病や血管炎を来す疾患で検出され, 膠原病においては間質性肺炎の合併と関連があることが示唆されている。しかしその病因的意義については明らかではない。特発性間質性肺炎 (IIP) 症例と膠原病性間質性肺炎 (CVD-IP) 症例で AECA を測定し, 基礎疾患, 病理組織所見, 疾患活動性および既存検査値との関連を検討した。外科的生検にて病理診断が確定した IIP 12 例 (UIP 6 例/NSIP 6 例) と CVD-IP 12 例を対象とし, 肺病変を伴わない SLE 症例を陽性コントロールとした。AECA 値はヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞を用いて cellular ELISA 法にて測定した。結果は Rosenbaum の方法を用いて ELISA ratio (ER) として算出し, 健常人の mean+3.SD. 以上を陽性とした。結果は, IPF/UIP は全例が陰性だったが, IIP-NSIP は 6 例中 4 例 (67%) で, CVD-IP 症例は 12 例中 7 例 (58%) が陽性だった。AECA からみると, IIP-NSIP は IPF/UIP と異なり, CVD-IP との類似性が示唆された。

Anti-endothelial cell antibodies in patients with idiopathic interstitial pneumonia

Kingo Chida, Takashi Matsui, Takafumi Suda, and Naoki Inui

Second Division, Department of Internal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

Anti-endothelial cell antibodies (AECA) are frequently detected in collagen vascular disease (CVD) and systemic vasculitis. It is also reported that the presence of AECA was correlated with pulmonary fibrosis in patients with CVD. Their pathogenic role, however, remains unclear. We investigated the prevalence of AECA in the sera of patients with interstitial pneumonia including usual interstitial pneumonia (UIP) and nonspecific interstitial pneumonia (NSIP), and also studied the relation between the existence of AECA and the clinical and serological features. Twelve patients with idiopathic interstitial pneumonia (6 with IPF/UIP and 6 with idiopathic NSIP), and 12 patients with interstitial pneumonia associated with CVD (CVD-IP) were studied. The histological classification was performed based on the pathologic findings obtained by surgical lung biopsy. Serum samples collected from the patients and healthy subjects were examined for AECA by cellular enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using human umbilical vein endothelial cells. The results were expressed as an ELISA ratio (ER). Sample was judged positive when the ER is greater than the mean+3S.D. of the healthy control group. AECA were negative in sera of all 6 patients with IPF/UIP, whereas 4 of 6 patients (67%) with idiopathic NSIP as well as 7 of 12 patients (58%) with CVD-IP were found to be positive. Further, there was no significant correlation of the values of AECA with clinical or serologic findings in patients with IIP or CVD-IP.

In terms of the prevalence of AECA our data suggest that the pathogenesis of idiopathic NSIP is similar or comparable to that of CVD-IP.

初めに

抗血管内皮細胞抗体 (Antiendothelial cell antibodies; AECA) は SLE などの膠原病や血管炎を来す疾患において検出され、疾患活動性や臓器病変に関連している可能性が示唆されている。しかし、対応する抗原は明らかでなく、AECA の病態に与える意義についても不明な点は多い¹⁾。

AECA は膠原病において、間質性肺炎の発症に関連することが報告された^{2,3)}。一方、特発性間質性肺炎における AECA の検討をした報告はまだない。そこで今回、特発性間質性肺炎における、AECA の意義についての検討を行った。

対象と方法

浜松医科大学附属病院で、外科的肺生検により診断の確定した 12 名の特発性間質性肺炎患者 (IIP; IPF/UIP 6, NSIP 6) と膠原病関連間質性肺炎患者 (CVD-IP) 12 名を対象とした。対象患者の、診断確定時かつ治療前の血清を用い AECA を測定し、その結果と基礎疾患、病理組織型、既知のマーカー、間質性肺炎の活動性や呼吸機能、治療反応性や予後との関連について検討した。

AECA は Rosenbaum らにより報告された cellular ELISA 法⁴⁾ に若干の改変を加え測定した。以下にその詳細を示す。ヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞 (HUVEC, Veritas 社) の第 4 継代を用いて行った。各継代で実験を行い、継代間で結果の違いがないことを確認した。96 穴プレート (Nunc No. 167008) の各ウェルに 20,000 個ずつ細胞を播種し、2 日後にコンフルエントとなった状態で使用した。まず初めに、培養液を除き、0.5% glutaraldehyde で細胞を固定した後、phosphate-buffered saline (PBS) で洗浄する。そして、非特異的結合を防ぐため 10% bovine serum albumin (BSA)/PBS で 60 分間ウェル内面をブロックする。ブロック終了後、1% BSA/PBS で 1,000 倍に希釈した被検血清を、各ウェルに 100 μ l ずつ添加し、60 分間、37°C におく。1% BSA/PBS で洗浄した後、HRP ウサギ抗ヒト F(ab')₂ を 800 倍希釈し 100 μ l ずつ加える。60

分間、37°C でおいた後、1% BSA/PBS で 5 回洗浄し、風乾で十分に乾燥させる。発色反応として TMB を各 well に 100 μ l ずつ加え 10 分間反応させた後、H₂SO₄ を反応停止液として 100 μ l ずつ加え、反応を停止させる。その後、ELISA reader を用いて 450 nm の波長で吸光度を計測する。各検体は triplicate で行い、平均値をその検体の吸光度とした。各測定結果は ELISA ratio (ER) で表した。

$$ER = \frac{S - B}{A - B}$$

S : 被検血清の吸光度

A : 陽性コントロールの吸光度

B : 陰性コントロールの吸光度

cut off 値は健常人コントロールの平均 + 3S.D. とし、それ以上を陽性と判定した。

統計学的検討はノンパラメトリック検定または χ 検定で行い、有意水準は 0.05 以下とした。

結果

対象症例の背景を示す (Table 1)。IPF/UIP は全例

Table 1. 対象症例の背景因子

疾患	IIPs		CVD-IP
	IPF/UIP	NSIP	
症例数	6	6	12
性別 (男性/女性)	6/0	4/2	6/6
検査所見			
LDH (IU/l)	206 \pm 28	238 \pm 46	301 \pm 182
KL-6 (U/ml)	612 \pm 376	1670 \pm 1266	1066 \pm 1215
PaO ₂ (Torr)	77.4 \pm 7.3	79.8 \pm 10.2	76.2 \pm 13.0
%VC (%)	79.4 \pm 30.3	71.2 \pm 2.9	78.2 \pm 22.9
BAL-Ly (%)	2.0 \pm 1.0	6.4 \pm 1.7	8.8 \pm 6.4
レイノー症状あり	0	1	4
肺高血圧症の合併	0	0	0

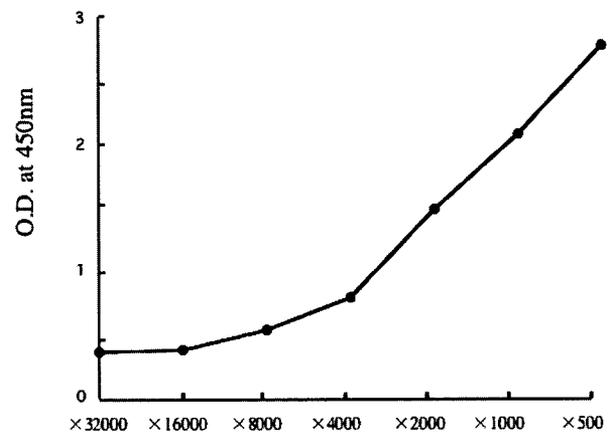


Figure 1. 陽性コントロールから作成した検量線

浜松医科大学第二内科

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

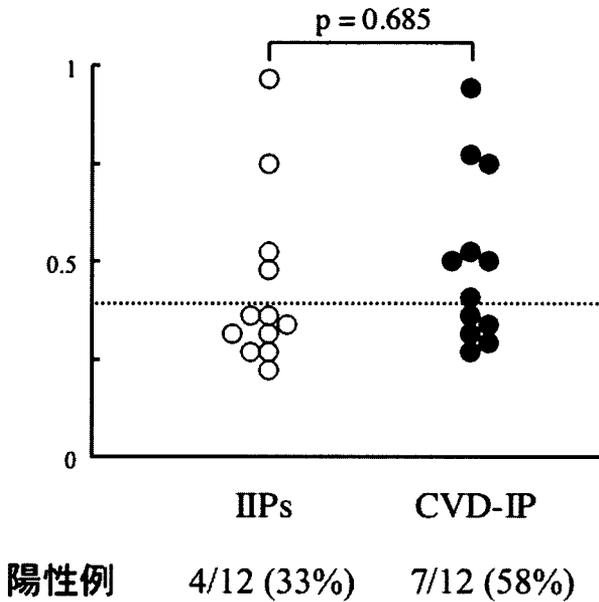


Figure 2. IIPs と CVD-IP の AECA 値 (ER)

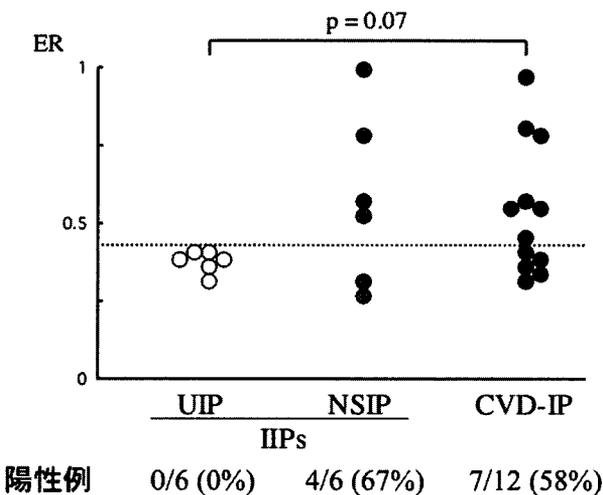


Figure 3. UIP, IIP-NSIP と CVD-IP の AECA 値 (ER)

が男性だった。各検査所見は 3 群間で有意な差はみられなかった。CVD-IP の基礎疾患は、PM/DM, RA, SSc, SLE が各 3 例だった。

陽性コントロールとした、間質性肺炎のない SLE 症例での結果を示す (Fig. 1)。検量線から、血清の濃度に依存性した吸光度が得られていることが確認され、この結果に基づき今回の検討は 1,000 倍希釈の血清で行った。

IIP と CVD-IP の AECA 値 (ER) の結果を示す (Fig. 2)。ER は IIP (0.427 ± 0.101) と CVD-IP (0.427 ± 0.101) の両群で有意な差はみられなかった ($p=0.685$)。また、cut off 値を用いて比較すると、

AECA は IIP では 12 例中 4 例 (33%) で、CVD-IP は 12 例中 7 例 (58%) で陽性だった。

IIP を組織型で分け検討すると (Fig. 3), IPF/UIP は AECA が全例で陰性だったのに対して、NSIP は 4 例 (67%) が陽性だった。IPF/UIP は CVD-IP と比べ ER が低値の傾向 ($p=0.07$) にあり、一方 NSIP は CVD-IP と同様の傾向を示した。

さらに、IIP と CVD-IP をそれぞれ組織型で比較すると、IIP は UIP と NSIP で陽性率に差があったのに対して、CVD-IP においては、UIP, NSIP とともに 50% の陽性率であり、組織型による違いはなかった (Fig. 4)。

CVD-IP の基礎疾患ごとの AECA の陽性例は PM/DM, RA, SSc, SLE がそれぞれ 2, 1, 1, 3 例で、各疾患とも従来の報告とほぼ同様の陽性率あった。

AECA と既存の間質性肺炎のマーカーとの関連では、IIP および CVD-IP の全症例でみると、KL-6, %VC, PaO₂, BAL-lym はいずれも AECA と間に有意な相関はなく (Fig. 5), IIP のみでも、やはり有意な相関はなかった (Fig. 6)。

また、AECA と予後や治療反応性についても有意な関連はなかった。

考 察

AECA は SLE などの膠原病や血管炎を来す疾患で検出され、臓器病変や活動性によって検出率が変化することが報告されている。各疾患における陽性率は SLE で 15-85%, SSc で 28-85%, PM/DM で 44-60% とされるが、報告により差がみられる⁹⁾。

AECA の作用として、血管内皮細胞に存在する抗原に結合することにより、内皮細胞からの IL-6 や IL-8 などの種々のサイトカインの放出や、接着因子の発現、白血球の浸潤を促進するなどが考えられる。また内皮細胞の apoptosis を誘導し、内皮障害を生ずることが知られており、これらの作用が血管炎や血管障害を起こすことが推察されている。しかし、対応する抗原は明らかとなっておらず、その病因的意義については不明な点も多い^{1,5)}。

D'Cruz らは皮膚筋炎や多発筋炎を含む特発性筋炎症例において、間質性合併例は、非合併例に比べ、AECA の陽性率が有意に高いことを示し、AECA がこれらの疾患において、間質性肺炎合併の指標になり

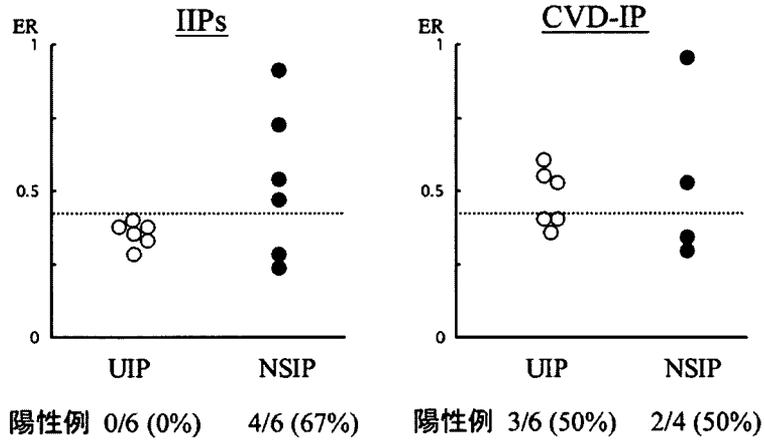


Figure 4. 組織所見による AECA の比較

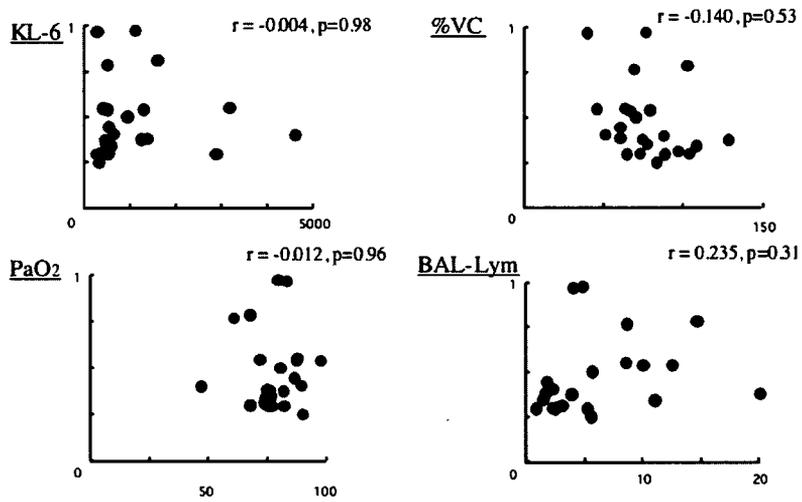


Figure 5. AECA と既存マーカーとの関連 (全症例)

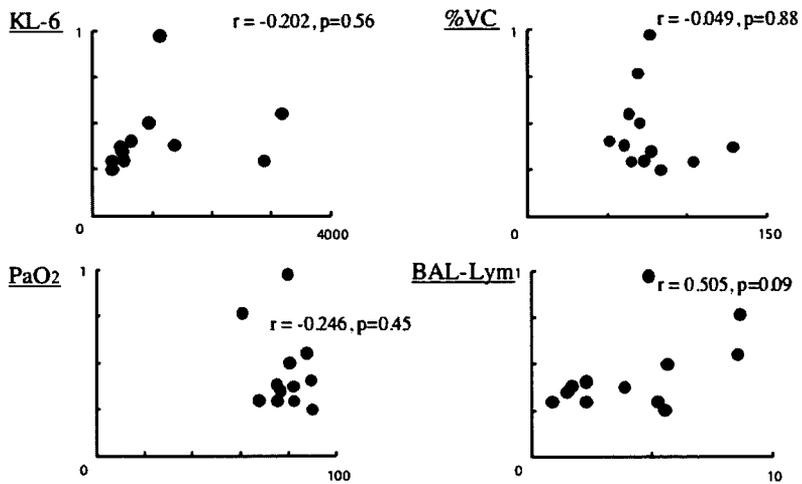


Figure 6. AECA と既存マーカーとの関連 (IIP 症例)

うることを報告した²⁾。また、Ihnらは全身性硬化症の症例で、同様に間質性肺炎合併例では有意に AECA 陽性例が多いことを報告した³⁾。以上から膠原病においては、AECA が間質性肺炎の発症に関連があることが推察されている。しかし、これらの報告においては、AECA が間質性肺炎発症に及ぼす機序については明らかにされていない。

我々の検討からは、IIP-NSIP 症例の6例中4例で AECA 陽性例が見いだされた。IPF/UIP は全例が陰性であり、両者の病態の違いが推察され、IIP-NSIP はむしろ CVD-IP と類似した病態である可能性が示唆された。間質性肺炎における病変の主座は胞隔であり、AECA が血管障害を来しようとした場合、それが間質性肺炎の発症にどのように関わるのか明らかではない。今回は組織学的に血管炎のない症例を対象としているが、間質性肺炎における AECA の意義については、陽性例と陰性例での組織学的あるいは臨床像の詳細な比較検討が必要であると思われる。また、IIP には肺病変先行型膠原病が含まれている可能性があり、IIP の AECA 陽性例については、その長期的な経過を含めた検討により、CVD-IP との異同が明らかになるとと思われる。

一方、IIP と診断された後、無治療での経過観察中や治療終了後に膠原病が明らかになり、肺病変先行型膠原病と診断される症例を時に経験する。診断時に明らかな膠原病を示唆する所見がない場合は、IIP と肺病変先行型膠原病の鑑別は不可能であり、今回示された AECA が IIP-NSIP に特異的なものであるのか、あるいは肺病変先行型膠原病を示唆するものであるのかなどは、長期にわたる経過観察を加えた検討が必要であろう。

AECA は既存の間質性肺炎の指標との相関はみられず、また治療反応性や予後との明らかな関連も認めなかった。しかし、今回の症例は治療例が少なく、十分な検討ができなかった。さらに症例を積み重ね、治療経過や再燃時の AECA の推移を調べることにより、既存の指標とは異なる間質性肺炎の指標となる可能性もあるのではないかと考えている。

以上より、今後さらに症例を積み重ね、AECA の IIP における意義について検討していく必要があると考えられた。

まとめ

(1) IPF/UIP は全例で AECA が陰性だったが、IIPs-NSIP では4例 (66%)、CVD-IP は7例 (58%) で陽性だった。

(2) 組織型では、IIPs は NSIP のみで AECA の陽性例があったのに対して、CVD-IP は UIP, NSIP に陽性例の差はなかった。

(3) 既知のマーカーや呼吸機能検査と AECA に相関は見られなかった。

(4) 治療反応性や予後とも明らかな関連はなかった。

結語

AECA の検討からは、IIPs において UIP/IPF と NSIP は病態が異なる可能性があり、また IIP-NSIP と CVD-IP の類似性が示された。

参考文献

- 1) Meroni P, Ronda N, Raschi E, Borghi M. Humoral autoimmunity against endothelium: theory or reality? *Trends in immunology* 2005; 26: 257-281.
- 2) D'Cruz D, Keser G, Khamashta MA, Direskeneli H, Targoff IN, Miller F, Hughes GRV. Antiendothelial cell antibodies in inflammatory myopathies: distribution among clinical and serologic groups and association with interstitial lung disease. *J Rheumatol* 2000; 27: 161-164.
- 3) Ihn H, Sato S, Fujimoto M, Igarashi A, Yazawa N, Kubo M, Kikuchi K, Takehara K, Tamaki K. Characterization of autoantibodies to endothelial cells in systemic sclerosis (SSc): association with pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 203-209.
- 4) Rosenbaum J, Pottinger BE, Woo P. Measurement and characterization of circulating anti-endothelial cell IgG in connective tissue diseases. *Clin Exp Immunol* 1988; 72: 450-45.
- 5) Youinou P. New target antigens for antiendothelial cell antibodies. *Immunobiology* 2005; 210: 789-79.

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¹ 斎藤 芳郎² 棟方 充^{1*}

特発性肺線維症 (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- β 刺激によりこれらの細胞において SEPP と α -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 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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 Tanino¹, Yoshiro Saito², and Mitsuru Munakata¹

¹Department of Pulmonary Medicine, Fukushima Medical University

²Human 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 α SMA are expressed in both normal lung fibroblasts (TIG-7) and A549 cells after TGF- β 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) はセレン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¹⁾。SEP の 1 つである Selenoprotein P (SEPP) は特有の構造を持ち、多数のセレン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- β 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²⁾。

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 はセレン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³⁾。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²⁾。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 ₂ (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

¹ 福島県立医科大学医学部呼吸器内科学講座

² 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

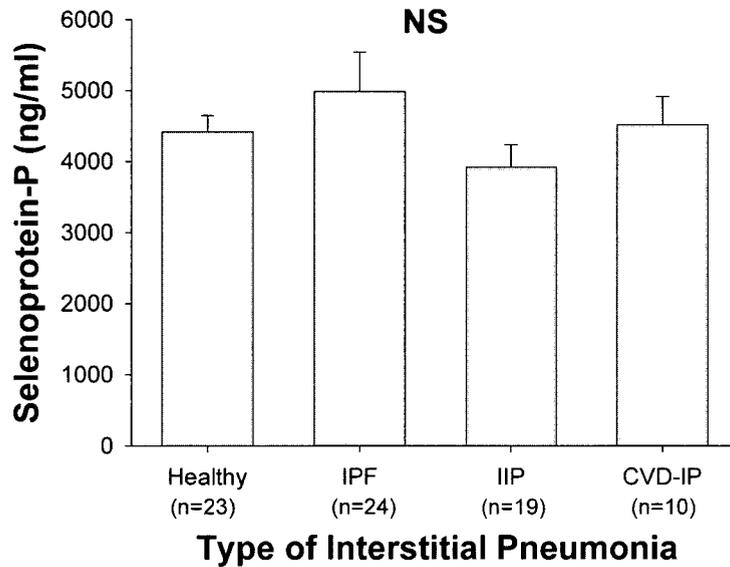


Figure Serum Concentration of SEPP in Patients with Interstitial Pneumonia

TGF- β で刺激するとSEPPと α 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^{4,5)}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⁶⁾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.

ARDS 多施設前向き検討 HRCT による線維増殖性変化の評価の意義

一門 和哉¹ 村中 裕之¹ 具嶋 泰弘¹ 岩本 範博¹ 田中 智樹²
福田浩一郎² 平田奈穂美³ 吉永 健³ 一安 秀範⁴
興梠 博次⁴ 菅 守隆^{1*}

【目的】我々は、HRCT 所見が治療反応性の予測因子となりうることを報告した (AJRCCM 2002, Radiology 2006)。今回、診断時の HRCT による線維増殖性変化の評価の臨床的意義を明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】2004 年 3 月より AECC 基準を満たす ARDS 60 症例 (年齢 75.6±9.1 歳) を多施設前向きに集積し、診断時 HRCT による線維増殖性変化を評価し、先の報告と同様に半定量評価し、検討を行った。

【結果】非生存 20 例の 90% の症例は多臓器不全死であった。診断時線維増殖性変化を半定量化した HRCT スコアは、非生存例 20 例 (245.9±52.4) で、生存例 (204.1±56.9) に比し、有意に高値 ($p=0.002$) であり、人工呼吸器離脱日数 (4.0±7.5 日 vs. 12.7±8.3 日) も有意に短かった。HRCT スコアは、多変量解析にて、生存および 14 日以内の人工呼吸器離脱に独立した予測因子であった。

【結語】原因病態によらず、ARDS 診断時の線維増殖性変化は、人工呼吸器離脱を遷延、多臓器不全への進展、予後不良の予測因子となりうる。

Prognostic Implications of Fibroproliferative Changes on High-Resolution Computed Tomography in Acute Respiratory Distress Syndrome: Multicenter Prospective Study

Kazuya Ichikado, MD, PhD¹, Hiroyuki Muranaka, MD, PhD¹,
Yasuhiro Gushima, MD, PhD¹, et al

¹Division of Respiratory Medicine, Saiseikai Kumamoto Hospital, 5-3-1 Chikami, Kumamoto 861-4193, Japan

Purpose: We conducted a multicenter prospective evaluation to examine whether the extent of fibroproliferative changes on HRCT scan has prognostic value for prediction of mortality, the number of ventilator-free days, and the 28-day risk of barotrauma in patients with a clinically early stage of ARDS.

Methods: Two independent observers prospectively evaluated the HRCT scans obtained within 2 days after clinical ARDS onset for 40 survivors and 20 nonsurvivors. Of 60 patients there were 38 men and 22 women (75.0±9.6 years). CT findings were graded on a scale of 1 to 5 corresponding to consecutive pathological phases: 1, normal attenuation; 2, ground-glass attenuation; 3, consolidation; 4, ground-glass attenuation associated with traction bronchiolectasis or bronchiectasis; 5, consolidation associated with traction bronchiolectasis or bronchiectasis. An overall CT score was obtained by adding the 5 averaged scores in three zones of each lung. Multivariate regression analysis was used to assess the independent predictive value of the CT score.

Results: Sixteen (80%) of 20 nonsurvivors died from septic multiorgan failure and the others did from respiratory failure. The overall CT score ($P=0.001$) were smaller in survivors than in nonsurvivors. Multivariate regression analysis revealed that the CT score was independently associated with 90 days mortality ($P=0.016$) and also associated with ventilator weaning failure within 28 days after ARDS onset ($P=0.006$). An CT score of <220 predicted survival with a sensitivity of 72% and a specificity of 70% and was associated with both a greater number of ventilator-free days ($P=0.002$) and a lower incidence of barotrauma ($P=0.004$) within 28 days after ARDS onset.

Conclusions: Extensive HRCT abnormalities indicative of fibro-proliferative changes were independently predictive of poor prognosis associated with multiorgan failure in patients with clinically early ARDS.

はじめに

急性呼吸促迫症候群 (acute respiratory distress syndrome: ARDS) は、急性肺損傷 (acute lung injury) の最重症型であり、急性発症、胸部 X 線写真上の両側性陰影、 $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 200$ の高度の酸素化障害で、かつ明らかな左心不全徴候を呈さない、4 項目の診断基準からなる臨床症候群である¹⁻³⁾。

ARDS の病理組織像は、びまん性肺胞傷害であり⁴⁾、その病理学的進行度によって、大きく 3 つの病期に分類される⁵⁾。すなわち、急性浸出期、亜急性増殖期、そして慢性線維化期であり、それぞれの病期はオーバーラップしながら、存在し、増殖期および線維化期は、線維増殖期 (fibroproliferative phase) と呼ばれている。重要な点は、それぞれの病期は、ARDS の原因によるよりむしろ、傷害発生からの期間と相関しており、同様の原因であっても、個々の進行度は様々である。

我々は、高分解能 CT (high-resolution CT: HRCT) 所見が、びまん性肺胞傷害の病理学的病期をよく反映することを報告してきた⁶⁻⁸⁾。HRCT が肺野全体の病理学的病期を表わすことを応用し、特発性の ARDS/DAD である急性間質性肺炎 (acute interstitial pneumonia, AIP) 症例や、様々な原因や基礎疾患を有する一般の ARDS 症例を対象とした後ろ向き研究により、HRCT 上の線維増殖性変化の程度が予後因子となりうることを、さらに発症 28 日までの人工呼吸器離脱および圧外傷発生の予測に有用であることも報告した^{8,9)}。

今回の検討の目的は、2004 年 3 月より、HRCT 所見における線維増殖性変化の意義について、ARDS 症例を前向きに集積し、60 症例について治療反応性・予後との関連や、人工呼吸器関連肺傷害との関係について検討を行った。

対象と方法

1) 症例

2004 年 3 月から 2006 年 10 月 31 日まで、American-European Consensus Conference (AECC) 基準を満たす 60 症例を集積し、prospective に HRCT 所見における線維増殖性変化の広がりを半定量化したスコアを用いて検討した。

2) HRCT 所見の広がりの評価

HRCT 所見は、ARDS 診断時において、2 名の観察者によって別個に評価された。先の報告^{8,9)}と同様に各所見の有無と広がりについて検討した。DAD の病理学的病期と HRCT 所見との関係^{6,7)}から、浸出期、増殖期そして線維化期に対応する CT 所見を以下のように 5 段階に分類し、それぞれの所見の広がりを視覚的に 10% きざみでスコア化した。肺野を左右上肺野 (肺尖から気管分岐部まで)、中肺野 (気管分岐部から下肺静脈レベルまで) および下肺野 (下肺静脈レベルから横隔膜上まで) と 6 領域に分け、各領域について各所見の広がりを評価した後、6 領域の広がり の平均値 (%) を算出した。6 段階の所見は、(1) 一見正常に見える領域、(2) すりガラス状陰影、(3) 浸潤影、(4) 牽引性細気管支・気管支拡張像を伴うすりガラス状陰影、そして (5) 牽引性細気管支・気管支拡張像を伴う浸潤影である。

3) HRCT による肺野全体のスコアの算出 (CT による病理学的進展度の定量的評価)

上記の病理学的病期に対応した 5 つの HRCT 所見について、段階的に 1-5 点のスコアを設定した^{8,9)}。すなわち、一見正常に見える領域を 1 点、すりガラス状陰影を 2 点とし、最も病期の進んだ牽引性細気管支・気管支拡張像を伴う浸潤影点を 5 点とした。このスコアに各所見の広がり の平均値 (%) を乗じ、その総和をもって算出した。このスコア化の特徴として、領域毎の病期の違いが反映され、線維増殖性変化が広範囲になるほど HRCT スコアは高値となる点がある。

4) 発症 90 日目における予後と HRCT スコアとの関係

発症 90 日目における生存例 ($n=40$) と、非生存例 ($n=20$) について、HRCT スコアの差違と、ROC 解析を用いたカットオフ値の設定により、予後に対する感度、特異度を算出した。また、多変量解析を用いて、これまでの臨床的予後因子との比較して、HRCT スコア

¹ 済生会熊本病院呼吸器科

² 熊本市民病院呼吸器内科

³ 熊本中央病院呼吸器科

⁴ 熊本大学医学薬学研究部呼吸器病態学

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 分担研究者

の予後因子としての独立性を検討した。

5) 発症 28 日以内の人工呼吸器離脱日数, 圧外傷の発生の有無と, HRCT スコアとの関係

発症 28 日以内の人工呼吸器離脱の有無について, 離脱群と離脱不能群で, HRCT スコアを比較した。さらに, HRCT スコアのカットオフ値を 220 とした場合に, スコア低値群 (<220) と高値群 (=220) での人工呼吸器離脱日数を比較検討した。

結 果

1. 発症 90 日目における予後と HRCT スコアとの関係

発症 90 日目の時点で, 非生存例の死因は, 4 例が呼

吸不全, 残り 16 例が敗血症性多臓器不全や循環不全と死因の 80% を占めた。生存例と非生存例の ARDS 診断時における臨床的背景因子には, 明らかな有意差を呈する要素は見られなかった (表 1) が, HRCT スコアを比較すると, 生存例 (204.7±56.9) は, 非生存例 (247.5±49.6) より有意に ($p=0.001$) 低値であった。また, カットオフ値を設定するために, ROC 曲線を作成し, HRCT スコア 220 にて, 生存に対する感度 72%, 特異度 70% の予測が可能であった (図 1)。さらに, これまで報告された臨床的予後因子とともに, 多変量解析を行い, HRCT スコアが独立した予後因子であるかどうかと評価したところ, 多臓器不全の程度を示す SOFA スコアとともに, HRCT スコアが有意な p 値を示した (表 2)。スコアが 1 ポイント上昇する毎

表 1 生存例, 非生存例 (発症 90 日目) の診断時臨床的因子の比較

	生存例 (n = 40)	非生存例 (n = 20)	p Value
		呼吸不全死 4, 敗血症性・MOF 14, 循環不全 2	
年齢 (歳)	74.7 ± 10.0	75.6 ± 9.2	0.75
性別 (男性 / 女性)	27 / 13	12 / 8	N.S.
直接 / 間接肺傷害	26 / 14	16 / 4	0.37
肝硬変	5.0%	5.0%	0.99
発症からの日数 (day)	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.2	> 0.99
Lung Injury Score	3.2 ± 0.6	3.4 ± 0.6	0.10
APACHE II スコア (全身状態の重症度)	21.1 ± 4.7	21.6 ± 5.6	0.86
SOFA スコア (多臓器不全の重症度)	7.7 ± 3.0	6.5 ± 2.1	P = 0.08

Median ±SD, Mann-Whitney U test, Chi-square test

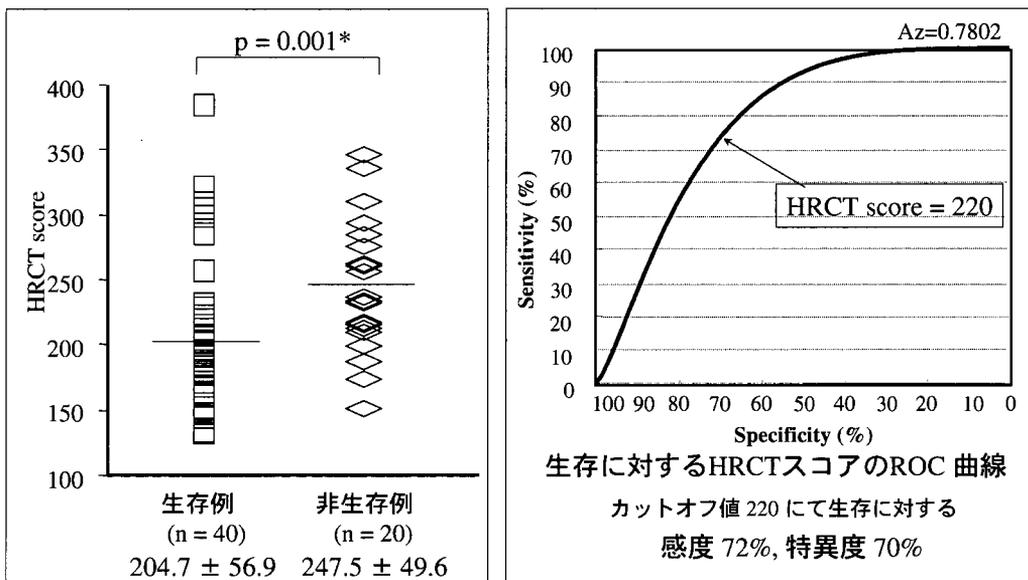


図 1 生存例, 非生存例の HRCT スコアの分布と ROC 曲線

表2 “HRCT 上の線維増殖性変化の程度は、独立した予後因子となる”

ロジスティック多変量解析による予後因子の検討
生存例40例、非生存例20例について

臨床的因子	p Value	オッズ比	95% Confidence Interval
HRCT スコア	0.016	2.7	0.970 - 0.997
SOFA スコア(多臓器不全)	0.028	4.9	1.052 - 2.421
McCabe スコア (基礎疾患予後)	0.081		
APACHE II スコア	0.115		
肝硬変	0.613		
年齢 > 70	0.772		
直接肺傷害	0.995		

人工呼吸器離脱日数

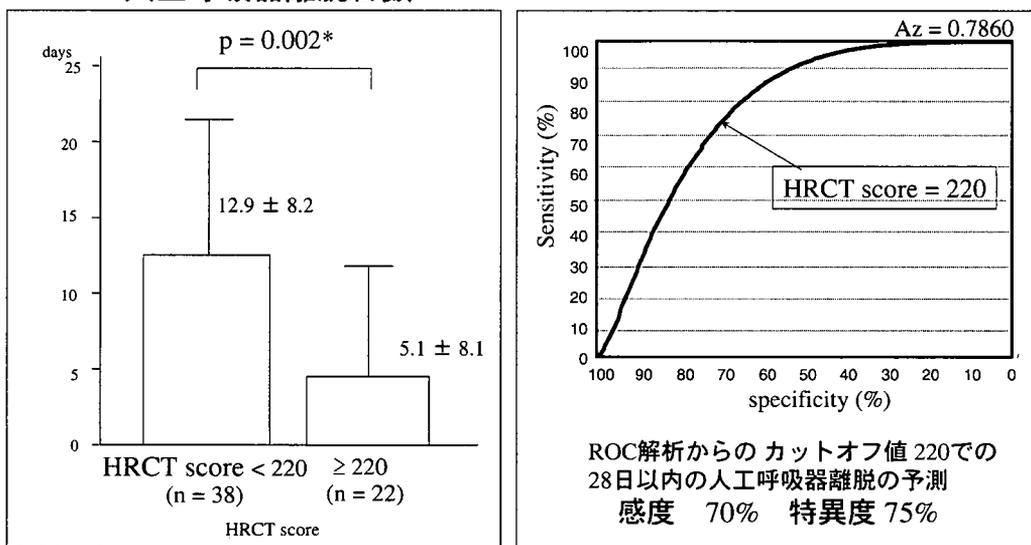


図2 “HRCT 上の線維増殖性変化の程度は人工呼吸器離脱に関わる”

の危険度を示すオッズ比も、SOFA スコア (4.9 倍) に次いで、2.7 倍の数値であった。

2. 人工呼吸器関連肺傷害と HRCT スコアとの関係

1) 発症 28 日以内の人工呼吸器離脱の有無

発症 28 日以内の人工呼吸器離脱の可否と予後との関連をみると、離脱可能群 (n=37) と離脱不能群 (n=23) の死亡率は、それぞれ 5.4% と、78.3% と有意に (p < 0.001)、離脱不能群で高かった (図 2)。離脱不能群の死亡 18 例の 16 例 (89%) は多臓器不全であった。診断時の多臓器不全の程度を示す SOFA スコアに有意な差が認められなかったことから、人工呼吸管理中の多臓器不全の出現であった。HRCT スコアをカットオフ値 220 で分けたスコア低値群 (<220: n=38) と、高値群 (=220: n=22) において、発症 28 日以内の人工呼吸器離脱日数の比較では、スコア低値群

(12.9±8.2 日) は、有意に (p=0.002) に、高値群 (5.1±8.1 日) より離脱日数が多い結果であった。また、ROC 曲線によるカットオフ値の設定でも、スコア 220 で、感度 70%、特異度 75% で人工呼吸離脱の予測が可能であった (図 2)。多変量解析にても、発症 28 日以内の人工呼吸器離脱について、HRCT スコアのみが有意な p 値を示し、独立した予後因子であることがわかった (表 3)。

2) 圧外傷の発生

発症 28 日以内に、圧外傷 (気胸、縦隔気腫、皮下気腫) の発生が、9 例 (15%) に認められた。スコア 220 をカットオフとした場合、圧外傷の発生率は、スコア低値群 (2.6%) に対して、有意に (p=0.004) に、高値群 (36.4%) で高率であった。圧外傷発生の予測について、ROC 曲線にてカットオフ値を求めると、スコア

表3 “HRCT 上の線維増殖性変化の程度は、独立した人工呼吸器離脱の指標となりうる”
多変量解析による発症 28 日以内の人工呼吸器離脱不能の予測因子

多変量解析による発症28日以内の人工呼吸器離脱不能の予測因子

臨床的因子	p Value	オッズ比	95% Confidence Interval
HRCT スコア	0.006	2.7	0.958 - 0.993
Barotrauma	0.120		
人工呼吸器関連肺炎	0.352		
McCabe スコア (基礎疾患予後)	0.409		
SOFA スコア(多臓器不全)	0.772		
Age > 70	0.898		
直接肺傷害	0.986		

R² = 0.39

発症 28 日以内の barotrauma の発生率

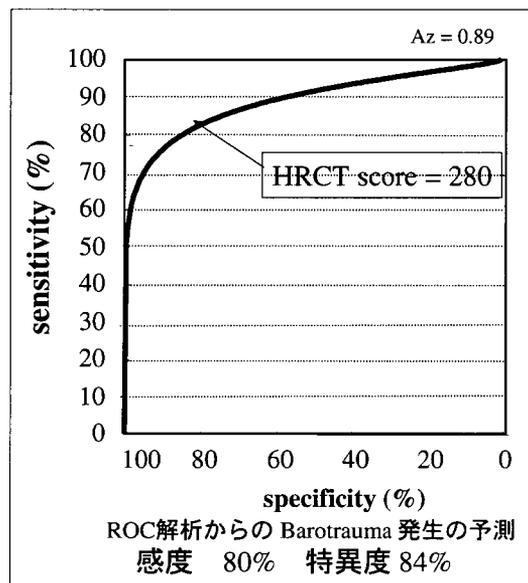
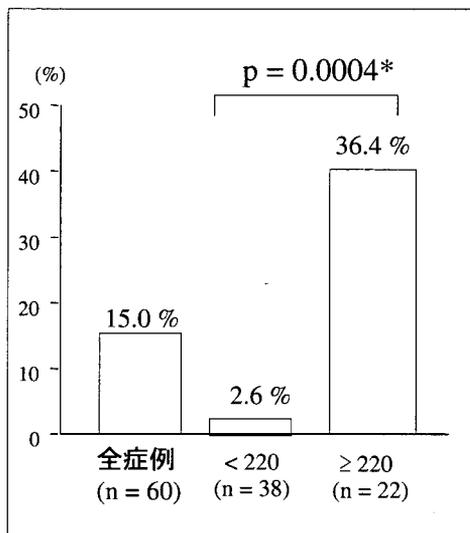


図3 “HRCT 上の線維増殖性変化の程度は、Barotrauma 発生の指標”

280にて感度80%、特異度84%で、予測が可能であった(図3)。

ARDS 発症からの日数と HRCT スコアとの関係

ARDS 発症からの日数と、HRCT スコアとの相関は、 $r_s=0.34$ ($p=0.008$) と有意な弱い正の相関関係を示したが、発症当日であっても、HRCT スコアは様々であり、診断時における線維増殖性変化の多様性が確認された。

考察と結語

これまで、我々は、HRCT 所見が、ARDS の病学的病期を反映することを報告し、今回は、この知見を用いて、ARDS 診断時における HRCT 上の線維増殖性変化の程度を評価することの意義を明らかにした。

すなわち診断時に、HRCT 上、線維増殖性変化が高度と考えられる症例は、人工呼吸管理を遷延化させ、これによる多臓器不全への進展を引き起こし易い点で、予後不良となりうる可能性が示唆された。また、ARDS 症例毎に、その原因によらず、線維増殖性変化の程度は様々であり、HRCT を用いて評価することの重要性が確認された。今後、HRCT による線維増殖性変化の広がりの評価は、ARDS の原因や、生理学的重症度、および発症からの日数によらず、治療反応性や人工呼吸器関連肺傷害のバイオマーカーとなりうる可能性がある。また、今後の課題として、診断時における線維増殖性変化が高度な場合に、治療の戦略をどうするのか、また個々の線維増殖性変化の程度の差違が何に起因するものかの検討する必要がある。