

図2 間質性肺炎マーカーのBALF中濃度  
BALF中のKL-6, SP-D, SP-A濃度は、いずれも群間有意差には至らなかった。

率70%以上であった分子を、アルブミン値で除して補正した結果を表3に示す。VEGF, MCP-1などでは、群間の順位は補正前と同様であったが、補正後には群間有意差は認められなかったため、以後の検討はアルブミン補正を行わず、原液濃度で行った。

次に、BALF中細胞分画と液性因子との相関を検討した(表4)。IL-8, IL-1ra, MCP-1, MIP-1 $\beta$ 濃度と、好中球比率との間には有意な正相関を認めた。また、Eotaxin, IL-5, IL-10, IL-12と好酸球比率との間にも有意な弱い正相関を認めた。

群間をさらに鋭敏に分離する指標を確立する目的で、各分子の発現比を検討した(図3)。ここでは、IIPs-non COP群を、さらに非蜂巢肺群(H(-), n=15)と蜂巢肺群(H(+), n=4)の2群に分離して検討した。まず、MCP-1はIIPsで高値、Sar群で低値であり、VEGFではSar群で高値をとったため(図1)、MCP-1/VEGF比を検討したところ、cut off 0.9未満で、Sar群を感度

95.5%、特異度96.7%で鑑別できた(図3)。

さらに、IIPsの中で病型の違いを反映する指標を探索した。MCP-1はIIPs-COP群でIIPs-non COP群より高値である一方、IL-1raでは逆転していたため(図1)、MCP-1/IL-1ra比を検討すると、cut off 1.8未満で蜂巢肺を有するH(+)4例をIIPs-COP群5例から鑑別できた(図3)。IIPs-H(-)群におけるMCP-1/IL-1ra比は、IIPs-COP群とH(+)群の値に広くまたがって分布していた。また、追跡可能であったIIPs 21例のうち、MCP-1/IL-1ra比<1.8では3/6例が予後不良に対し、>1.8では3/15例のみが予後不良であった。MCP-1/IL-1ra比は、予後不良群では $2.3 \pm 1.0$  (n=6)、無治療安定群では $3.9 \pm 1.4$  (n=8)、ステロイド反応良好群では $11.1 \pm 5.8$  (n=7)であった。

## 考 察

今回の網羅的なBALF中液性因子の検討において、MCP-1はIIPs群やCVD-IP群でSar群

表3 BALF 中液性因子のアルブミン補正值

	Target /albumin	Total (n=54)	CVD-IP(n=8)	IIPs-COP(n=5)	IIPs-nonCOP(n=19)	Sar (n=22)
		p	Mean±SEM	Mean±SEM	Mean±SEM	Mean±SEM
Cytokine	IL-1ra	0.372	47.8±35.2	2.6±0.8	27.6±12.4	13.6±7.3
	IL-12	0.181	0.3±0.2	0.6±0.5	0.2±0.1	0.1±0.0
	IL-5	0.323	0.1±0.0	0.3±0.1	0.4±0.1	0.5±0.1
	IL-10	0.436	0.0±0.0	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
Growth Factor	GM-CSF	0.509	1.9±0.6	1.0±0.5	3.8±1.4	6.2±2.5
	VEGF	0.066	7.1±2.7	19.4±13.8	5.2±1.5	14.8±3.0
Chemokine	MCP-1	0.241	21.6±21.5	44.6±24.6	46.8±23.9	4.0±2.4
	Eotaxin	0.352	1.5±0.8	0.7±0.2	0.5±0.2	0.7±0.3
	RANTES	0.696	1.8±0.9	3.1±1.9	3.7±2.2	1.5±0.7
	MIP-1b	0.232	5.6±1.9	3.6±1.7	6.4±2.1	2.5±0.3
	IL-8	0.327	9.1±2.6	29.0±27.2	20.6±9.8	6.3±1.4
	IP10	0.013*	702.2±355.2	195.0±49.8	191.7±33.2	163.6±25.5
Other proteins	KL-6	0.889	52.2±15.1	37.7±10.4	49.2±7.3	52.4±9.4
	SP-D	0.110	70.1±15.9	46.2±10.5	43.4±6.5	61.8±5.6
	SP-A	0.449	443.2±177.8	670.1±506.3	305.4±77.2	551.1±123.4
	HMGB-1	0.613	1.1±0.3	0.2±0.1	1.5±0.5	1.4±0.4

各分子の濃度 (pg/ml) を、アルブミン濃度 (mg/dl) で除算した値を示した。

\*p<0.05, p 値は one-factor ANOVA による群間有意差検定のものである。原液の測定で有意差が認められた分子においても、アルブミン補正を行うと有意差は認められなくなった。

表4 各因子と細胞分画との相関

		Neu (%)	Lym (%)	Mp (%)	Eos (%)
Inflammatory Cytokine	IL-1ra	**	*	NS	NS
	r	0.58	-0.30	-0.08	0.16
	IL-12	NS	NS	NS	**
	r	0.10	0.02	-0.17	0.39
Growth Factor	IL-5	NS	NS	NS	**
	r	0.05	0.15	-0.25	0.37
Growth Factor	IL-10	NS	NS	NS	**
	r	0.06	0.09	-0.22	0.41
Growth Factor	GM-CSF	NS	NS	NS	NS
	r	-0.11	0.19	-0.13	0.09
Growth Factor	VEGF	NS	NS	NS	NS
	r	0.02	0.07	-0.03	-0.15
CC Chemokine	MCP-1	**	NS	NS	NS
	r	0.72	-0.24	-0.21	0.11
	MIP-1β	**	NS	NS	NS
	r	0.52	-0.15	-0.20	0.22
CC Chemokine	RANTES	NS	NS	NS	NS
	r	0.00	0.09	-0.13	0.19
CC Chemokine	Eotaxin	NS	NS	NS	**
	r	0.11	0.05	-0.19	0.38
CXC Chemokine	IL-8	**	NS	NS	NS
	r	0.61	-0.23	-0.13	-0.03
CXC Chemokine	IP10	NS	NS	NS	NS
	r	-0.09	0.04	-0.05	0.24

r 値はピアソンの相関係数である。\*p<0.05, \*\*p<0.01, NS: 有意差なし。

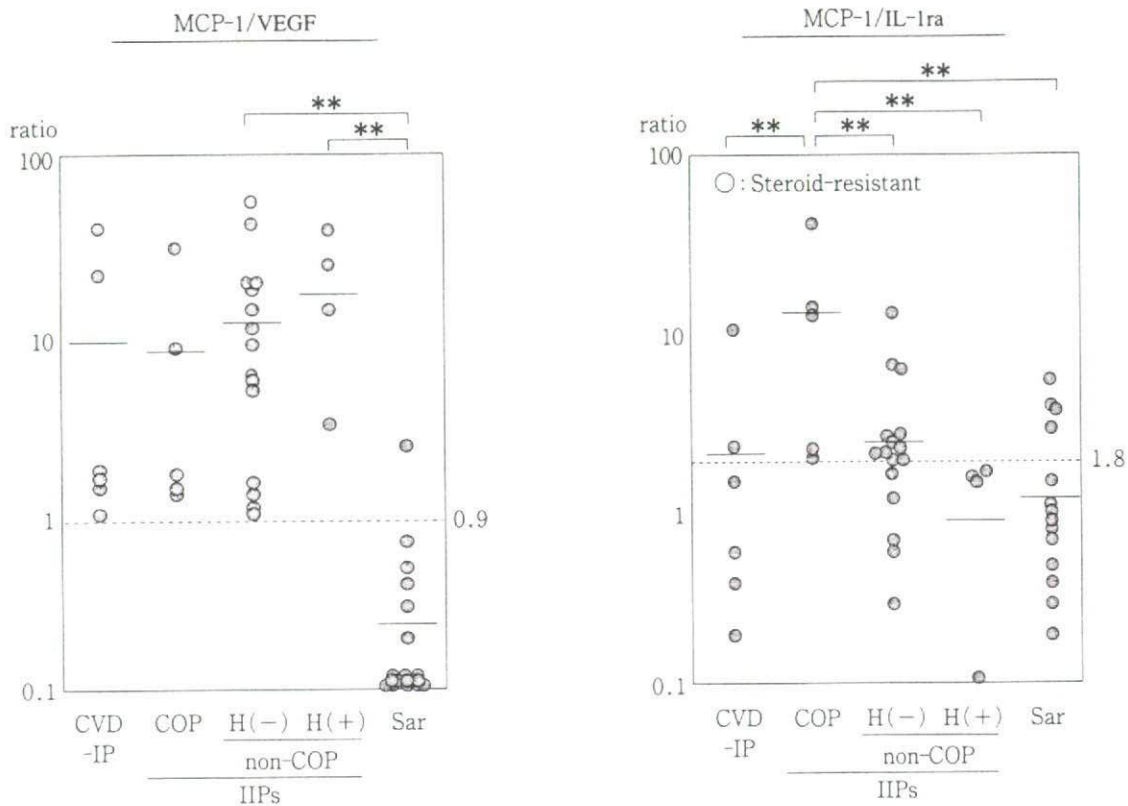


図3 BALF中液性因子の濃度比

MCP-1/VEGF比は、Cut off 0.9でサルコイドーシスを鑑別可能であった。

MCP-1/IL-1ra比は、Cut off 1.8で、H(+)群を、COP群から鑑別可能であった。また、MCP-1/IL-1ra比<1.8では3/6例が、>1.8では3/15例が予後不良であった。\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

に比して有意に高値をとる一方、VEGFについては、逆にSar群でIIPs-non COP群やCVD-IP群より有意に高値をとった(図1)。この相反する結果から、MCP-1/VEGFの比を検討すると、cut off値0.9で両疾患を鑑別できた(図3)。また、IIPs群の中で、COP群とnon COP群を比較すると、MCP-1はCOP群で高値をとる一方で、IL-1raは逆にnon COP群で高値をとることから、MCP-1/IL-1ra比を検討すると、cut off値1.8でCOP群と蜂巣肺群を鑑別でき(図3)、予後とも関連する可能性が示唆された。さらに、IIPs-non COP群とSar群の間にはIL-1ra, MCP-1, VEGFにおいて差異が認められたが、IIPs-COP群ではIL-1ra, VEGFについてはSar群に近く、MCP-1についてはIIPs-non COP群に近い傾向が認められ、IIPsの中でも、COPの病態が異なることも示唆された。

ケモカインは、細胞の一方方向性遊走を惹起する分子であり、種々の炎症性疾患において、局所の

炎症細胞集積を誘導することにより、炎症病態形成に寄与している。MCP-1はマクロファージやリンパ球、上皮細胞などから産生されるケモカインで、その受容体はCCR2である。CCR2は単球、活性化リンパ球に発現しており、MCP-1はこれらの炎症細胞の局所集積に関与していることが示唆されている。MCP-1の肺線維症や肺傷害病態への関与を示唆する報告として、*in vivo*では、CCR2ノックアウトマウスにおいてプレオマイシンによる肺傷害が減弱することが報告されており<sup>14)</sup>、この過程には、マクロファージからのmatrix metalloproteinase-2 (MMP-2)産生減弱による、上皮基底膜層の破壊抑制が関与している可能性が示唆されている<sup>15)</sup>。さらに、MCP-1は、炎症細胞集積に加えて、線維化にも直接関与していることが*in vitro*で示唆されており、MCP-1は肺線維芽細胞からのTGF- $\beta$ 産生増強を介して、コラーゲン産生を惹起することも示されている<sup>16)</sup>。

ヒトでの検討においても、BALF中のMCP-1

はIPFにおいて上昇し、肺拡散能と相関していること<sup>17)</sup>、IPF、NSIPではサルコイドーシスより高値をとること<sup>18,19)</sup>、COPではIPFより高値をとること<sup>20)</sup>、全身性強皮症に伴う肺病変でも上昇しているが、IPFより低値であること<sup>21)</sup>が報告されており、文献的にはCOP>IPF、NSIP>CVD-IP、サルコイドーシスとなることが示唆されている。今回の検討でも全く同様の傾向が得られており(図1)、疾患鑑別に有用なマーカーであることが示唆された。

VEGFは血管新生や血管透過性亢進を惹起する分子で、肺に高発現しており、主要な産生細胞は上皮細胞とされている<sup>22)</sup>。低酸素やIL-1 $\alpha$ 、IL-6などの炎症性サイトカイン、TGF- $\beta$ やKGFなどの成長因子によって産生が増強されること<sup>23)</sup>、*in vivo*では、気道でのVEGF強制発現により、肺血管透過性亢進や間質浮腫が認められ、急性肺傷害様の病態を形成すること<sup>24)</sup>が報告されている。このように、肺傷害病態への直接的関与が示唆されているものの、BALF中濃度はむしろ低下することが報告されている。健常人に比較して、サルコイドーシスやIPF症例におけるBALF中VEGF濃度は低く、われわれの検討結果と一致して、IPFではサルコイドーシスより低値であることや<sup>13)</sup>、急性呼吸窮迫症候群(Acute Respiratory Distress Syndrome: ARDS)の気道被覆液中で低下していることが報告されている<sup>25)</sup>。濃度低下の機序としては、産生細胞である上皮細胞が損傷され、産生障害を生じた結果をみている可能性が想定されている。今回の検討でも、既存の肺胞構造の破壊が、サルコイドーシスやCOPよりも強いと考えられるIIPs-non COP群やCVD-IP群でより低値をとっていることから、BALF中のVEGF濃度低下が、肺傷害の程度を逆説的に反映するマーカーとして利用できる可能性が推察される。なお、喫煙者ではBALF中VEGF濃度が低下することが報告されているが、最終喫煙からの時間がVEGF濃度に及ぼす影響は明確には示されていない<sup>13)</sup>。今回の検討では、喫煙歴の有無によるBALF中VEGF濃度に有意差は認められなかった。検査前の喫煙状況が微細な影響を与えることも推定されるが、今回の検討の範囲内では、疾患鑑別に及ぼす影響は少ないものと考えられた。

IL-1は、活性化マクロファージから産生され、線維芽細胞増殖作用を持ち<sup>17)</sup>、肺におけるIL-1発現強度は、線維化病態と相関することが、ブレオマイシン肺傷害モデルや<sup>26)</sup>、ヒトIPF<sup>27)</sup>において示されている。IL-1 $\alpha$ はマクロファージや単球から産生され、IL-1の受容体結合を競合的に阻害することで、炎症抑制性に働く分子であり、*in vivo*でも、IL-1 $\alpha$ はブレオマイシン肺傷害モデルに対し、保護的に働くことが報告されている<sup>28)</sup>。さらに、IPFにおいては、肺胞マクロファージから放出されるIL-1 $\alpha$ /IL-1 $\beta$ 比が低く、不均衡が存在する可能性も報告されている<sup>29)</sup>。IL-1 $\alpha$ は、肺疾患に対する吸入製剤の開発も試みられており<sup>30)</sup>、慢性関節リウマチではIL-1 $\alpha$ 製剤が<sup>anakinra (kineret®)</sup>として臨床応用されている。

以上のように、IL-1 $\alpha$ は肺傷害保護的分子として位置づけられているが、IL-1 $\alpha$ のBALF中濃度は、間質性肺疾患で低下しているわけではなく、IPF<sup>31)</sup>や全身性硬化症患者<sup>32)</sup>では上昇していること、間質性肺疾患患者由来の肺胞マクロファージからの放出が亢進していること<sup>33)</sup>が報告されている。これらのことから、negative feedback機構として、IL-1 $\alpha$ が局所のIL-1機能の抑制に働いていることが示唆される。今回の検討では、既報のごとく、CVD-IP群やIIPs群で上昇傾向を認め(図1)、びまん性汎細気管支炎における報告と同様に<sup>34)</sup>、BALF中の好中球数と正相関を示していた(表4)。これまで、COPやサルコイドーシスのBALF中IL-1 $\alpha$ 濃度を測定した報告はないが、今回の検討ではIIPs-non COP群やCVD-IP群ではこれらと比較して高値であり、より線維化の強い病態でIL-1 $\alpha$ が上昇していると推察された。

これらの結果から、MCP-1は細胞遊走惹起を介した炎症病態を、VEGFは上皮傷害を、IL-1 $\alpha$ は線維化病態を反映していることが示唆された。さらに、傾向が逆転した分子の比をとることで、局所の血管透過性などの影響を排除し、鑑別精度が向上する可能性を考え、MCP-1/VEGF比とMCP-1/IL-1 $\alpha$ 比を検討した。MCP-1/VEGF比はIIPsとサルコイドーシスを明瞭に鑑別できた(図3)。このことは、IIPsとサルコイドーシスにおける炎症強度と肺傷害の差異が、比を検討する

ことでさらに明瞭になったと理解された。また、MCP-1/IL-1ra比はIIPsにおいて、COP群と蜂巣肺を有するIIPs-H(+)群を鑑別できたが、両病態の炎症強度と線維化の差異が、比を検討することでさらに明瞭になったことが示唆された。

臨床現場において、診断、治療方針決定に最も苦慮する疾患群はNSIPである。確定診断には、外科的肺生検を要するが、今回の検討では、IIPs-non COPにおけるH(-)群がNSIPに相当すると考えられる。興味深いことに、このIIPs-H(-)群のMCP-1/IL-1ra比は、IIPs-COP群とIIPs-H(+)群にまたがって広く分布した。COPはステロイド反応性の良い、予後良好な疾患として位置づけられており、IIPs-H(+)群に相当するIPFは、ステロイド反応性に乏しく、中間生存期間は3~5年とされる予後不良の疾患である<sup>35)</sup>。また実際、今回の検討でも、IIPs-H(+)群が属したMCP-1/IL-1ra比<1.8の領域では、IIPs-H(-)群においても、治療抵抗性患者が認められた(図3)。このことから、臨床的にNSIPを疑った症例では、外科的生検を行わなくとも、BALF中のMCP-1/IL-1ra比の検討によってCOPあるいはIPFへの偏倚傾向を把握し、線維化やステロイド反応性を予測できる可能性が示唆された。

また、BALF中液性因子の解析においては、炎症強度の個人差や局所の血管透過性を補正する目的で、アルブミン補正を行った報告がある。しかしながら、BALF中アルブミン値自体が、多くの因子で制御されている可能性があり、今回の検討ではアルブミン補正によって付加的な情報は得られなかった。

また、SP-D、SP-A、KL-6は、肺傷害によって血清値が上昇するため、間質性肺炎の有用な血清マーカーとして位置づけられている。これらの分子の産生細胞はII型肺胞上皮細胞であり、BALF中濃度は、局所病態を直接的に反映する可能性があるため、今回検討した。しかしながら、疾患鑑別や病型分類を目的とした今回の検討では、群間有意差は得られなかった(図2)。既報においても、SP-A、SP-Dが肺胞蛋白症や、サルコイドーシスで増加することが報告されているものの<sup>36)</sup>、IPF、ARDSでの結果は分かれており、BALF濃度の検討の意義は確立していない。BALF中KL-6濃度

も、サルコイドーシス<sup>36)</sup>、IPF<sup>37)</sup>で上昇することが報告されているが、BALF中濃度は、血清濃度より低値であり、鑑別診断における有用性は確立していない。これらの分子のBALF中および血中濃度は、肺胞上皮細胞での発現強度と血中への透過性によって決定されると考えられるが、BALF濃度の鑑別診断における臨床的有用性は、限定的なものと考えられた。

## 結 語

BALF中のMCP-1、IL-1ra、VEGFの同時測定がびまん性肺疾患の鑑別、病型分類、予後予測に有用であることが示唆された。特に、MCP-1/VEGF比のサルコイドーシス診断における有用性と、MCP-1/IL-1ra比のIIPsにおける病型分類、予後予測、さらにNSIPの予後予測における有用性が示唆された。

**謝辞：**稿を終えるにあたり、ご指導・ご校閲を賜りました帝京大学医学部内科学講座、大田 健教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究を直接ご指導・ご校閲賜りました、長瀬洋之講師に厚く御礼を申し上げます。さらに、測定のご協力をいただきました実験助手の田村知世さん、増田倫子さん、ならびに気管支肺胞洗浄を施行してきた歴代の研究室スタッフに、心から感謝いたします。

## 文 献

- 1) 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. 特発性間質性肺炎診断と治療の手引き. 東京: 南江堂; 2004.
- 2) 阪本考司, 横山俊樹, 麻生裕紀他. びまん性肺疾患に対する外科的肺生検の検討 合併症, 診断効率と早期死亡について. 日本呼吸器学会雑誌 2006; 44: 675-80.
- 3) Wallace WA, Ramage EA, Lamb D, et al. A type 2 (Th2-like) pattern of immune response predominates in the pulmonary interstitium of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis (CFA). Clin Exp Immunol 1995; 101: 436-41.
- 4) Lukacs NW, Hogaboam C, Chensue SW, et al. Type 1/type 2 cytokine paradigm and the progression of pulmonary fibrosis. Chest 2001; 120: 5S-8S.
- 5) Postlethwaite AE, Holness MA, Katai H, et al. Human fibroblasts synthesize elevated levels of extracellular matrix proteins in response to interleukin 4. J Clin Invest 1992; 90: 1479-85.
- 6) Prior C, Haslam PL. In vivo levels and in vitro production of interferon-gamma in fibrosing intersti-

- tial lung diseases. *Clin Exp Immunol* 1992 ; 88 : 280-7.
- 7) Raghu G, Brown KK, Bradford WZ, et al. A placebo-controlled trial of interferon gamma-1b in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 125-33.
  - 8) Antoniou KM, Nicholson AG, Dimadi M, et al. Long-term clinical effects of interferon gamma-1b and colchicine in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2006 ; 28 : 496-504.
  - 9) Bajwa EK, Ayas NT, Schulzer M, et al. Interferon-gamma1b therapy in idiopathic pulmonary fibrosis : a metaanalysis. *Chest* 2005 ; 128 : 203-6.
  - 10) Miyara M, Amoura Z, Parizot C, et al. The immune paradox of sarcoidosis and regulatory T cells. *J Exp Med* 2006 ; 203 : 359-70.
  - 11) Idali F, Wahlstrom J, Muller-Suur C, et al. Analysis of regulatory T cell associated forkhead box P3 expression in the lungs of patients with sarcoidosis. *Clin Exp Immunol* 2008 ; 152 : 127-37.
  - 12) 日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会診断基準策定委員会. サルコイドーシスの診断基準と診断の手引き—2006 要約. *日サ会誌* 2006 ; 26 : 77-82
  - 13) Koyama S, Sato E, Haniuda M, et al. Decreased level of vascular endothelial growth factor in bronchoalveolar lavage fluid of normal smokers and patients with pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 166 : 382-5.
  - 14) Moore BB, Paine R, 3rd, Christensen PJ, et al. Protection from pulmonary fibrosis in the absence of CCR2 signaling. *J Immunol* 2001 ; 167 : 4368-77.
  - 15) Okuma T, Terasaki Y, Kaikita K, et al. C-C chemokine receptor 2 (CCR2) deficiency improves bleomycin-induced pulmonary fibrosis by attenuation of both macrophage infiltration and production of macrophage-derived matrix metalloproteinases. *J Pathol* 2004 ; 204 : 594-604.
  - 16) Gharaee-Kermani M, Denholm EM, Phan SH. Co-stimulation of fibroblast collagen and transforming growth factor beta1 gene expression by monocyte chemoattractant protein-1 via specific receptors. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 17779-84.
  - 17) Capelli A, Di Stefano A, Gnemmi I, et al. CCR5 expression and CC chemokine levels in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2005 ; 25 : 701-7.
  - 18) Car BD, Meloni F, Luisetti M, et al. Elevated IL-8 and MCP-1 in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994 ; 149 : 655-9.
  - 19) Yoshioka S, Mukae H, Sugiyama K, et al. High-BAL fluid concentrations of RANTES in nonspecific interstitial pneumonia compared with usual interstitial pneumonia. *Respir Med* 2004 ; 98 : 945-51.
  - 20) Forlani S, Ratta L, Bulgheroni A, et al. Cytokine profile of broncho-alveolar lavage in BOOP and UIP. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2002 ; 19 : 47-53.
  - 21) Meloni F, Caporali R, Marone Bianco A, et al. BAL cytokine profile in different interstitial lung diseases : a focus on systemic sclerosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2004 ; 21 : 111-8.
  - 22) Boussat S, Eddahibi S, Coste A, et al. Expression and regulation of vascular endothelial growth factor in human pulmonary epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000 ; 279 : L371-8.
  - 23) Papaioannou AI, Kostikas K, Kollia P, et al. Clinical implications for vascular endothelial growth factor in the lung : friend or foe ? *Respir Res* 2006 ; 7 : 128.
  - 24) Kaner RJ, Ladetto JV, Singh R, et al. Lung overexpression of the vascular endothelial growth factor gene induces pulmonary edema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000 ; 22 : 657-64.
  - 25) Thickett DR, Armstrong L, Millar AB. A role for vascular endothelial growth factor in acute and resolving lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 166 : 1332-7.
  - 26) Phan SH, Kunkel SL. Lung cytokine production in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Exp Lung Res* 1992 ; 18 : 29-43.
  - 27) Pan LH, Ohtani H, Yamauchi K, et al. Co-expression of TNF alpha and IL-1 beta in human acute pulmonary fibrotic diseases : an immunohistochemical analysis. *Pathol Int* 1996 ; 46 : 91-9.
  - 28) Piguet PF, Vesin C, Grau GE, et al. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra) prevents or cures pulmonary fibrosis elicited in mice by bleomycin or silica. *Cytokine* 1993 ; 5 : 57-61.
  - 29) Mikuniya T, Nagai S, Shimoji T, et al. Quantitative evaluation of the IL-1 beta and IL-1 receptor antagonist obtained from BALF macrophages in patients with interstitial lung diseases. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1997 ; 14 : 39-45.
  - 30) Ischenko AM, Nikolaev BP, Kotova TV, et al. IL-1 receptor antagonist as an aerosol in inflammation. *J Aerosol Med* 2007 ; 20 : 445-59.
  - 31) Smith DR, Kunkel SL, Standiford TJ, et al. Increased interleukin-1 receptor antagonist in idiopathic pulmonary fibrosis. A compartmental analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995 ; 151 : 1965-73.

- 32) Luzina IG, Atamas SP, Wise R, et al. Gene expression in bronchoalveolar lavage cells from scleroderma patients. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002 ; 26 : 549-57.
- 33) Janson RW, King TE, Jr., Hance KR, et al. Enhanced production of IL-1 receptor antagonist by alveolar macrophages from patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1993 ; 148 : 495-503.
- 34) Kadota J, Matsubara Y, Ishimatsu Y, et al. Significance of IL-1 $\beta$  and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in patients with diffuse panbronchiolitis (DPB). *Clin Exp Immunol* 1996 ; 103 : 461-6.
- 35) American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis : diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). *Am J Respir Crit Care Med* 2000 ; 161 : 646-64.
- 36) Kunitake R, Kuwano K, Yoshida K, et al. KL-6, surfactant protein A and D in bronchoalveolar lavage fluid from patients with pulmonary sarcoidosis. *Respiration* 2001 ; 68 : 488-95.
- 37) Kohno N, Awaya Y, Oyama T, et al. KL-6, a mucin-like glycoprotein, in bronchoalveolar lavage fluid from patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1993 ; 148 : 637-42.

(論文受付日 : 2008年9月10日)  
(論文受理日 : 2008年12月5日)

## Comprehensive Analysis of Cytokines and Chemokines in Bronchoalveolar lavage Fluids of Interstitial Lung Diseases

Yasuhiro KOJIMA

Department of Medicine, Teikyo University School of Medicine

**Background and Methods :** To establish useful markers for the differential diagnosis and prediction of prognosis of interstitial lung diseases, we simultaneously analyzed the levels of 32 cytokines and chemokines in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) by Luminex<sup>®</sup> system. The diagnoses of patients were sarcoidosis (Sar : n=22), interstitial pneumonia with collagen vascular diseases (CVD-IP : n=8), and idiopathic interstitial pneumonias (IIPs) including cryptogenic organizing pneumonia (IIPs-COP : n=5) and other IIPs (IIPs-non COP : n=19).

**Results :** Significant differences between groups were observed in the levels of MCP-1, MIP-1 $\beta$ , VEGF concentration in BALF. The concentrations of MCP-1 (mean pg/ml) were higher in IIPs-COP (328.5), IIPs-non COP (242.4), and CVD-IP (95.3) as compared with Sar (13.9). The levels of IL-1ra were higher in IIPs-non COP (136.3) and CVD-IP (194.4) than in IIPs-COP (43.9) and Sar (37.4). In contrast, the levels of VEGF were higher in IIPs-COP (131.0) and Sar (80.1) as compared with IIPs-non COP (29.0) and CVD-IP (27.3). As the levels of MCP-1 were higher in IIPs-non COP than in Sar, and inversely, the levels of VEGF were higher in Sar, we analyzed the ratio of MCP-1/VEGF. The ratio of MCP-1/VEGF at cut off point 0.9 could distinguish Sar from all other diseases with 95.5 % sensitivity and 96.7 % specificity. Furthermore, the ratio of MCP-1/IL-1ra at cut off point 1.8 could distinguish IIPs-non COP with honeycomb lung (n=4) from IIPs-COP (n=5). Among all IIPs, 3 out of 6 patients with the ratio of MCP-1/IL-1ra < 1.8 showed poor prognosis, in contrast, only 3 out of 15 patients with the ratio > 1.8 showed poor prognosis.

**Conclusions :** The simultaneous analysis of the levels of MCP-1, IL-1ra, VEGF in BALF might be useful for the differential diagnosis and prediction of prognosis of interstitial lung diseases.

**Key words :** Idiopathic Interstitial Pneumonias, Idiopathic Pulmonary Fibrosis, Bronchoalveolar Lavage Fluid, Honeycomb Lung

## ●原 著

## KL-6 迅速検査法の有用性についての検討

森本 耕三 石川 理恵 守屋 敦子 増永 愛子  
 神宮 浩之 安藤 常浩 生島壮一郎 折津 愈

要旨：高分子量のシアロ糖蛋白であり肺細胞抗原のクラスター9に分類されるKL-6は、間質性肺炎の診断および活動性の判定補助として有用である。特に急性増悪時は気胸、肺塞栓、心不全など明らかな他疾患を除外するとともに、KL-6値の上昇を参考に診断する。今回、院内の既存の全自動化学発光酵素免疫測定システムに対応した、血清および血漿を測定対象に短時間測定を可能とするKL-6検査法が開発されたことから、その性能を評価した。従来法との相関性を検討した結果、 $y=1.094x-6.849$ 、相関係数0.986(N=326)と良好な結果であった。血清及び血漿を用いて測定したKL-6の比較は、 $y=0.997x-1.211$ 、相関係数0.997(N=225)であった。さらに、経過観察症例においても従来法と同様の結果が得られたこと、各種疾患の検体を用いた検討においても、血清KL-6値が間質性肺炎で高値であることが確認できた。以上のように、採血から結果報告を1時間程度に短縮できることから、外来における診察前検査や急性増悪を疑う症例における迅速検査法としての有用性が期待される。

キーワード：KL-6、間質性肺炎、化学発光酵素免疫測定、ルミパルス

KL-6, Interstitial pneumonia, Chemiluminescent enzyme immunoassay, LUMIPULSE

## 緒 言

KL-6は体外診断用医薬品項目として、1999年に承認され、2000年に保険収載された。現在、血中KL-6の測定試薬として汎用されている方法として、サンドイッチ酵素免疫測定法(enzyme immunoassay; EIA法)や電気化学発光免疫測定法(electric chemiluminescent immunoassay; ECLIA法)を原理とした自動分析装置による測定<sup>1)~3)</sup>が可能である。しかし手法による検体の前処理操作や測定毎にキャリブレーション同時測定が必要であることなど、全自動の測定でないために操作が煩雑で、結果を得るために時間を要する。今回、我々は院内に既存の全自動化学発光酵素免疫測定システム「ルミパルス Presto II」に対応した新しいKL-6測定試薬が開発されたことから、その基礎的性能を評価した。

## 研究対象および方法

## 1. 対象

2007年4月から5月の間に当センター呼吸器内科を受診した、入院患者検体および外来患者検体(血清326例、血漿225例)を対照に検討した。

## 2. 方法

本試薬は、2ステップサンドイッチ法を原理とする化学発光酵素免疫測定法(chemiluminescent enzyme immunoassay; CLEIA法)によるKL-6測定試薬(以下、本法)である。抗体結合粒子に抗KL-6モノクローナル抗体結合フェライト粒子(固相)、酵素標識抗体にアルカリフォスファターゼ(ALP)標識抗KL-6モノクローナル抗体、基質には化学発光基質であるAMPPD[3-(2-spiroadamantane-4-methoxy-4-(3'-phosphoryloxy)phenyl-1,2-dioxetane disodium salt)を用いている。本法の測定には全自動化学発光酵素免疫測定システムである「ルミパルス Presto II」を用いた。比較検討には、外注検査で用いられているECLIA法を原理とした電気化学発光免疫測定装置「ピコルミ II」を用いた「ピコルミ KL-6」(以下、従来法)の測定値を用いた。

本法の測定対象検体は血清および血漿で、システムに検体と測定試薬をセットした後、以降の測定操作は装置内で自動的に行われる。検体10 $\mu$ Lは自動的に検体希釈液190 $\mu$ Lと混合された内10 $\mu$ Lが検体として、抗体結合粒子50 $\mu$ Lと37 $^{\circ}$ Cで8分間反応させる。洗浄後、酵素標識抗体50 $\mu$ Lを加えて37 $^{\circ}$ Cで8分間反応させ、未反応の酵素標識抗体をB/F分離後に化学発光基質AMPPDを200 $\mu$ L加える。37 $^{\circ}$ Cで4分間インキュベーション後に、ALPの触媒作用によりAMPPD分解に伴い放出される463nm付近に発光極大を持つ光の発光量



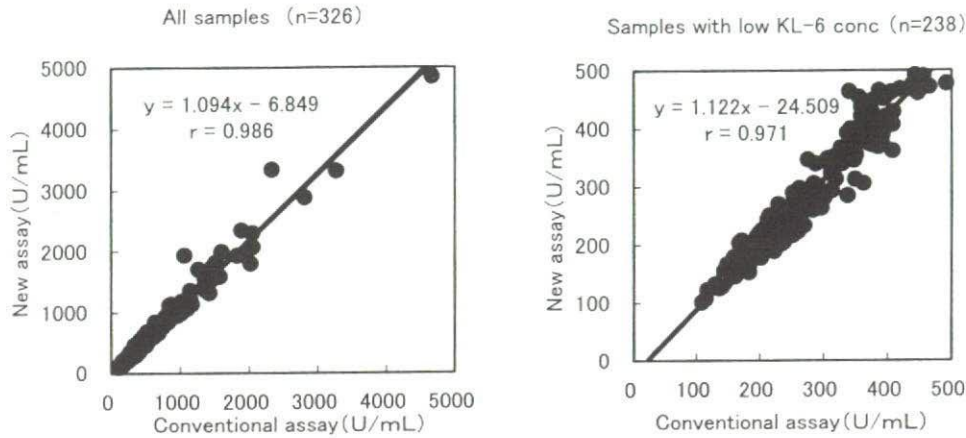


Fig. 1 Correlation of KL-6 levels measured by the new and the conventional assay systems.

を測定する。この発光量から、被検体中のKL-6濃度を算出する。測定範囲は1~10,000U/mLである。

検量線の較正は、試薬ロットごとにあらかじめ登録されているマスターキャリブレーションに対して、0濃度と最高濃度の2濃度のキャリブレーションのみで事前に補正を行う方式である。

## 成 績

### 1. 基礎的検討

#### 1) 再現性試験

濃度の異なる管理検体3例を用いて、6回連続測定を行ったときの同時再現性は、変動係数(CV)1.9~3.3%と良好であった。また、同一試料を6日間連続測定を行ったときの日差再現性は、変動係数(CV)1.8~3.6%と良好であった。なお、キャリブレーションは初日のみ実施した。

#### 2) 感度試験

0濃度キャリブレーションと低濃度希釈系列で各々20回連続測定を行い、その発光量の平均値±3SDを求め、0濃度キャリブレーションの平均値+3SDと希釈系列の平均値-3SDが重ならない最小濃度を検出限界とした。その結果、0.63U/mLと良好であった。

#### 3) 希釈直線性試験

各測定範囲内の2濃度の患者血清を専用希釈液で段階希釈したところ、原点を通る直線性が認められた。

#### 4) 干渉試験

市販の干渉チェック・Aプラス(シスメックス株式会社)を用いて、3濃度の患者プール血清を用いて共存物質の影響を検討した。その結果、ビリルビンF 18.1mg/dL、ビリルビンC 19.5mg/dL、溶血ヘモグロビン 490mg/dLならびに乳び2,290ホルマジン濁度まで測定値への影響は認められなかった。

### 5) 参考基準範囲

肺疾患が認められない健常者169例を用いて測定を行い、対数変換後に得られた平均値±1.96SDによる参考基準範囲は85~371U/mLと従来法と同等の結果であった<sup>5)</sup>。

## 2. 相関性試験

### 1) 従来法との血清相関性試験 (Fig. 1)

患者血清検体326例を用いて、相関性試験を実施した。その結果、測定範囲全域で相関係数0.986、傾き1.094、y切片-6.849と良好であった。また、健常者領域の500U/mL以下においても、相関係数0.971、傾き1.122、y切片-24.509と概ね良好であり、全域および健常者領域ともに従来法測定値との同等性が得られた。

### 2) 血清血漿の相関性試験 (Fig. 2)

本法における血清と血漿との測定値の同等性を検討するため、患者血清・血漿ペア検体225例を用いて、相関性試験を実施した結果、測定範囲全域で相関係数0.997、傾き0.988、y切片-1.211であった。

### 3. 本法および従来法におけるKL-6経過観察比較 (Fig. 3)

経過観察中に病態が改善した患者血清1例を用いて、本法および従来法のKL-6測定値比較を検討したところ、同様の傾向が認められ、本法のKL-6測定値と従来法のKL-6測定値の同等性が確認された。

### 4. 各種疾患検体の測定分布 (Fig. 4)

本法における各種疾患における測定値分布を検討したところ、間質性肺炎で測定値が有意に高い結果が得られ、KL-6は間質性肺炎に特異性が高いことが確認された。

## 考 察

シアロ糖蛋白抗原KL-6 (Sialylated carbohydrate antigen KL-6; KL-6)は、1985年に広島大学河野修興らに

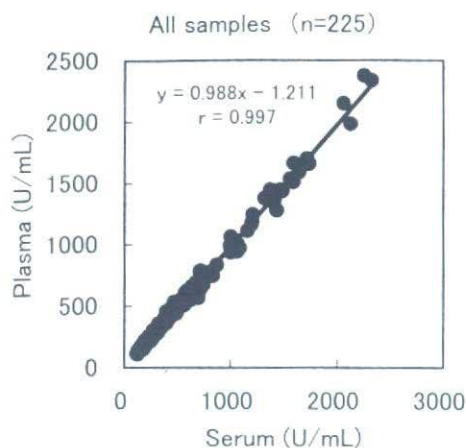


Fig. 2 Comparison of KL-6 levels in sera and plasma measured by the new assay system.

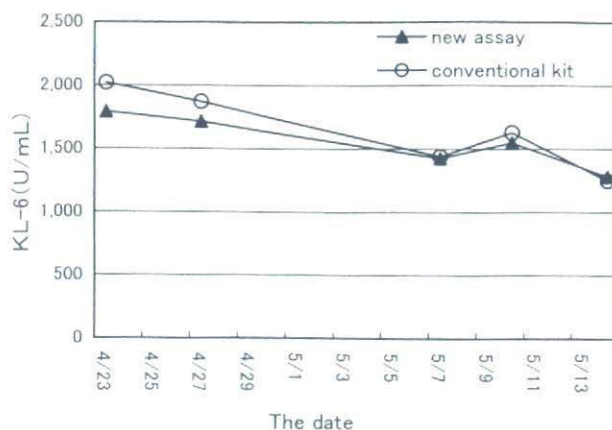


Fig. 3 Comparison of serum KL-6 levels serially measured using both the new and the conventional assay systems in a patient.

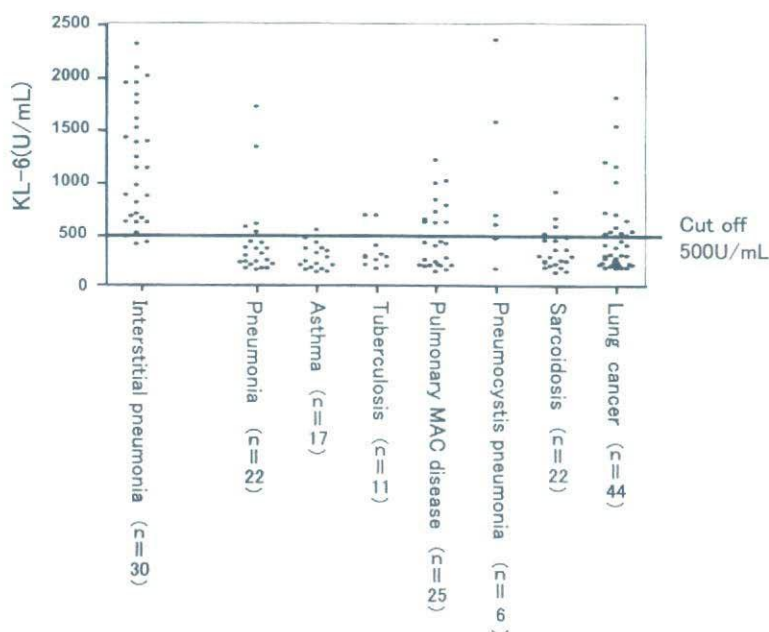


Fig. 4 Serum KL-6 levels in various pulmonary disease measured by the new assay system.

よって開発された抗 KL-6 モノクローナルが認識する肺細胞抗原のクラスター 9 に分類されている MUC-1 に属する膜貫通型ムチンの 1 種である<sup>4)~7)</sup>。通常、KL-6 は I 型肺胞上皮細胞には発現せず、II 型肺胞上皮細胞、呼吸細気管支上皮細胞、気管支腺細胞で正常でも若干発現する分子量 100 万以上の分子である。血清 KL-6 値が間質性肺炎患者において特異的に高値を示し、これは II 型肺胞上皮細胞が過形成により産生が増加し、肺胞上皮—毛細血管バリアの破綻により肺胞被覆液中から容易に血中に移行するためとされる<sup>4)~7)</sup>。これにより間質性肺炎と他疾患との鑑別、間質性肺炎の病態把握（活動期と非

活動期の鑑別）および間質性肺炎の治療経過観察の補助として臨床有用性が認められている<sup>8)~12)</sup>。特に急性増悪時は気胸、肺塞栓、心不全など明らかな他疾患を除外するとともに、KL-6 値の有意な上昇を参考に診断し、早期治療の開始が可能となることから、迅速な KL-6 測定値を得ることが臨床現場で強く要望されていた。

我々は院内に既存の全自動化学発光酵素免疫測定システム「ルミパルス Presto II」に対応した新しい KL-6 測定試薬の検討を実施した。その結果、再現性試験において、同時再現性 CV 1.9~3.3%、日差再現性 CV 1.8~3.6%、感度試験において検出限界感度は 0.63U/mL、希

積直線性試験において原点を通る直線が得られ、干渉試験において影響は認められず、参考基準範囲において従来法と同等の結果が得られ、基礎的な試薬性能は良好であった。また、本法は従来法と同じ抗体を用いているため、従来法との相関性において、相関係数0.986、傾き1.094、 $y$ 切片-6.849と良好で、SPSSによる有意差検定においても有意確率 $<0.05$ で有意に相関しており、本法を用いてもこれまでと同等の測定値を得られ、切り替えるに際しても測定値の継続性が高いことが確認できた。治療経過観察を確認できた1症例における測定値比較においても、従来法との測定値の同等性が得られ、本法が臨床的応用に支障がないことが確認できた。

さらに、各種疾患検体の測定値分布を用いた評価において、測定値が500U/mL以上の症例率は肺炎22.7% (5/22)、喘息5.9% (1/17)、結核18.2% (2/11)、肺MAC症40% (10/25)、ニューモシスチス肺炎66.7% (4/6)、サルコイドーシス13.6% (3/22)、肺癌32.5% (13/40)と比較して、間質性肺炎では80% (24/30)と顕著に高い結果であった。間質性肺炎以外に肺炎、ニューモシスチス肺炎、肺癌など疾患の一部で高い症例が認められたもののSPSSによる有意差検定においてニューモシスチス肺炎 ( $P=0.414$ )を除いて有意確率 $<0.05$ で有意に相関しており、血清KL-6値が間質性肺炎患者において特異的に高値を示すことが確認でき、臨床適用に十分満足できる結果であった。ニューモシスチス肺炎がKL-6高値を示すことは一般に知られているが、MAC症の40%に500U/mL以上を認めたことは、重症度が比較的高い症例が多く、間質の線維化が影響しているものと思われる。今後症例毎の検討を行っていく予定である。

本法は全自動化学発光酵素免疫測定システムであるルミバルス Presto II を用いることにより、検体前処理を含む測定工程が全自動で行われ、簡便かつ迅速に測定することができる。これまで検査センターなど外部への依頼測定のため、確認までに3日以上必要であったKL-6測定値が、本法を院内導入することにより採血から約1時間で得ることが可能になる。そのため、本法を院内導入することにより、迅速な治療が可能になることから、患者への貢献度は非常に高いと考える。

## 引用文献

- 1) 河野修興, 日和田邦男, 小林 淳, 他. 電気化学発光免疫測定法によるKL-6測定キットED066の間質性肺炎に対する診断能. 臨床と研究 1998;75:217-222.
- 2) 西村 順, 伊藤桂子, 浅井義征, 他. 電気化学発光免疫測定法 (Electrochemiluminescence immunoassay : ECLIA 法) を用いたKL-6測定キットの開発と臨床的評価. 分子呼吸器病 1997;1:382-388.
- 3) 竹川啓史, 老田達雄, 柴田洋子, 他. ECLIA法による血清KL-6値測定の検討および臨床的有用性. 医学検査 2001;50:1384-1387.
- 4) Kohno N, Akiyama M, Kyoizumi S, et al. Detection of soluble tumor-associated antigens in sera and effusions using novel monoclonal antibodies, KL-3 and KL-6, against lung adenocarcinoma. Jpn J Clin Oncol 1988;18:203-216.
- 5) Stahel RA, Gilks WR, Lehmann H-P, et al. Third international workshop on lung tumor and differentiation antigens: overview of the results of the central data analysis. Int J Cancer Suppl 1994;8:6-26.
- 6) 河野修興. KL-6. 呼吸 1997;16:391-398.
- 7) Hilken J, Ligtenberg MJL, Vos HL, et al. Cell membrane-associated mucins and their adhesion-modulating property. Trends Biochem Sci 1992;17:359-363.
- 8) Kohno N, Kyoizumi S, Awaya Y, et al. New serum indicator of interstitial pneumonitis activity: sialylated carbohydrate antigen KL-6. Chest 1989;96:68-73.
- 9) Hamada H, Kohno N, Akiyama M, et al. Monitoring of serum KL-6 antigen in a patient with radiation pneumonia. Chest 1992;101:858-860.
- 10) 河野修興. 臨床におけるKL-6の使い方. 日本内科学会雑誌 2007;95:1858-1862.
- 11) 大成洋二郎, 横山洋二郎, 河野修興. 間質性肺炎と血清マーカー. 呼吸 2005;24:308-313.
- 12) Kohno N, Inoue Y, Hamada H, et al. Difference in sero-diagnostic values among KL-6-associated mucins classified as cluster 9. Int J Cancer Suppl 1994;8:81-83.

## Abstract

## Evaluation of KL-6 CLEIA Reagent

Kozo Morimoto, Rie Ishikawa, Atsuko Moriya, Aiko Masunaga, Hiroyuki Kamiya,  
Tsunehiro Ando, Souichiro Ikushima and Masaru Oritsu  
Department of Respiratory Medicine, Japanese Red Cross Medical Center

KL-6 is a high-molecular-weight sialylated glycoprotein, classified as a cluster 9 pulmonary cell antigens, and is a sensitive marker for the clinical diagnosis of interstitial pneumonia and its activity, especially in the acute phase. Additionally, it is necessary to diagnosis that patient was not pneumothirax, pulmonary thromboembolism and heart failure. In this study, we evaluated a new assay system based on chemiluminescence EIA (CLEIA) on a fully automated analyzer. Both plasma and serum samples were used, and the master calibration method was applied, eliminating the need for a standard curve preparation. The assay time was shortened to less than 1 hour. Good correlations were observed between this assay and conventional assay kits,  $y = 1.094x - 6.849$ ,  $r = 0.986$  using 326 samples, and between serum and plasma  $y = 0.997x - 1.211$ ,  $r = 0.997$  using 225 paired samples. In addition, the alteration of KL-6 concentration in patients undergoing chemotherapy treatment resulted in similar results that with conventional kits, and elevated KL-6 concentrations were observed in samples from patients with interstitial pneumonia. These results underscore the usefulness of this new assay kit as a rapid test, particularly for the medical examination of outpatients and the treatment of emergency cases in the acute phase of interstitial pneumonia.

## ●症 例

## 血漿交換にて救命できた ANCA 関連肺胞出血の 1 例

東 正徳<sup>1)</sup> 佐々木 信<sup>1)</sup> 望月 吉郎<sup>1)</sup> 中原 保治<sup>1)</sup> 河村 哲治<sup>1)</sup>  
 西尾 智尋<sup>1)</sup> 塚本 宏壮<sup>1)</sup> 真弓哲一郎<sup>1)</sup> 磯部 尚志<sup>2)</sup>

要旨：症例は 65 歳男性，急速に進行する呼吸困難を主訴に来院。MPO-ANCA 陽性，びまん性肺胞出血を認め ANCA 関連肺胞出血と診断。大量ステロイド・シクロフォスファミド投与を行うも急速に呼吸状態が悪化した。本人，家族の希望で気管内挿管は行わず，血漿交換療法を施行。血漿交換直後より呼吸状態は改善し，血漿交換は計 6 回施行した。その後ステロイドの漸減を行い入院第 66 日には酸素投与を中止できた。ANCA 関連血管炎の肺胞出血では，早期の血漿交換も治療の選択肢の一つにすべきと思われた。

キーワード：MPO-ANCA，ANCA 関連血管炎，肺胞出血，血漿交換

Myeloperoxidase-anti-neutrophil cytoplasmic antibody, ANCA associated vasculitis,  
 Alveolar hemorrhage, Plasmapheresis

## はじめに

ANCA 関連血管炎の肺胞出血は速やかに呼吸不全に進行し，予後不良とされている。治療としてはステロイドバルスや免疫抑制剤を中心とした薬物療法が行われているが，近年血漿交換の有用性も報告されている。我々は肺胞出血を伴う ANCA 関連血管炎に対し，早期に血漿交換を行い，呼吸状態の改善，寛解導入に成功した。早期の血漿交換の有用性について若干の文献的考察を加えて報告する。

## 症 例

症例：65 歳男性 無職。

主訴：急速に進行する呼吸困難 (Hugh-Jones IV\*)。

現病歴：2003 年 11 月頃より両手指のレイノー現象，2004 年 5 月頃より 37 度台の微熱，手指の関節痛・右腓腹筋痛を自覚していた。同年 11 月 12 日より Hugh-Jones II\* の労作時呼吸困難を自覚，3 日後には Hugh-Jones IV\* と急速に悪化したため，11 月 15 日当院外来受診，びまん性すりガラス陰影認め，緊急入院となる。

職業歴：17～24 歳：大工，24～45 歳：船内内装工 (アスベスト曝露あり)，45～60 歳：道路舗装業，以後無職。  
 喫煙歴：なし。

既往歴：H11 年 6 月，肺アスペルギルス症にて右上葉

切除。当時より間質性肺炎を指摘されるも，無治療で経過観察中であった。

家族歴：特記事項なし。

現症：意識清明，身長 145cm，体重 35.1kg，体温 36.7℃，血圧 132/80mmHg，脈拍 96/分，整。表在リンパ節触知せず。心音異常なし。両下肺野で吸気時の fine crackles を聴取。ばち指なし。手指関節腫脹なし。皮疹なし。

入院時検査所見 (Table 1)：白血球の増多と LDH，CRP の上昇を認めたが，腎機能は正常。MPO-ANCA が 205EU と高値を示したが，PR3-ANCA および抗基底膜抗体は陰性であった。室内気で PaO<sub>2</sub> 49.3Torr と低酸素血症を認めた。第 2 病日に行った気管支肺胞洗浄にて好酸球分画，好中球分画の上昇を認め，血性回収液，ヘモジエリン貪食マクロファージ陽性より肺胞出血と診断した。

胸部単純写真 (Fig. 1)：入院 1 カ月前の胸部単純写真と比べ，入院時胸部単純写真ではすりガラス陰影が増強している。

HRCT (Fig. 2)：両肺ほぼびまん性にすりガラス陰影を認め，さらに小粒状影もすりガラス陰影に重積している。すりガラス陰影には収縮傾向があり，内部を走行する気管支には牽引性気管支拡張も見られる。両中下肺野には一見蜂巣肺様の大小種々の肺嚢胞が見られ，また，アスベスト曝露によると考えられる横隔膜の石灰化も認められる。

入院後経過 (Fig. 3)：MPO-ANCA 関連肺胞出血と診断後，メチルプレドニゾロン 1g 静注を 4 日間，シクロフォスファミド 500mg 静注を 1 回行うも，入院 5 日目


〒670-8520 兵庫県姫路市本町 68 番地

<sup>1)</sup> 独立行政法人国立病院機構姫路医療センター内科

<sup>2)</sup> 同 ICU

(受付日平成 18 年 3 月 16 日)

Table 1 Laboratory findings upon admission

WBC	11,000/ $\mu$ L	Anti Jo-1 ab	(-)	BALF (lt. B <sup>4</sup> )	
Eos	3%	Anti Sm ab	(-)	Hemorrhagic flow	
Neu	81%	Anti SS-A ab	< 7 U/mL	Recovery	93/150 mL
Ly	14%	Anti SS-B ab	< 7 U/mL	Total cell count	$7.0 \times 10^5$ /mL
Hb	13.4 g/dL	Anti Scl-70 ab	(-)	Eos	12%
Plt	$39.3 \times 10^4$ / $\mu$ L	MPO-ANCA	205 EU	Neu	18%
TP	8.1 g/dL	PR3-ANCA	< 10 EU	Ly	15%
GOT	24 IU/L	Anti GBM ab	< 10 EU	M $\phi$	55%
GPT	10 IU/L	Urinalysis		Siderophore	
LDH	378 IU/L	protein	(-)	CD4/8	5.76
BUN	13 mg/dL	occult blood	(+/-)	culture (-), Pap. class II	
Cr	0.6 mg/dL	ABG (room air)			
CRP	12.5 mg/dL	pH	7.45		
RF	86 IU/mL	PaCO <sub>2</sub>	36.8 Torr		
ANA	1.80	PaO <sub>2</sub>	49.3 Torr		

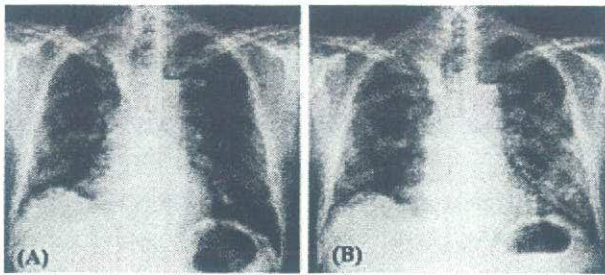


Fig. 1 Chest roentgenogram one month before admission (A) and upon admission (B). (A) The bilateral interstitial shadows were dominant in the lower lung field. (B) The shadows became worse over time.

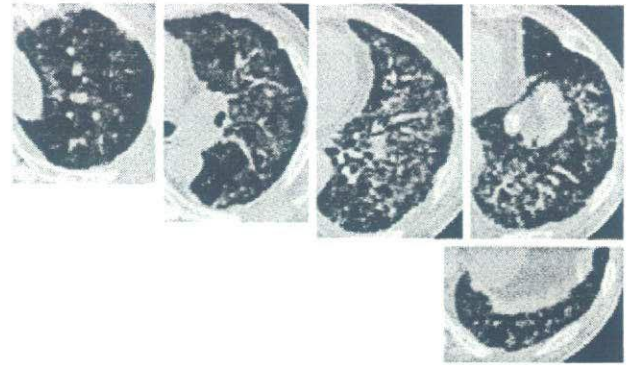


Fig. 2 Chest HRCT scan upon admission showing extensive ground-glass attenuation with traction bronchiectasis and honeycombing.

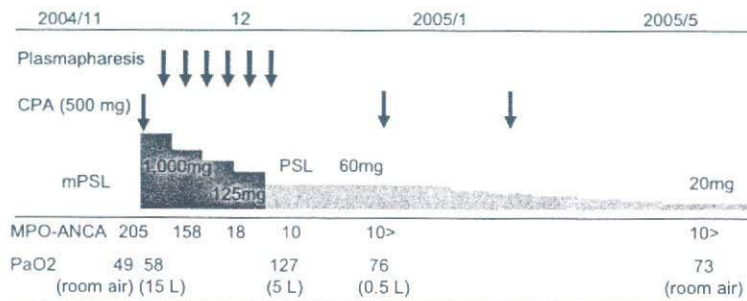


Fig. 3 Clinical course

には O<sub>2</sub> 15L/分にて、PaO<sub>2</sub> 58Torr まで呼吸状態が悪化、またすりガラス陰影の悪化も認めた。本人、家族の希望にて気管内挿管は行わず、呼吸状態の改善を目的として、新鮮凍結血漿を用いて単純血漿交換を計6回施行した。呼吸状態は血漿交換の施行中から改善し、9日後には O<sub>2</sub> 5L/分にて PaO<sub>2</sub> 127Torr と上昇、2カ月後には 0.5L/分

にて PaO<sub>2</sub> 76Torr まで改善した。また MPO-ANCA も1カ月後には陰性化した。シクロフォスファミドは 500mg 静注を1カ月毎に3回投与し、メチルプレドニゾロンの静注後はプレドニゾロン内服を 60mg/日1カ月行った後漸減、20mg/日となった時点で酸素なしで退院とした。退院時の胸部単純写真ならびに HRCT (Fig. 4) では両

Table 2 Comparison of the summary of Klemmer's cases and reported Japanese cases

	Klemmer, 2003	Japanese case reports (including our 3 cases)
Number of patients	20	15
Average age (range)	63 (41 ~ 78)	63 (44 ~ 82)
Sex (male : female)	10 : 10	7 : 8
Diagnosis	17MPA, 2WG, 1CSS	15MPA
Ventilator required	9 (45%)	11 (73%)
Renal function failure	14 (70%)	12 (80%)
Day of first plasmapheresis	day1 ~ 5	day1 ~ 30
Number of plasmapheresis	4 ~ 9	1 ~ 9
m-PSL pulse therapy	20 (100%)	14 (93%)
CPA therapy	pulse: 20 (100%)	pulse: 4 (26%), oral: 3 (20%)
Lung symptom outcome	all resolved (100%)	10 patients resolved (66%)
Death	1 (pulmonary embolism)	7 (3 infection, 2 respiratory failure, 2 MOF)

MPA: microscopic polyangiitis, WG: Wegener's granulomatosis, CSS: Churg-Strauss syndrome, m-PSL: methylprednisolone, CPA: cyclophosphamide, MOF: multiple organ failure

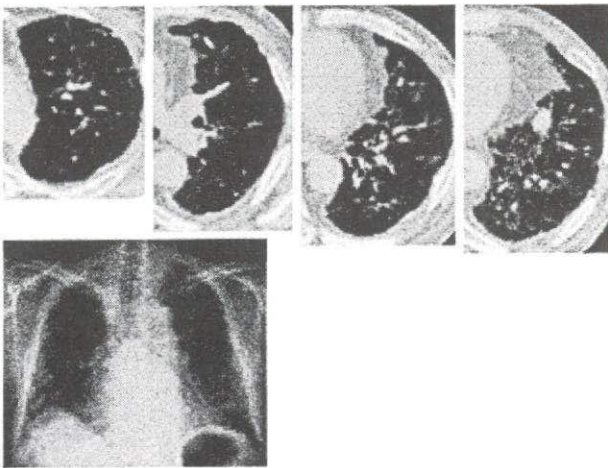


Fig. 4 Chest roentgenogram and HRCT at discharge.

肺はほぼびまん性に見られていたすりガラス陰影の明らかな改善を認めた。

### 考 察

ANCA 関連血管炎の肺胞出血は速やかに呼吸不全に進行し、予後不良とされており、Lauque らによると死亡率は 31% と報告されている<sup>1)</sup>。厚生労働省班会議により作製された ANCA 関連血管炎の治療指針<sup>2)</sup>によると本症例のような肺胞出血型は、初期治療としてプレドニゾロン 60mg/日程度投与またはステロイドパルス、さらにシクロホスファミドを併用し、寛解導入を目指すとしており、血漿交換は、高齢者や感染リスクの高い場合にシクロホスファミドの代わりに行う、もしくは腎機能障害が高度の場合に行うとされている。自己免疫疾

患で血漿交換の有効性が確立しているのは悪性関節リウマチや全身性エリテマトーデスなどの一部であり<sup>3)</sup>、顕微鏡的多発血管炎や ANCA 関連血管炎に対しては未だ評価は一定していない。

近年、ANCA 関連血管炎の肺胞出血に対して血漿交換が有効であるという報告が散見されるようになった。血漿交換の肺胞出血に及ぼす機序は十分解明されていないが、ANCA の存在が血管炎の発症に直接関与することが報告<sup>4)</sup>されており、血漿交換により ANCA を速やかに除去することにより、肺血管炎ならびに肺胞出血をコントロールできる可能性があると示唆する報告<sup>5)</sup>もある。

Klemmer らは ANCA 関連血管炎による肺胞出血症例 20 例の検討で血漿交換が全例で肺病変に有用であった<sup>3)</sup>と報告している。Klemmer ら<sup>5)</sup>の単一施設 20 症例の概要と本邦で文献報告された肺胞出血<sup>6)~16)</sup>症例のまとめを Table 2 に示した。Klemmer らの報告では入院から平均 2 日目と早期に血漿交換が施行されており、人工呼吸管理が必要だった症例も 20 症例中 9 例と少ない、また全例でステロイドパルスとシクロホスファミドの併用が行われている。重症度の違いやフォローアップの期間が短いこともあるが、この報告では肺病変が全例改善したとしており、死亡例は肺梗塞の合併 1 例だけであった。

一方、本邦での報告では血漿交換の施行時期が肺胞出血を認めて直後のものから、1 カ月後のものまでばらつきがあり、多くの症例で人工呼吸管理を必要としていた。シクロホスファミドの使用も約半数にとどまっている。血漿交換により、呼吸状態の改善や MPO-ANCA の陰性化など、一応の効果があつたとするものが多いが、感

染症などによる死亡例が多くみられた<sup>10)11)13)~16)</sup>。Klemmer らの報告に比べ、本邦例の成績が好ましくない理由としては、重症例が多い、血漿交換導入の時期が遅い、などが考えられるが不明である。血漿交換の有効性については厳密な臨床試験が必要であり、血漿交換に伴うウイルス感染のリスクや、高コストなどの問題点はあるが、高用量のステロイドならびにシクロフォスファミドの使用で呼吸不全が悪化する症例については、強力な免疫抑制療法だけでは感染症のリスクが高まることを念頭におけば、早急に血漿交換を行うことも治療の選択肢の一つになりえるものと考えられた。

なお本論文の要旨は第 65 回日本呼吸器学会近畿地方会にて発表した。

### 文 献

- 1) Lauque D, Cadranel J, Lazor R, et al. Microscopic polyangiitis with alveolar hemorrhage. A study of 29 cases and review of the literature. *Medicine* 2000; 79: 222—233.
- 2) 厚生科学研究特定疾患対策研究事業 難治性血管炎に関する調査研究班. ANCA 関連血管炎の治療指針 (2001 年). 難治性血管炎の診療マニュアル. 厚生科学研究特定疾患対策研究事業 難治性血管炎に関する調査研究班 事務局, 2002; 50—51.
- 3) 織田成人. 血液浄化法. 杉本恒明, 小俣政男, 水野美邦編. 内科学 第 8 版. 朝倉書店, 東京, 2003; 261—266.
- 4) Falk RJ, Jennette JC. ANCA are pathogenic Oh yes they are! *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1977—1979.
- 5) Klemmer PJ, Chalermkulrat W, Reif MS, et al. Plasmapheresis Therapy for Diffuse Alveolar Hemorrhage in Patients With Small-Vessel Vasculitis. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 1149—1153.
- 6) 棚橋順治, 加古英介, 山内浩揮, 他. 血漿交換が有効であった顕微鏡的多発血管炎 (MPA) の 2 重症

- 例. *ICU と CCU* 2005; 29: S202—S204.
- 7) 大眉寿々子, 倉石 博, 斉藤郁子, 他. 抗好中球細胞質抗体関連血管炎症候群の 2 例. *日臨救医誌* 2002; 5: 329—335.
- 8) 南 聡, 河野啓一, 上條浩司, 他. 血漿交換 (PE) が著効した MPO-ANCA 関連肺腎症候群の 1 例. *長野県透析研究会誌* 2003; 26: 51—54.
- 9) 佐々木るみ枝, 駄賀晴子, 北原良洋, 他. 血痰や咯血とともに急性呼吸不全を呈した P-ANCA 陽性肺腎症候群の 2 例. *日胸* 2002; 61: 338—345.
- 10) 中島英明, 宮崎睦雄, 今井信行, 他. 肺胞出血合併 MPO-ANCA 関連腎炎を呈した珪肺症の 1 例. *日腎会誌* 2001; 43: 351—356.
- 11) 板倉康太郎, 熊谷浩司, 内田継躬, 他. 肺内炎症性偽腫瘍が先行し, びまん性肺胞出血と腎不全を来たした顕微鏡的多発血管炎 (MPA) の 1 例. *呼吸* 2003; 22: 75—81.
- 12) 大西基喜, 水村泰治. p-ANCA 陽性で著明な肺出血と半月体形成性糸球体腎炎を呈した Microscopic Polyangiitis の 1 例. *日総合診療医会誌* 1999; 4: 13—19.
- 13) 中村博幸, 小林克行, 土田文宏, 他. 顕微鏡的多発血管炎による肺胞出血. *総合臨床* 2003; 52: 1781—1785.
- 14) Saito T, Tsuchiya M, Shikata C, et al. Microscopic Polyangiitis Associated with Marked Systemic Bleeding Tendency Caused by Disseminated Intravascular Coagulation. *Intern Med* 2003; 42: 850—855.
- 15) 仁保誠治, 横田幸弘, 竹本 剛, 他. MPO-ANCA が高値を呈し肺出血をきたした 2 例. *日胸疾会誌* 1997; 35: 111—116.
- 16) 岡田保誠, 繁田正毅, 稲川博司, 他. 重症抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 関連肺腎症候群の臨床的検討. *日臨救医誌* 1999; 2: 443—449.



## Abstract

## A case of ANCA-associated vasculitis with diffuse alveolar hemorrhage successfully treated by plasmapheresis

Masanori Azuma<sup>1)</sup>, Shin Sasaki<sup>1)</sup>, Yoshiro Mochiduki<sup>1)</sup>, Yasuharu Nakahara<sup>1)</sup>,  
Tetsuji Kawamura<sup>1)</sup>, Chihiro Nishio<sup>1)</sup>, Hiroaki Tukamoto<sup>1)</sup>,  
Tetsuichiro Mayumi<sup>1)</sup> and Hisashi Isobe<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Internal Medicine,

<sup>2)</sup>Intensive Care Unit, National Hospital Organization Himeji Medical Center

A 65-year-old man was admitted due to rapidly progressing dyspnea experienced over a 3-day period. Chest radiography and computed tomography conducted upon admission showed diffuse bilateral interstitial infiltrate. Bronchoalveolar lavage fluid contained blood and siderophores, which suggested pulmonary alveolar hemorrhage. Laboratory data showed that the serum MPO-ANCA level was elevated, and so ANCA-associated pulmonary hemorrhage was diagnosed. Although aggressive immunosuppressive agents were administered, including steroids and cyclophosphamides, the patient's condition worsened. Plasmapheresis using fresh frozen plasma was performed on day 5, after which his symptoms improved dramatically. Plasmapheresis was done 6 times, and the pulmonary lesions resolved. The patient was discharged 6 months later. This case report suggests that plasmapheresis may be an effective treatment for ANCA-associated vasculitis with diffuse alveolar hemorrhage that is resistant to aggressive immunosuppressive therapy.

## ●症 例

## 柴苓湯による薬剤性肺炎の1例

宮川 倫子 望月 吉郎 中原 保治 河村 哲治  
佐々木 信 塚本 宏壮 田畑 寿子 岡田 秀明

要旨：症例は38歳男性，近医で突発性難聴にて柴苓湯を投与され，約40日後より咳嗽・労作時呼吸困難出現．肺炎の診断にて抗菌薬を投与されるも改善せず，当院紹介となった．抗菌薬が無効であり，胸部CTにて両側にスリガラス状濃度上昇及び浸潤影を認め，血液検査では白血球上昇，肝機能障害を認めたことから薬剤性肺炎を疑い全ての薬剤を中止したところ速やかに状態は改善した．柴苓湯に対するリンパ球幼若化テストが陽性であり，柴苓湯以外の被疑薬を再開しても症状の増悪を認めなかったことから柴苓湯による薬剤性肺炎と診断した．

キーワード：薬剤性肺炎，柴苓湯，リンパ球幼若化試験（DLST），胸部CT所見，小柴胡湯

Drug-induced pneumonitis, Sai-rei-to, Drug lymphocyte stimulation test,  
Chest CT findings, Sho-saiko-to

薬剤性肺炎の報告について，本邦では1980年以前には抗癌剤や免疫抑制剤によるものが多かったが，その後抗菌薬や抗癌剤に起因する症例の報告が増加している<sup>1)</sup>．本邦における漢方薬による薬剤性肺炎の報告は1989年の築山らによる小柴胡湯の症例を始めとして<sup>2)</sup>，以後報告数が増えている．今回我々は柴苓湯による薬剤性肺炎の1例を経験したので報告する．

## 症 例

38歳，男性．

主訴：咳嗽，呼吸困難感．

既往歴：気管支喘息やアトピー等のアレルギーなし．

家族歴：同時期に長男がマイコプラズマ肺炎．

生活歴：喫煙歴：20本/日×20年，職業歴：電気技師．

飲酒歴：ビール2缶を週に2回，ペット飼育歴：なし．

住居：日当たり良好，湿気少ない，木造築10年，海外渡航歴：なし．

現病歴：突発性難聴のため近医耳鼻科にてアデノシン三リン酸二ナトリウム，メコバラミンの投与を受けたが症状改善しないため，1カ月後に柴苓湯が追加投与された．約40日後より咳嗽出現，次第に労作時呼吸困難感を伴うようになり，近医内科受診．肺炎の診断でアジスロマイシン，塩酸セフカペンピボキシル，レボフロキサシン，ガチフロキサシンを順次投薬されるも症状改善せ

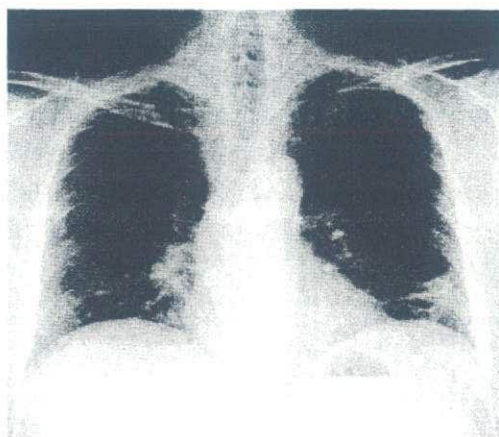


Fig. 1 Chest X-ray on admission showed bilateral ground-glass appearance and consolidation with a decrease in volume of both lung fields.

ず，当院紹介．画像上両肺に斑状影，スリガラス影を認め，精査・加療目的にて入院となった．

理学所見：身長167cm，体重76kg，体温36.4℃，血圧128/94mmHg，脈拍85回/分・整，皮疹なし，チアノーゼなし，浮腫なし，パチ状指なし，関節変形・腫張なし，表在リンパ節触知せず，甲状腺腫なし，心雑音なし，ラ音聴取せず，腹部異常なし，神経学的異常なし．

初診時胸部単純写真（Fig.1）：下肺野優位のすりガラス状陰影・浸潤影と容積減少あり．

初診時胸部HRCT（Fig.2）：両肺びまん性にスリガラス状濃度上昇および，散在性に斑状・索状の濃度上昇あり．

〒670-8520 兵庫県姫路市本町68番地

独立行政法人国立病院機構姫路医療センター呼吸器内科

（受付日平成20年6月4日）



Fig. 2 Chest CT on admission showed ground-glass opacity (GGO) and consolidation in both lung fields.

Table 1 Laboratory findings on admission and on day 15

<u>Hematology</u>		<u>Blood Gas Analysis on day 1 (room air)</u>	
WBC	12,600/ $\mu$ l	pH	7.441
Neut	62.9%	PaO <sub>2</sub>	56.5 Torr
Eos	4.1%	PaCO <sub>2</sub>	37.7 Torr
Baso	1.6%	<u>Blood Gas Analysis on day 1 (room air)</u>	
Lym	25.2%	pH	7.433
Mono	6.2%	PaO <sub>2</sub>	85.6 Torr
RBC	541 $\times 10^4$ / $\mu$ l	PaCO <sub>2</sub>	37.6 Torr
Hb	16.2 g/dl	<u>Pulmonary Function Test on day 1</u>	
Ht	47.2%	VC	2.89 l
Plt	425 $\times 10^4$ / $\mu$ l	%VC	73.5%
<u>Biochemistry</u>		FEV <sub>10</sub>	1.81 l
TP	8.2 g/dl	FEV1.0%	65.3%
T-Bil	0.7 mg/dl	%DLco	45.9%
AST	88 IU/l	<u>Pulmonary Function Test on day 15</u>	
ALT	187 IU/l	VC	4.15 l
LDH	430 IU/l	%VC	105.6%
ALP	1,023 IU/l	FEV <sub>10</sub>	3.49 l
BUN	10 mg/dl	FEV1.0%	80.2%
Cr	0.9 mg/dl	<u>BALF analysis (rt B<sup>3</sup>)</u>	
<u>Serology</u>		Recovery	18/100 ml
CRP	1.67 mg/dl	Total cell counts	2.5 $\times 10^5$ /ml
IgE	32 IU/ml	Eos	1%
$\beta$ -D-glucan	5.8 pg/ml	Neu	18%
HCV3-Ab	( - )	Lym	33%
HBS-Ag	( - )	M $\phi$	48%
ImmunoCard Mycoplasma rapid test ( - )		CD4/CD8	0.16
KL-6	849 U/ml	TBLB	
SP-D	49.8 ng/ml	Nonspecific inflammation	
RF	4.3 IU/ml		
Anti-Sm	< 7 U/ml		
Anti-SS-A	< 7 U/ml		
Anti-SS-B	< 7 U/ml		
Anti-Scl-70	< 7 U/ml		
Anti-Jo-1	< 7 U/ml		
ANA	( - )		



Fig. 3 Chest X-ray and CT on day 16 revealed improvement of the consolidation and GGO.

Table 2 Results of DLST

Drug	SI (%)	Result
azithromycin (AZM)		
cefcape pivoxil hydrochloride (CFPN-PI)	108	(-)
levofloxacin (LVFX)	102	(-)
Gatifloxacin hydrate (GFLX)	98	(-)
adenosine triphosphate disodium (ATP)	89	(-)
mecobalamin	142	(-)
Sai-rei-to	181	(-)

初診時検査成績 (Table 1) : AST 88IU/l, ALT 187 IU/l と上昇を認めた。PaO<sub>2</sub> 56.5Torr, PaCO<sub>2</sub> 37.7Torr とI型呼吸不全を呈しており、呼吸機能では%VC 73.5%, FEV<sub>10</sub>% 65.3% と低下していた。

### 経過

抗菌薬が無効で、両側性スリガラス陰影主体の画像所見を呈していたことから薬剤性肺炎を疑い、アデノシン三リン酸二ナトリウム、メコバラミン、柴苓湯を中止。入院第1病日に気管支鏡検査を施行した。右B'で行った気管支肺胞洗浄は回収率が18/100mlと不良で参考値となるが、総細胞数とリンパ球の軽度増加を認めた。病原体は認めず、細胞診も陰性であった。経気管支肺生検では非特異的炎症所見を認めたのみであった。薬剤中止後、徐々に咳嗽、呼吸困難は改善。第15病日にはPaO<sub>2</sub>がroom airで85.6Torrに改善した。同日施行した呼吸機能検査 (Table 1) でも著明な改善を認めたが、これは胸部陰影 (Fig. 3) の変化や呼吸状態の変化を考慮すると禁煙による効果より、薬剤中止による効果と考えた。投与薬剤に対するリンパ球幼若化試験 (drug lymphocyte stimulating test 以下 DLST) を施行したが、柴苓

湯のみが陽性であった (Table 2)。また耳鳴・眩暈などの突発性難聴の症状が再燃したことから、アデノシン三リン酸二ナトリウム、メコバラミンを再開したが、再燃を認めなかった。入院後に改善したことから、過敏性肺臓炎の可能性も考慮し帰宅試験を行ったが陰性であり、過敏性肺臓炎は否定的であった。以上の臨床経過より柴苓湯による薬剤性肺炎と診断した。

### 考察

薬剤性肺炎の診断に特異的なものはなく、臨床的な経過や所見と除外診断によってなされる。因果関係を確認するための薬剤誘発試験 (チャレンジテスト) は倫理的問題からその実施は限られる。

日本呼吸器学会ガイドラインによる薬剤性肺炎の田村らの診断基準<sup>3)</sup>では (1) 薬物開始後 (1~6 週) に肺障害を認める (2) 初発症状として発熱、咳、呼吸困難、発疹 (2 項目以上を陽性とする) (3) 末梢血液像に白血球増多または好酸球増多を認める (4) 薬剤感受性テスト (DLST, パッチテスト) が陽性である (5) 偶発の再投与により肺障害が再現する。のうち (1) (4) または (1) (5) を満たすものを確診としているが、本例では (1)~ (4) を満たしており、さらに他の被疑薬の再投与試験が陰性であったことから柴苓湯による薬剤性肺炎と診断した。

1998 年の厚生省・医薬品等安全性情報<sup>4)</sup>と寺田らによる 35 例の review<sup>5)</sup>によると、漢方薬による薬剤性肺炎の報告としては小柴胡湯が 138 例と最も多く、次いで柴苓湯、柴朴湯などであった。柴苓湯による薬剤性肺炎について本邦の詳細な報告例は調べた限りでは、10 例であった。自験例も含めた 11 例の臨床像を Table 3 に示す。発症年齢は 38 歳から 77 歳、発症までの薬剤投与期