

はじめに

疾患の診断マーカーとして血清中の蛋白濃度が古くから用いられ、常に新規マーカーが探索されている。その際に重要な点は、その疾患の特異的効果細胞は何かということである。なぜならその細胞が発現する遺伝子や蛋白が、疾患特異的マーカーの候補となる可能性が高いからである。サルコイドーシスで病巣に集積する炎症細胞の主体は、T細胞とマクロファージ系細胞である。疾患特異性が高いのは類上皮細胞であるが、臨床的に入手することは必ずしも容易ではない。したがって気管支肺胞洗浄によって得られる肺胞マクロファージを代替細胞として、適当なマーカーを検索することが実際的である。

これまで我々はサルコイドーシス患者肺胞マクロファージの発現遺伝子レベルで、疾患感受性遺伝子のスクリーニングを行う言わばtranscriptome scanを試みて来た。その結果対照との比較で3番目に強い遺伝子発現を示したのとして、cathepsin S (CTSS)を見出した。昨年は各種間質性肺炎、肺癌、COPD、気管支喘息患者を対照とすると、その血清濃度がサルコイドーシスの診断に関して良好な特異性を示すことを見出した。古典的なマーカーであるACEも同様であり、結局のところ血清ACE活性は特異性を担保するものとして、CTSS濃度はさらに感度を向上させるために、両者を補完的に利用することが有用であるとの結果を得た。

診断マーカーとしての有用性を突き詰める際、ACEの意義を意識せざるを得ない。血清ACE活性

はこれまでの報告で塵肺、肝硬変症、甲状腺機能亢進症でも上昇することが分かっている。また画像上サルコイドーシスと肺抗酸菌症はしばしばその鑑別が問題となる。そこで今年度はそれらの疾患における血清CTSS濃度を測定し、CTSSのサルコイドーシス特異性についてさらに詳細に検討することを目的とした。

対象・方法

対象は健常者29名、サルコイドーシス患者54名。疾患対照として、特発性間質性肺炎患者19名(UIP, NSIP, OPを含む)、肺癌患者11名、慢性閉塞性肺疾患患者12名、喘息患者22名、塵肺患者150名、肝硬変症患者20名、甲状腺機能亢進症患者19名、肺抗酸菌症患者17名である(表1)。

血清CTSS濃度はHuman Cathepsin S Duo Set[®] (R & D)を用いて、300倍に希釈後測定した。血清ACE活性はACE Color[®] (Fuji Rebio)を用いて測定した。

各群の血清CTSS濃度の比較は、全体でKruskal-Wallis検定後、2群間の個別の比較はMann-Whitney検定で評価した。CTSSとACEの相関は、Spearman's rank correlation coefficientを用いて検定した。サルコイドーシスと他疾患を鑑別する上での感度、特異度はReceiver Operating Characteristics Analysisにより求めた。

本研究は「アレルギー性呼吸器疾患の遺伝素因に関する研究」として、本学医学部の倫理委員会により承認されている。

表1. 対象

	n	(男, 女)	年齢中央値 (歳)	[範囲 (歳)]
健常対照	29	(14, 15)	22	[20-31]
サルコイドーシス	54	(17, 37)	54	[23-84]
特発性間質性肺炎	19	(10, 9)	74	[56-86]
肺癌	11	(7, 4)	71	[41-79]
COPD	12	(10, 2)	63	[64-78]
気管支喘息	22	(10, 12)	57	[23-87]
塵肺	150	(150, 0)	76	[54, 93]
肝硬変症	20	(12, 8)	68	[43-83]
甲状腺機能亢進症	19	(5, 14)	36	[20-72]
肺抗酸菌症	17	(10, 7)	73	[45-83]

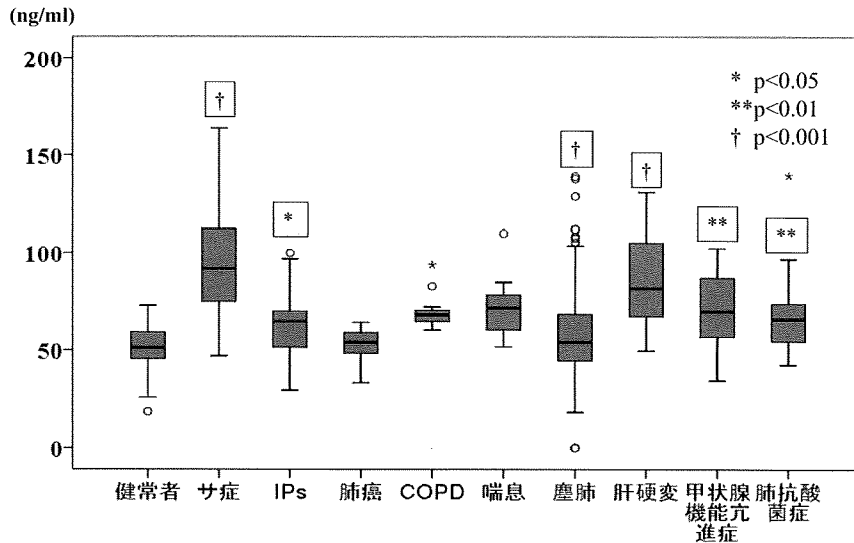


図1. 血清CTSS濃度 (健常者との比較)

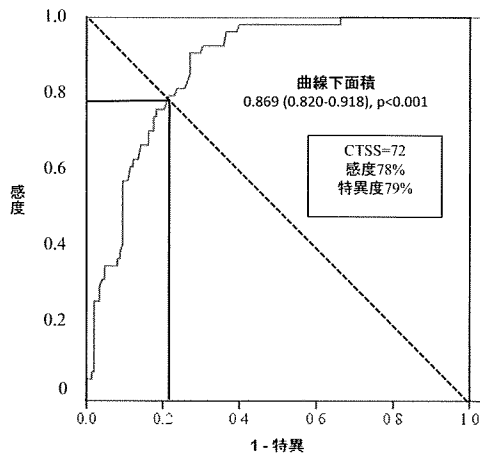


図2. サルコイドーシスと塵肺の血清CTSS濃度ROCカーブ

結 果

健常群を含めた全10群の血清CTSS濃度は(Figure 1), 全体として高度な有意差を認めた($p<0.0001$). 健常群では中央値が52 ng/mlであるのに対して, サルコイドーシスでは92 ng/mlであり, 両群間に高度な有意差を認め, また両群の値の重なりは少なかった(図1). 一方今回追加した4群いずれも健常者より上昇していた. 特に肝硬変症はサルコイドーシス群を除くと最も高い中央値82 ng/mlを示し, 肺抗酸菌症($p<0.05$), 塵肺($p<0.0001$), 肺癌($p<0.0001$), 特発性間質性肺炎($p<0.01$)より有意に高値であった. 多数試料を収集することができた塵肺について, 管理区分とCTSS濃度との関連を検討したが, 各区分間で有意な変動は確認されなかった(結果非提示). サルコイドーシスでは, 肝硬変症を除く他の対照

疾患群より血清CTSS値は有意に高値であった(特発性間質性肺炎, $p<0.05$; 肺癌 $p<0.01$; COPD, $p<0.01$; 喘息, $p<0.001$; 塵肺, $p<0.001$; 甲状腺機能亢進症, $p<0.01$; 肺抗酸菌症, $p<0.01$). サルコイドーシスと各疾患対照群の値の重なりは, 塵肺患者の一部と肝硬変症患者の間でみられた(図1).

サルコイドーシスの鑑別診断の対象として, 塵肺は時に重要である. 今回の検討で塵肺患者ではCTSS濃度は全体として健常対照より有意な上昇を示さなかった. しかし一部にサルコイドーシスと同レベルの高値を示す患者が存在したことから, 二つの疾患を対象としてROCカーブによる解析を行った. その結果, サルコイドーシスの診断に関して曲線下面積(AUC)は0.869 ($p<0.001$)と十分に高値であり, CTSS濃度72ng/mlにおける感度は78%, 特異度は79%であった(図2). 同様にサルコイドーシス

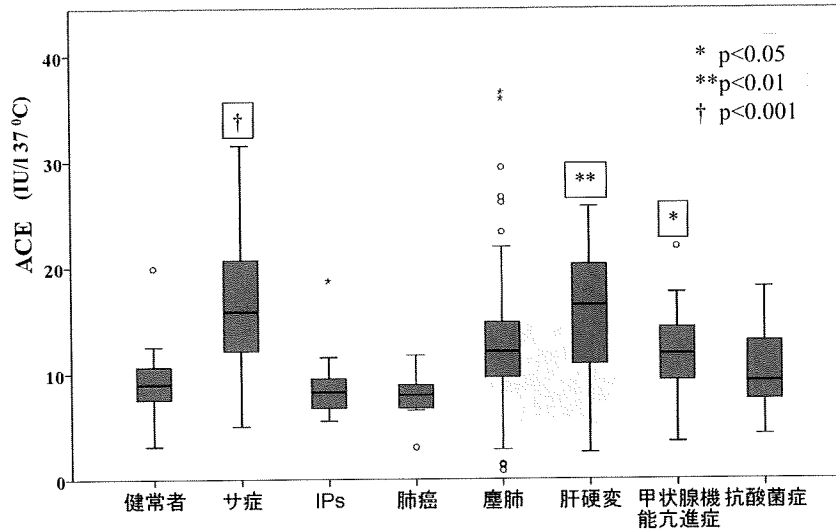


図3. 血清ACE活性 (健常者との比較)

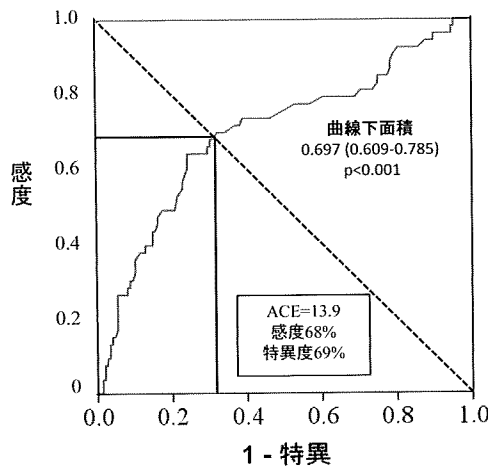


図4. サルコイドーシスと塵肺の血清ACE活性ROCカーブ

と肺抗酸菌症の鑑別に関して、AUCは0.795、CTSS濃度 74ng/mlにおける感度は76%、特異度は77%であった。

血清ACE活性は健常者と比較して今回新たに追加した疾患対照のうち、肝硬変症と甲状腺機能亢進症で上昇していた(図3)。しかし塵肺患者ではCTSS同様に変動が大きく、全体として有意な上昇は認めなかった。サルコイドーシスでは、肝硬変症を除く他の対照疾患群(喘息、COPD患者では未測定)より血清ACE活性は有意に高値であった(特発性間質性肺炎、 $p<0.001$; 肺癌 $p<0.001$; 塵肺、 $p<0.001$; 甲状腺機能亢進症、 $p<0.01$; 肺抗酸菌症、 $p<0.001$)。

CTSS同様に塵肺とサルコイドーシスとの鑑別に関して、ACE活性のROCカーブによる解析を行うと、曲線下面積は0.697($p<0.001$)で、ACE活性13.9

IU/l 37°Cにおける感度は68%、特異度は69%とやや低値であった(図4)。曲線下面積は、CTSS濃度より有意に低かった($p<0.05$)。同様にサルコイドーシスと肺抗酸菌症の鑑別に関して、AUCは0.799 (0.687-0.911)、ACE活性13.1 IU/l 37°Cにおける感度は74%、特異度は77%でCTSSとほぼ同じであった。

血清CTSS濃度と血清ACE活性は、健常者と全患者を含めると全体として有意な相関を示した($\rho=0.371$, $p<0.0001$, 図5)。しかしその相関係数はさほど高値ではなく、両者が高い領域では分布が拡散する様相を示した。

考案

CTSSはシステイン蛋白分解酵素の一つで、他の

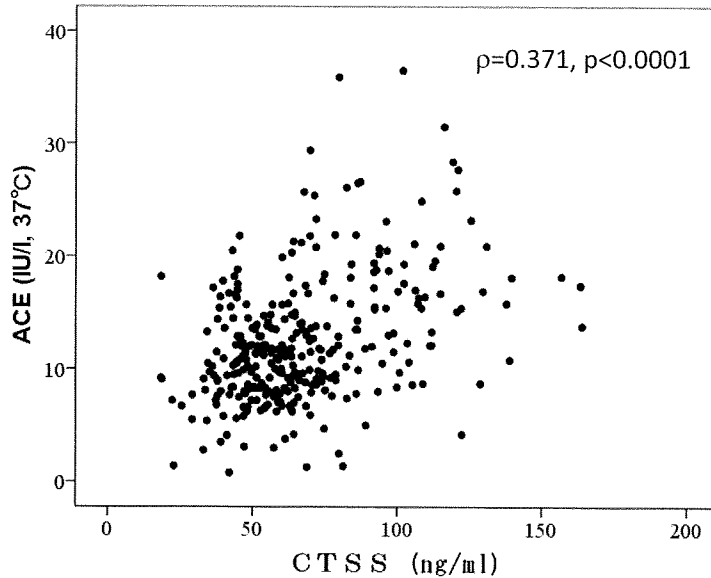


図5. 血清ACE活性とCTSS濃度の相関

カテプシンと同じ基質特異性を持つ。主としてマクロファージ系細胞で当初前駆体として産生され、早期活性化が防止されると共にその立体構造が保持される。小胞体からゴルジ体を経てエンドゾームに移行してからN端の一部が酵素的に切断されて活性化し、クラスII分子と結合している不変鎖(Ii)を分解し、CLIP (class-II-associated invariant chain peptide)を残す。その後CLIPも分解されクラスII分子は抗原ペプチドと結合することができるようになり、抗原はT細胞に提示される。CTSSはIFN- γ によりその発現が誘導される²⁾。サルコイドーシスにおいてIFN- γ の産生亢進は強固な事実であり、その結果としてサルコイドーシス肺泡マクロファージでのCTSS遺伝子発現亢進が確認されたのは、矛盾のない現象であった。

一般に多くの血清マーカーは、時を経て検討が進めば種々の疾患で上昇することが明らかとなり、当初報告された高い特異性は低下することが通例である。ACEも同様であり、サルコイドーシスでその活性上昇が見出されて10年後に、甲状腺機能亢進症での上昇が報告された³⁾。その後動物実験にて、人為的に甲状腺ホルモン濃度を変動させることにより、ヒトと同様に血清ACE活性が変動すること⁴⁾、別の動物実験では甲状腺ホルモン濃度の上昇は、腎組織のACE活性の上昇と関連していること⁵⁾などが示されている。また珪肺や粟粒結核で血清ACE活性と蛋白濃度は上昇するが、空洞性肺結核やCOPD

では変化を認めないことの報告もなされた⁶⁾。さらに慢性肝炎や肝硬変症でも血清ACE活性が上昇し、診断におけるウェイトが大きいことが報告されたのは早くも1991年であった⁷⁾。

本年度の研究では、血清ACE活性が上昇する上記の疾患を含む4疾患を対象に、血清CTSS濃度を測定した。その結果すべての新規対照疾患で、健常者と比較して上昇していた。したがって血清CTSSの疾患特異性はACE同様さほど高くはないことが判明した。しかしサルコイドーシスは肝硬変症を除く他の3疾患より高いCTSS濃度を示し、一定のカットオフ値を設定することにより鑑別に役立つことが示唆された。実際にROCカーブ解析によって、塵肺との鑑別に際してCTSSはACEより勝っていた。

肝硬変症ではサルコイドーシスと有意差がない程度に血清CTSS濃度が上昇していた。しかし臨床上肝硬変症がサルコイドーシスの鑑別対象となる訳ではない。甲状腺機能亢進症も同様である。したがってこの現象の臨床的意義は、サルコイドーシスにこれらの疾患が合併している際に注意が必要となるということである。

CTSS濃度とACE活性は全体として有意に相関していた。しかしその程度は弱く、両者が別の機序でその発現が制御されていることを示唆している。今後それを明らかにすることが、さらに特異性の高いサルコイドーシスの疾患マーカーの発見につながる可能性がある。

謝 辞

本研究の実施に際して、塵肺患者試料の収集には北海道中央労災病院木村清延院長と大塚義紀内科部長の、肝硬変患者試料の収集には愛知医科大学消化器内科米田政志教授と中尾春壽准教授の、甲状腺機能亢進症患者試料の収集には愛知医科大学内分泌糖尿病内科高木潤子准教授の多大なるご協力をいただいたことに深甚なる謝意を表す。

文 献

- 1) Hsing L, Rudensky A. The lysosomal cysteine proteases in MHC class II antigen presentation. *Immunol Rev* 207: 229-241, 2005.
- 2) Cao H, Wolff RG, Meltzer MS, Crawford RM. Differential regulation of class II MHC determinants on macrophages by IFN- γ and IL-4. *J Immunol* 143: 3524-3531, 1989.
- 3) Yotsumoto H, Imai Y, Kuzuya N, Uchimura H, Matsuzaki F. Increased levels of serum angiotensin-converting enzyme activity in hyperthyroidism. *Ann Intern Med* 96:326-8, 1982.
- 4) Carneiro-Ramos MS, Silva VB, Santos RA, Barreto-Chaves ML. Tissue-specific modulation of angiotensin-converting enzyme (ACE) in hyperthyroidism. *Peptides* 27:2942-9, 2006.
- 5) Serum angiotensin-converting enzyme and plasma atrial natriuretic peptide levels in hyperthyroid and hypothyroid rabbits. Yeğin E, Yigitoğlu R, Ari Z, Celik I, Akçay F, Sützek H. *Jpn Heart J* 38:273-9, 1997.
- 6) Brice EA, Friedlander W, Bateman ED, Kirsch RE. Serum angiotensin-converting enzyme activity, concentration, and specific activity in granulomatous interstitial lung disease, tuberculosis, and COPD. *Chest* 107:706-10, 1995.
- 7) Sakata T, Takenaga N, Endoh T, Wada O, Matsuki K. Diagnostic significance of serum angiotensin-converting enzyme activity in biochemical tests with special reference of chronic liver diseases. *Jpn J Med* 30:402-7, 1991.

ガレクチン9-Tim-3回路によるTh1免疫反応の調節異常とサルコイドーシス

萬 巴里子¹ 峰岸 佳菜¹ 鈴木 好美¹ 古澤 春彦²
池田 聡¹ 内田 佳介¹ 古川あすか¹ 関根 正喜¹
裴 有安¹ 田村 友樹¹ 稲瀬 直彦² 生島壮一郎³
折津 愈³ 平島 光臣⁴ 武村 民子⁵ 江石 義信^{1*}

【背景】 ガレクチン9はTh1表面分子Tim-3に結合してTh1免疫反応を抑制的に調節する。本研究ではサルコイドーシス患者におけるガレクチン9とTim-3の発現解析を行い、本症との関連につき考察する。

【方法】 サ症および他疾患(間質性肺炎・過敏性肺炎・好酸球性肺炎)患者のBAL細胞を以下の検討に使用した。ガレクチン9の検討においては、BAL細胞スミア標本をガレクチン9抗体(ガルフーマ社, 9M1-3)で免疫染色するとともに、BAL細胞mRNAを抽出しガレクチン9 mRNAの定量解析を行った。また、BAL上清中のガレクチン9タンパク濃度をELISA法およびDELFI法により測定した。Tim-3の検討においては、BAL細胞をCD14, CD4陽性細胞に分離後mRNAを抽出し、Tim-3 mRNAの定量解析を行った。また、また末梢血からDNAを抽出し、Tim-3の遺伝子解析も行った。

【結果】 サ症BAL細胞では他疾患群に比べマクロファージが高率に強陽性を示し、ガレクチン9 mRNA発現もサ症群で有意に高かった。Tim-3はサ症CD4陽性細胞で発現が低下していた。遺伝子解析においては疾患特異的な変異は認められなかった。

【考察】 サ症患者BAL細胞中マクロファージのガレクチン9発現亢進は、患者CD4細胞のTim-3発現低下に起因して、ガレクチン9-Tim-3回路を介した正常なTh1免疫反応ネガティブフィードバック機構が破綻している可能性を示唆する。サ症起因体と想定されている常在性アクネ菌に対する正常なTh1細胞トレランス機構が破綻した結果として肉芽腫が形成されるとすれば、本抑制経路の機能不全は十分その原因となりうる。

¹ 東京医科歯科大学大学院人体病理学

² 東京医科歯科大学大学院統合呼吸器病学

³ 日本赤十字医療センター呼吸器内科

⁴ 香川大学医学部免疫病理学

⁵ 日本赤十字医療センター病理部

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究分担者

Abnormal regulation of Th1 immunity via Galectin-9-Tim-3 pathway detected in BAL cells from patients with sarcoidosis

Pariko Yorozu¹, Kana Minegishi¹, Yoshimi Suzuki¹, Haruhiko Furusawa², Satoshi Ikeda¹, Keisuke Uchida¹, Asuka Furukawa¹, Masaki Sekine¹, Yuan Bae¹, Tomoki Tamura¹, Naohiko Inase², Souichiro Ikushima³, Masaru Oritsu³, Mitsuomi Hirashima⁴, Tamiko Takemura⁵, and Yoshinobu Eishi¹

¹Department of Human Pathology, Tokyo Medical and Dental University

²Department of the Integrated Pulmonology, Tokyo Medical and Dental University

³Department of Respiratory Medicine, Japanese Red Cross Medical Center

⁴Department of Immunology and Immunopathology Faculty of Medicine, Kagawa University

⁵Department of Pathology, Japanese Red Cross Medical Center

【Background】 Galectin-9-Tim-3 pathway may be involved in preventing not only autoimmunity such as multiple sclerosis but also allergic responses to symbiotic bacteria such as *Propionibacterium acnes*, one of possible causative agents of sarcoidosis. We hypothesized that abnormal regulation of Th1 immunity via Tim-3-Galectin-9 pathway is a possible cause of allergic Th1 response to the commensal bacterium. **【Materials and methods】** We examined Galectin-9 and Tim-3 expression of bronchoalveolar lavage (BAL) cells from sarcoidosis patients and control subjects (interstitial pneumonia, hypersensitivity pneumonitis and eosinophilic pneumonia). We used immunohistochemistry with anti-Galectin-9 mAb to investigate the Galectin-9 protein expression in BAL cells from these patients. We also used real-time PCR to measure the mRNA expression of Galectin-9 in BAL cells. Galectin-9 concentration in BAL fluid was measured by ELISA and DELFIA methods. We also measured the mRNA expression of Tim3 in CD14⁺ cells and CD4⁺ T cells, which were separated from BAL cells. We also examined Tim-3 gene polymorphism using genomic DNA extracted from peripheral blood. **【Results】** By immuno-histochemistry, Galectin-9 protein expression was increased in BAL macrophages from sarcoidosis patients. Galectin-9 mRNA expression was also increased in BAL cells from sarcoidosis patients. Galectin-9 concentration in BAL fluid was very low near the lower limit of detection and no significant difference was found between sarcoidosis patients and control subjects. Tim-3 mRNA expression was decreased in CD4⁺ T cells from sarcoidosis patients. Tim-3 gene polymorphism was not found in any patients with sarcoidosis. **【Discussion】** An increased expression of Galectin-9 protein and mRNA in BAL cells and BAL macrophages from sarcoidosis patients is likely to be consequence to the reduced Tim-3 protein expression on BAL CD4⁺ T cells. The reduced Tim-3 expression in sarcoidosis patients, which has been found in the current study and also been recently reported from Karolinska Institute, may be a cause of hypersensitive Th1 immune response to the commensal bacterium and could thus contribute to the pathogenesis of sarcoidosis.

【はじめに】

サルコイドーシス(サ症)は肺や眼, 心臓, 皮膚, リンパ節などに非乾酪壊死性の類上皮細胞肉芽腫を形成する全身性肉芽腫疾患である。肉芽腫は何らかの抗原により惹起されたTh1型過敏性免疫応答であるが^{1,2)}, サ症は何らかの疾病素因を有する宿主におけるサ症起因体に対する過敏性免疫反応として発症するものと考えられている。この抗原としてはヒトの常在菌である*Propionibacterium acnes*(アクネ菌)が想定されている³⁾。

他方, ガレクチン9はβ-ガラクトシドに結合する糖鎖結合性タンパクの一種である⁴⁾。マクロファージ, Tregなどの細胞に広く発現している, 好酸球遊走・免疫抑制・アポトーシス誘導など免疫系に作用する因子である⁵⁾。ガレクチン9はTh1細胞の分泌するIFN-γやグラム陰性菌のLPSから刺激を受けて発現が亢進し, Th1細胞上のTim-3と結合することでアポトーシスを誘導するTh1抑制機構(図1)という報告があり⁶⁾, Th1免疫疾患であるサ症とガレクチン9の関連が疑われる。

研究1: ガレクチン9に関する検討

【研究目的1】

本研究ではまずガレクチン9の発現とアクネ菌の細胞内感染との関連性について調査し, ガレクチン9の本症への関与を検討した。

【材 料】

本研究には東京医科歯科大学附属病院と日本赤十

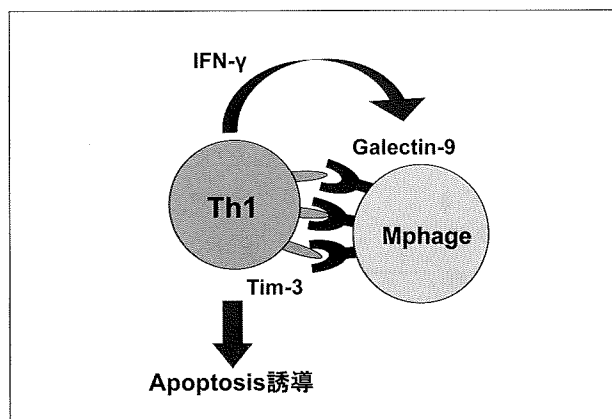


図1 ガレクチン9によるTh1抑制系

字社医療センターにおいて診断されたサ症と他疾患群(間質性肺炎, 過敏性肺炎, 好酸球性肺炎他)から採取された気管支肺胞洗浄液(BALF)のBAL細胞およびBAL上清を用いた。BAL細胞はスミア標本の作製(1スライド当たり細胞5×10⁴個), ギムザ染色による細胞分画の算出ならびにフローサイトメトリーによって細胞表面抗原による解析を行い, 残りは生細胞として保存した。BAL上清は原液を分注し, 凍結保存した。

以上の中から, BAL細胞を用いた解析にはサ症14例, 他疾患群13例(間質性肺炎5例・過敏性肺炎3例・好酸球性肺炎2例・その他3例)を用いた(表1)。BALF上清中ガレクチン9タンパク濃度の測定には, サ症65例, 他疾患群49例を用い, ELISA法においてはその中の64例, 47例を用いた。

【方 法】

1. 免疫染色

BALFスミア標本をマイクロウェーブ処理(99°C, 60分), 内因性ペルオキシダーゼ処理(室温10分)後, R.T.U. NORMAL HORSE SERUM (Vectastain Universal Elite ABC Kit; Vector Laboratories社)でブロッキングし(室温30分), 1次抗体(ガレクチン9モノクローナル抗体; ガルファーマ社, 9M1-3, 100倍希釈), PAB抗体(抗アクネ菌抗体; 15,000倍希釈)をかけ室温一晚反応させた。二次抗体反応としてR.T.U. BIOTINYLATED UNIVERSAL ANTI RABBIT/ Mouse IgGを用い, 室温にて30分反応させた。VECTASTAIN R.T.U. Elite ABC REAGENTを

表1 検体の属性

	サ症群	他疾患群
検体数	14	13
年齢	38.2±15.2	60.5±16.7
男/女	9/5	7/6
気管支肺胞液中の分画		
総細胞数(×10 ⁶ ml)	28.3±17.2	24.9±41.2
マクロファージ(%)	66.1±28.7	54.7±33.6
リンパ球(%)	33.5±29.1	28.5±26.4
好中球(%)	0.1±0.3	3.5±4.8
好酸球(%)	0.3±0.9	13.3±30.6
CD4/8	5.4±5.2	2.4±2.1

(Mean±SD)

かけ室温にて30分反応後、ヒストファイブ シンプルステインDAB溶液(ニチレイバイオサイエンス社)を用いて発色させた。マイヤー・ヘマトキシリンにて核染色後、水洗、脱水、透徹し、封入した。

光学顕微鏡下(倍率400倍)にて観察し、ガレクチン9についてはマクロファージ300個中の陽性率を算出した。PABについては、全視野(5×10⁴個)中に陽性細胞が1つでも認められる場合をPAB陽性群、1つも陽性細胞がない場合をPAB陰性群とした。

2. 定量PCR(Real-time PCR)

凍結保存してあるBAL細胞からRNA/DNA Stabilization Reagent for Blood/Bone MarrowとmRNA Isolation Kit for Blood/Bone Marrow(ともにRoche diagnostics社)を使用してmRNAを抽出し、Reverse transcriptase反応によってcDNAを得た(GeneAmp RNA PCR kit; Applied Biosystems社)。これをtemplateに、ガレクチン9のエクソン9-10の間で設計したprimer, probeを用いてReal-time PCR(95°C, 15秒・60°C, 1分, 50サイクル, ABI PRISM 7900HT; Applied Biosystems社)を行いガレクチン9 mRNAを定量した。

ガレクチン9の primer, probe 配列

Primer F : 5'-AGTCTGCCCGAAAAATGC-3'

Primer R : 5'-AGGCAGTGAGCTTCACACAAGA-3'

Probe : 5'-FAM-CGTGGCCAGAGCTTCTCAGTGTGG-TAMRA-3'

解析においては、β-アクチンをhouse-keeping geneとして補正した値を発現量とした。

3. ELISA法・DELFI A法によるタンパク濃度の測定

・ELISA法:ガレクチン9 NT抗体(ガルファーマ社; 9S2-3)をcarbonate-bicarbonate buffer (pH9.6)で3 μg/mlに希釈し、平底のNUNC-immuno plate (475094, Nalge Nunc International社)に4°Cで一晩固相化した。

サンプルまたはスタンダード(リコンビナントガレクチン9)を加え、37°Cにて90分反応させた。ビオチン化抗ヒトガレクチン9 CT抗体をBufferA (PBS(-)+2%FCS+0.05% Tween20+0.02% NaN₃)で希釈し、37°Cにて90分反応させた後、ストレプトアビジン-HRP(DAKO社)と室温で30分反応させた。各段階の前後でplateをT-PBSで洗浄した。

0.3% OPD(Sigma-Aldrich社), 0.012% H₂O₂を加え

たcitrate phosphate buffer (pH5.4)で室温15分反応させた後、25 μl 2N-HClを加えて反応を停止させた。Bio-Kinetics Reader (Bio-Tek Instruments Inc.)を用いて490nmで測定した。

・DELFI A法:ELISA法と同様にplateに抗体を固相化させ、サンプルとスタンダード、ビオチン化抗体と反応させた。ユーロピウム標識ストレプトアビジンで室温にて30分反応させた。各段階の前後でplateをT-PBSで洗浄した。

Enhancement Solutionと室温で10分反応させ、DELFI A Fluorometer(WALLAC社)で測定した。

4. 統計処理

これらの実験結果について統計解析ソフトウェアStatView Ver.5.0(SAS Institute Inc.)を使用してMann-WhitneyのU検定を行い、危険率5%を有意水準とした。

【結 果】

1. 免疫染色

ガレクチン9の免疫染色では、サ症群・他疾患群ともにマクロファージ主体に陽性を認めた。

サ症群の肺胞マクロファージは他疾患群と比べて強く茶褐色に染まっていた(写真1)。

マクロファージ300個中の陽性率をサ症群と他疾患群で比較したところ、サ症群の陽性率は他疾患群陽性率に比べ有意に高値であった(p=0.011, 図2)。

PAB抗体による免疫染色では、ガレクチン9染色と同様にサ症群で陽性が強い傾向が認められた(写真2)。しかし、陽性率で両群に有意な差はなく、(p=0.33, 図3)両群におけるアクネ菌の細胞内感染に差は認められなかった。

アクネ菌感染の有無により2群に分けた場合、ア

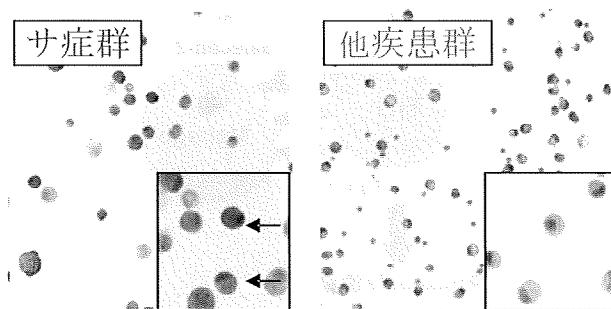


写真1 BAL細胞のガレクチン9免疫染色像

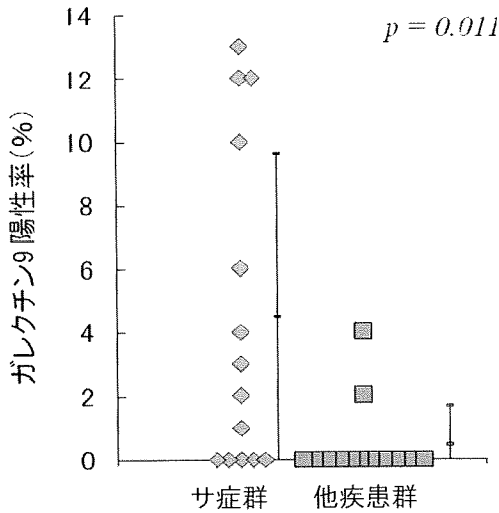


図2 マクロファージにおけるガレクチン9陽性率

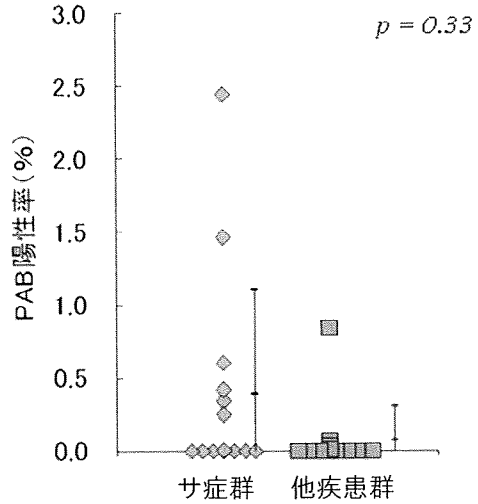


図3 PAB抗体陽性率

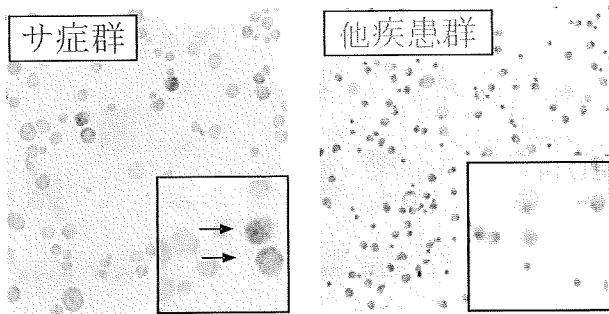


写真2 BAL細胞のPAB免疫染色

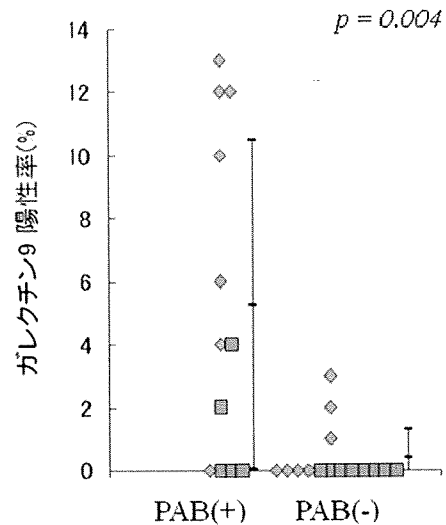
クネ菌感染群でガレクチン9の陽性率が高く ($p = 0.004$, 図4), アクネ菌の感染がガレクチン9の発現を引き起こしている可能性が考えられた。

2. 定量PCR

BAL細胞より抽出したガレクチン9のmRNAの発現量は、サ症群で他疾患群よりも有意に高値を示した ($p = 0.0003$, 図5)。サ症群で細胞内のガレクチン9 mRNA発現は上昇しており、免疫染色の結果から(写真1), サ症患者ではBAL細胞中肺胞マクロファージでガレクチン9が高発現していると同定できた。

3. ELISA法・DELFI A法による測定

サ症群BALFと他疾患群BALFの上清中ガレクチン9タンパク濃度をELISA法, およびさらに感度の高いDELFI A法で測定を行った結果どちらの測定系においても両群ともに低い測定値であり, 検量線が直線性を示さない濃度幅だったことから細胞外に分泌されたガレクチン9については比較不可能であった(図6, 7)。



注) ◆はサ症群、■は他疾患群を示す

図4 アクネ菌感染とガレクチン9陽性率

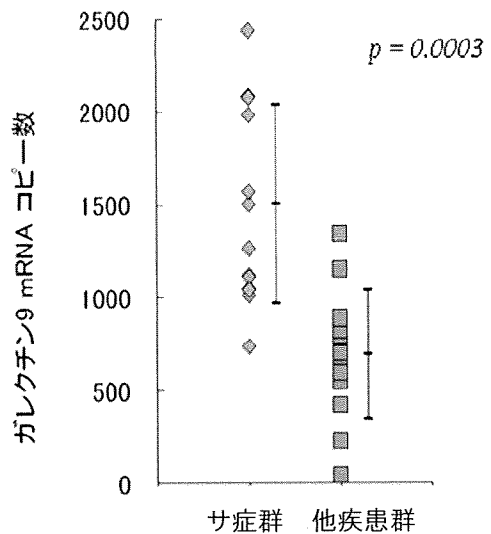
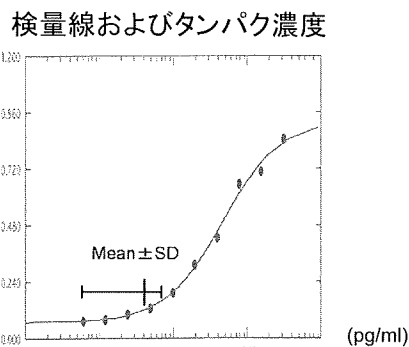


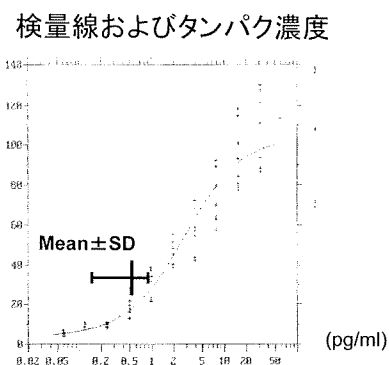
図5 BAL細胞のmRNA発現量



症例	Mean ± SD (pg/ml)
サ症群	64 0.376 ± 0.323
他疾患群	47 0.409 ± 0.188

$p = 0.066$

図6 ELISA法



症例	Mean ± SD (pg/ml)
サ症群	65 0.661 ± 0.549
他疾患群	49 0.496 ± 0.218

$p = 0.66$

図7 DELFIA法

研究2：Tim-3に関する検討

【研究目的2】

以上のガレクチン9に関する検討結果から、サ症患者ではガレクチン9のリガンドであるTim-3側に異常があり、フィードバック機能の破綻が生じることによりTh1抑制経路が機能していない可能性が示唆されたため、Tim-3に関しての検討を行った。

【材 料】

Tim-3の定量解析にはサ症患者5例、他疾患患者4例のBAL細胞をautoMACS(Miltenyi Biotec)にてそれぞれCD14、CD4陽性細胞に分離した細胞群を用いた。遺伝子解析にはサ症患者29例および本学研究室健康人ボランティア15例の末梢血より抽出したゲノムDNAを用いた。

【方 法】

1. Real-time PCRによる発現量の解析

BAL細胞からautoMACS Pro SeparatorによりCD14およびCD4陽性細胞を分離し、各細胞群をTRIzol reagentにて回収した。Total RNAを抽出しReverse Transcriptase反応させてcDNAを得た。Real-time PCR(ABI 7900HT)を行い、Tim-3 mRNAを定量した。

解析においては、GAPDHで補正した数値を発現量とし、Mann-WhitneyのU検定を行い、危険率5%

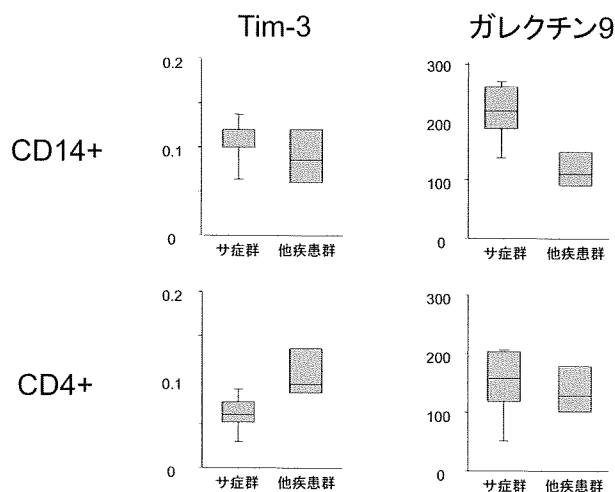


図8 BAL細胞におけるTim-3、ガレクチン9の発現

を有意水準とした。

2. Tim-3遺伝子の解析

末梢血からゲノムDNAを抽出し、プロモーター領域を含むexon1-7をダイレクト・シーケンシング法にて解読した。

【結 果】

1. 発現量の比較

Tim-3発現量はCD4陽性細胞においてのみサルコイドーシス群で有意に低値を示した。ガレクチン9はサルコイドーシス群のCD14陽性細胞であるマクロファージにおいて発現亢進が確認され、先の免疫染色の結果と一致した(図8)。

ガレクチン9 – Tim-3回路の調節異常による病因論仮説

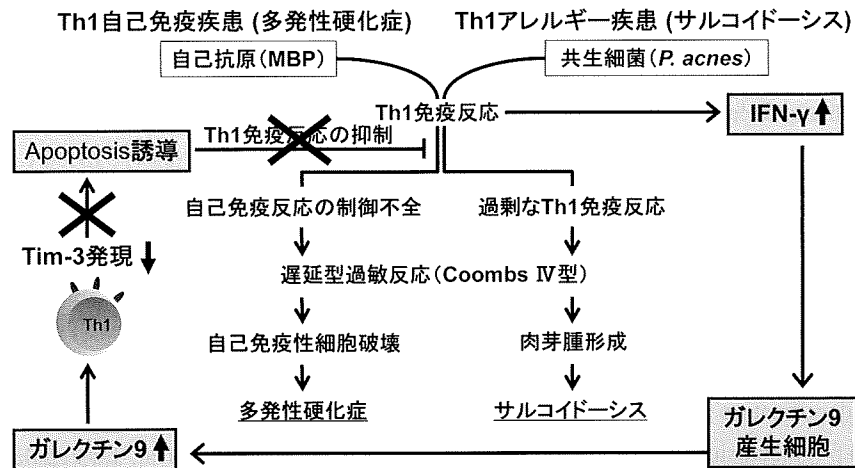


図9 ガレクチン9 – Tim-3回路の調節異常による病因論仮説

2. 遺伝子解析

プロモーター領域と exon3 において SNP を検出した (-577 T/G, -885T/C, 476 G/T). exon3 においてはアミノ酸置換を伴う変異(アルギニン→ロイシン)ではあったが、解析したサ症および健康人全例に認められたため、日本人に共通するものと判明した。

【考 察】

今回の研究で、サ症患者の BAL 細胞中マクロファージでガレクチン9の発現が亢進していることが明らかとなった。

分泌型のガレクチン9に関しては、他の肺疾患で ELISA 法による上清中ガレクチン9タンパク濃度の測定結果の報告^{7, 8)}もあるが、本研究では BAL 上清中のガレクチン9タンパク濃度は検量線のきわめて低い濃度域に位置し、サ症群と他疾患群でその差を比較することはできなかった。

ガレクチン9はTh1細胞の分泌するIFN- γ によって発現が亢進する。ガレクチン9はTh1細胞表面に特異的に発現しているTim-3分子に結合し、Th1細胞にアポトーシスを誘導することで過剰なTh1免疫を抑えるネガティブフィードバック機構を担っている⁹⁾。

サ症ではTh1型免疫反応が亢進している一方で、抑制系のガレクチン9の発現も亢進している。免疫反応と抑制因子の両者に同時に亢進が見られる

場合、内分泌系の副腎皮質ホルモンレセプター異常による機能亢進と同様の状態が想定され、サ症ではTim-3の異常によりTh1免疫反応のネガティブフィードバック機構が働かないためにガレクチン9の発現が亢進していると考えられる。

このガレクチン9 – Tim-3回路の異常のためサ症患者ではTh1免疫反応の抑制が起こらず、肉芽腫形成に至ると考えられる。

すでにTh1型自己免疫疾患の多発性硬化症では、Th1細胞のIFN- γ 分泌亢進とTim-3の発現低下が報告されている^{10, 11)}。多発性硬化症では、ガレクチン9 – Tim-3回路を介した自己抗原(MBP)に対するTh1免疫反応の抑制不全の可能性が示唆される(図9)。

他のTh1自己免疫疾患、Th1アレルギー疾患においてもガレクチン9 – Tim-3回路の異常により、過剰なTh1免疫反応は起こり得る¹²⁾。サ症でも同様な疾患素因が存在し、常在菌のアクネ菌に対するトレランスが誘導されず、過剰な免疫反応・肉芽腫形成が生じていると考えられる。

本研究において症例数は少ないもののサ症患者のCD4陽生T細胞にTim-3の発現低下が認められたことから、今後サ症患者におけるTim-3の量的異常をさらに検討するとともに、アクネ菌に対して特異的にTim-3の発現低下が起こり得るかを明らかにしたい。

【参考文献】

- 1) C. Agostini et al. Alveolar Macrophage – T Cell Interactions During Th1-type Sarcoid Inflammation. *Microscopy research and technique* 2001; 53:278-287.
- 2) 杉山幸比古ら. サルコイド肉芽腫の成因機序 サイトカイン・ケモカインの関与. *日本臨床* 2002; 9:1728-1733.
- 3) 江石義信. サルコイドーシスの成因論 成因にかかわる候補起因为体研究の最新動向. *日本臨床* 2002; 9:1688-1696.
- 4) J. Wada et al. Identification and characterization of galectin-9, a novel β -galactoside-binding mammalian lectin. *The Journal of Biological Chemistry* 1997; 272:6078-6086.
- 5) J. Wada et al. Developmental Regulation, Expression, and Apoptotic Potential of Galectin-9, a β -Galactoside Binding Lectin. *The Journal of Clinical Investigation* 1997; 99:2452-2461.
- 6) T. Imaizumi et al. Interferon- γ stimulates the expression of galectin-9 in cultured human endothelial cells. *Journal of Leukocyte Biology* 2002; 72:486-491.
- 7) 大久保仁嗣ら. 間質性肺炎の肺胞マクロファージにガレクチン-9は過剰に発現する. *東京医科大学雑誌* 2008; 66(4):513-521.
- 8) 加藤茂樹ら. 好酸球性肺炎症におけるガレクチン9の検討. *Japanese Journal of Allergology 社団法人日本アレルギー学会* 2008; 57(9・10):1423.
- 9) C. Zhu et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nature Immunology* 2005; 6:1245-1252.
- 10) K. Koguchi et al. Dysregulated T cell expression of TIM-3 in multiple sclerosis. *The Journal of Experimental Medicine* 2006; 203:1413-1418.
- 11) L. Yang et al. Lack of TIM-3 Immunoregulation in Multiple Sclerosis. *The Journal of Immunology* 2008; 180:4409-4414.
- 12) A. C Anderson et al. TIM-3 in autoimmunity. *Current Opinion in Immunology* 2006; 18:665-669.

サルコイドーシスにおける代替治療について

杉崎 勝教^{1*} 山口 哲生^{2*} 千田 金吾^{3**}

サルコイドーシス(以下サ症)患者に対する治療については2003年に策定された本邦の治療ガイドラインに沿って行われるが、近年ステロイド剤の全身投与に代わる新しい治療法が試みられるようになった。即ちステロイド剤の全身投与のみではコントロールの難しい症例に対して免疫抑制剤の単独またはステロイド剤との併用療法を行い一定の効果が得られている。またミノサイクリン系の抗菌剤による治療効果が皮膚サ症の症例を中心に確認されつつある。さらにステロイド剤の全身投与の適応がない肺サ症症例または患者がステロイド剤の全身投与に同意しない肺サ症症例においてステロイド剤の吸入療法が試みられており自覚症状の改善を認める症例が報告されている。こうしたステロイド剤の全身投与に代わる代替療法については本邦ではいまだ大規模な臨床研究が行われていないが、現時点での実態調査の結果と一部施設での臨床研究の結果を紹介する。

Alternative Therapy for Sarcoidosis

Katsunori Sugisaki¹, Testuo Yamaguchi², Kingo Tida³

¹National Nishibeppu Hospital, Department of Internal Medicine

²JR Tokyo General Hospital, Department of Respiratory Medicine

³Himamatsu Medical University, Department of 2nd Internal Medicine

The treatment for sarcoidosis was performed along a Japanese guideline devised in 2003, but recently a new therapy came to be tried instead of standardized steroid systemic therapy. Namely, it is possible to use the combination therapy with immunosuppressive drugs and steroid for the refractory case, and it sometimes resulted in a good clinical course. Also, the treatment with the minocycline is effective in the case of the skin sarcoidosis. The inhalation therapy of the steroid is tried in the patient with pulmonary sarcoidosis who has symptoms disturbing ADL or rejects systemic steroid therapy, and a case with the subjective improvement is reported. Although large-scale clinical studies are not yet conducted in Japan about the alternative therapy, we try to survey the effect of alternative therapy conducted in Japan till now.

背景

サ症治療の基本はステロイド剤の全身投与だが、ステロイド剤による治療には問題点が多い。すなわちサ症の治療においてはステロイド剤で一旦改善しても減量・中止とともに再発する症例がしばしば見られる。また長期にステロイド剤を続けなくてはならない症例(例えば心病変)ではステロイド剤の副作用が問題となる。以上のような症例に対してステロイド剤と併用したり単独で用いてステロイド剤に代替できる治療が必要となる。

本邦では2003年に日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会が中心となって作成した治療の手引きが使用されており、各臓器病変に対してかなり詳細な治療指針が示されている¹⁾。そのなかにステロイド代替治療について主として外国での報告を中心に記載されているが本邦におけるまとまった代替治療の報告はない。今回本邦において施行されたステロイド代替療法の実態について調査した。

方法と結果

1. ステロイド代替療法の実態調査

平成21年の厚生労働省びまん性肺疾患調査研究班により行われた難治性サルコイドーシスの実態調査²⁾において代替治療薬として報告された薬剤の内訳を表1に再掲した。この結果で最も使用頻度の高かったのはミノサイクリン系抗菌薬とメソトレキセート(MTX)の2剤であった。このうちミノサイクリン系薬剤についてはすでに折津らにより調査報告³⁾されているので今回はMTXについて使用実態調査を行った。

2. メソトレキセート(MTX)による治療効果

治療抵抗性症例アンケート調査でMTX治療が行われた6例に文献報告のあった13例を加え19例を対象にした。調査結果の概要を表2に示す。症例はすべてステロイド治療が行われたものの十分効果が

¹⁾ 国立病院機構西別府病院内科

²⁾ JR東京総合病院呼吸器内科

³⁾ 浜松医科大学医学部第2内科

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

** びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究分担者

Figure 1 ステロイドに代替または併用して用いられた治療薬

ミノマイシン(100-200mg)	7例
MTX(5-7.5mg/W)	6
AZP	3
CTX	1
CyA	1
ステロイドパルス	1
リザベン、カプトリル(皮膚科)	2

(H21年度全国実態調査より)

なかったか使用上の副作用が問題となった症例でMTXを併用することで63%の患者で改善が得られた。ただしMTXの単独使用例は少なく多くはステロイド少量(5-10mg/日)との併用であった。副作用として肝障害や汎血球減少などが知られており今回の集計でもそうした副作用が少数例報告されている。

3. ステロイド吸入療法について

サ症肺病変については治療ガイドラインに示されているとおり、胸部画像所見の悪化だけではステロイド剤全身投与の適応にならず肺機能の低下もしくはADLを障害する自覚症状を伴う場合に治療適応とされる。しかし一般にサ症肺病変は長期の経過をとる症例が多く、どの時点で治療介入するか判断が難しい。また胸部画像所見の増悪のみが進行し肺機能所見が保たれている場合放置してよいかどうかの判断が難しい。時には治療介入の時期が遅れたために繊維化が進行し不可逆的な変化をきたす症例もある。こうした肺サ症の治療を行う上でステロイド吸入療法が代替療法としてどの程度有用かについて検討した。

今回JR東京総合病院の山口哲生先生のご厚意で同院で行われた解析データの一部を掲載する。対象は同院に通院中の肺サ症患者24例でその内訳を表3に示した。基本的にフルチカゾン800 μ g/日で投与を行い3ヶ月以降、自覚症状、胸部画像所見、肺機能所見を比較した。その結果を表4に示した。胸部画像所見や肺機能所見(%VC)の改善が20-25%程度の患者で認められたが、自覚症状の改善が最も大きく約44%の患者で何らかの自覚症状の改善が得られた。

Figure 2 本邦におけるMTX療法の実態調査

1. 性別	男 8例、女 11例
2. 平均年齢	54±15歳
3. 対象臓器	心臓 9例、肺 4例、眼 4例、神経 2例、皮膚 1例
4. MTX使用理由	
1) ステロイド剤で改善、減量に伴い再燃、MTXを併用	7例
2) ステロイド剤で改善せずMTX併用	3例
3) ステロイド剤で改善したが副作用で使用継続できず、MTX併用	9例
5. 使用法	
1) 5-10mg/W (7.5mg/Wが最も多い)	
2) ステロイド剤少量(5-10mg/日)の併用が多い	
6. 効果	
有効 12例、不変 5例、無効 1例 (有効率 63%)	
7. 副作用 (副作用について記載のあった8例について)	
なし 5例、肝障害 2例、貧血 1例	

Figure 3 ステロイド吸入療法の対象と方法

1) 年齢(FP導入時):	45.3±2.7歳 (24歳～67歳)
2) 性別	: 男性 8例 / 女性 16例
3) 前治療歴の有無	: 有 6例 / 無 18例
4) 肺野病変発症からFP吸入導入までの期間:	43.1±9.3ヶ月 (6ヶ月～164ヶ月)
5) 自覚症状	: 有 18例 / 無 6例
6) 吸入療法導入時の病勢:	不変 9例 / 悪化 15例
7) サルコイドーシス肺野病変(Ⅱ, Ⅲ期)を有し、ICS(FP)単独治療の評価が可能と思われる症例.	
8) 6ヶ月以上の経過で、病変が不変または悪化している例.	
9) 原則として FP 800 μ g/日(400 μ 減量もありえる).	
10) 最低3ヶ月FP吸入療法を行い、胸部画像、自覚症状、肺機能を評価する.	

Figure 4 ステロイド吸入療法の効果

1. 自覚症状:	有り 18例のうち 改善 8例(44%) 無し 6例(すべて不変)
2. 胸部画像所見:	改善 6例(25%) 4例; 3ヶ月以内に改善を認めた 2例; 12ヶ月で改善を認めた 不変 15例 悪化 3例
3. 呼吸機能%VC:	改善 4例(21.0%) 不変 15例
* 1 治療前後で呼吸機能を施行できた19例を対象とし、呼吸機能は%VCの10%以上の改善とした。	
* 2 %VC改善例で1秒率改善例はない	

考 案

欧米においては治療抵抗性の肺病変を伴うサ症例がかなり存在し、こうした症例に対してどのような代替治療を行うかについての報告がなされている。Baughmanらはステロイド治療に抵抗性の症例についてメソトリキセート(MTX)を少量長期投与する治療法について報告している⁴⁾。MTXの投与方法

は当初毎週1回10mg内服し6ヶ月継続したのち2週に1回10mgに減量するというものである。肝腎機能障害や血液毒性の発生に注意しながら多数例に投与した結果約80%の症例で改善もしくはステロイドの減量中止が可能であったとしている。また本邦でも須田らによるMTX有効例の報告がある⁶⁾。MTX以外の免疫抑制剤としてアザチオプリン(AZP)⁶⁾、シクロフォスファミド(CTX)⁷⁾、シクロスポロンA

(CyA)⁹⁾などの使用例が報告されている。今回の検討においても多くはsteroid sparing effectを期待した使用法であったが、約63%で有効性を示した。もちろんMTXの長期使用については肝毒性が問題となり、特にサ症症例については潜在性肝病変を合併していることも多く肝障害については注意深い観察が必要となる。さらに症例は少ないが汎血球減少症を合併した症例の報告があった⁹⁾。

ステロイド吸入療法についても多数例での症例検討が欧米を中心に行われ、臨床所見が改善したとする報告¹⁰⁾もあるが必ずしも評価は一定していない。今回の山口らの検討では胸部画像所見や肺機能所見が20-25%で改善しているものの必ずしも十分な治療効果が得られたわけではなかった。ただし自覚症状の改善は44%と比較的高く、自覚症状の強い肺サ症症例ではステロイドの全身投与を行う前に試みてもよい治療法と考えられた。

結 語

MTXはおもにステロイド剤で効果のあった症例で減量時に再発する症例にMTXを併用し治療予後を改善しようと考えられた。ステロイド吸入療法は画像的な予後や肺機能上の予後の改善に対しては必ずしも期待できないが自覚症状の改善に対してはある程度の効果が期待できると考えられた。今後これらの治療法についてさらに評価、検討を行い治療指針に加えていく必要がある。

参考文献

- 1) 日本サ症/肉芽腫性疾患学会, 日本呼吸器学会, 日本心臓病学会, 日本眼科学会, 厚生省科学研究—特定疾患対策事業—びまん性肺疾患研究班編集. サ症治療に関する見解-2003. 日本呼吸器学会雑誌. 2003; 41: 150-9.
- 2) 杉崎 勝教, 山口 哲生, 千田 金吾: 治療抵抗性サルコイドーシスに関する実態調査. 厚生労働省科学研究—難治性疾患克服研究事業—びまん性肺疾患に関する調査研究班 平成20年度研究報告書 2009; p85-8.
- 3) 折津 愈: サルコイドーシスに対する抗菌薬使用経験(全国アンケート調査より). 厚.生労働省科学研究—難治性疾患克服研究事業—びまん性肺疾患調査研究班平成16年度研究報告書 2005; p210-3.
- 4) Lower EE, Baughman RP: The use of low dose methotrexate in refractory sarcoidosis.. Amer J Med Research. 1990; 299: 153-7.
- 5) Suda T, Sato A, Toyosima M, et al: Weekly low-dose methotrexate therapy for sarcoidosis. Internal Medicine. 1994; 33:437-40.
- 6) Muller-Quernheim J, Kienast K, Pfeifer S, et al: Treatment of chronic sarcoidosis with an azathiopurine/ prednisolone regimen. Eur Respir J 1999 ; 14: 1117-22.
- 7) Lower EE, Baughman RP, Brott TG, et al: Diagnosis and management of neurological sarcoidosis. Arch Int Med. 1997; 157: 1964-8.
- 8) Wyser CP, van Schalkwyk EM, Alheit B.: Treatment of progressive pulmonary sarcoidosis with Cyclosporin A. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156: 1371-6.
- 9) 加藤靖周, 森本紳一郎, 植村晃久, 他: メトトレキサート療法をこころみた心臓サルコイドーシスの4症例 日サ学会誌2003; 23:83-86.
- 10) Alberts C, van der Mark ThW, Jansen HM, et al: Inhaled budenoside in pulmonary sarcoidosis: a double blind, placebo-controlled study. Eur Respir J 1995; 5: 682-688.

サルコイドーシスの抗菌薬治療

山口 陽子¹ 山口 哲生^{1*} 山田 嘉仁¹ 河野千代子¹
在間 未佳¹ 徳田 均² 稲瀬 直彦^{3**} 江石 義信^{4**}

2007年以降にサルコイドーシス患者47名(延べ77症例)に対し抗菌薬治療を行った。ST合剤、クリンダマイシン(CLDM)、ミノマイシン(MINO)、ドキシサイクリン(DOXY)単剤投与群、またST+アジスロマイシン(AZM)、CLDM+MINO、MINO+AZM、DOXY+AZMの複数投与群の計8群に分け、有効性と安全性を検討した。DOXY単剤群23例中著効を示したのは7例(30.0%)であり、全例が皮膚病変合併例であった。ST合剤単剤群、MINO単剤群では、著効例はそれぞれ14例中1例(7.1%)、15例中1例(6.7%)にとどまり、他の群では著効例は見られなかった。また副作用発現率は、単剤投与群と比べると、ST合剤、CLDM、MINOで60-80%出現したのに対し、DOXY単剤群では23例中6例(26%)と低値であった。今後サルコイドーシスの抗菌薬治療の確立にあたり更なる検証が必要となる。今後治験を組んでいくにあたっては、効果があり副作用の少ないDOXYの使用がよいと考える。

Antimicrobial therapy of Sarcoidosis

Yoko Yamaguchi¹, Tetsuo Yamaguchi¹, Yoshihito Yamada¹, Chiyoko Kono¹,
Mika Zaima¹, Hitoshi Tokuda², Naohiko Inase³, Yoshinobu Eishi⁴

¹*Department of Respiratory Medicine, Japan Railway Tokyo General Hospital*

²*Department of Respiratory Medicine, Social Insurance Chuo General Hospital*

³*Department of Respiratory Medicine, Tokyo Medical and Dental University Hospital Faculty of Medicine*

⁴*Department of Surgical Pathology, Tokyo Medical and Dental University Hospital Faculty of Medicine*

Since 2007, 47 sarcoidosis patients (77 cases in total) have been treated with several antimicrobial drugs and divided into 8 groups treated with sulfamethoxazole-trimethoprim(ST), ST+azithromycin(AZM), clindamycin(CLDM), CLDM+minocycline(MINO), MINO, MINO+AZM, doxycycline(DOXY), or DOXY+AZM. As many as 7 of 23 cases treated with DOXY monotherapy had obvious effects and especially cutaneous lesions of all of them got better. The other groups showed a few obvious effects. The rate of adverse effects was 60-80% with a single agent such as ST, CLDM, or MINO. Treatment with DOXY monotherapy had fewer adverse effects and the risk was 26%.

Further study is expected about the antimicrobial treatment of sarcoidosis for more cases. Taking this results into account, we recommend the use of DOXY for treatment because of its effectiveness and lower likelihood of adverse effects.

【目 的】

サルコイドーシスの発生源には、*Propionibacterium acnes* が関与していると考えられているが、この証明のために過去に様々な研究が行われている。アクネ菌は、1970年代に本邦においてサルコイドーシス患者のリンパ節から培養可能な菌として唯一検出された病原微生物であり、その後PCR法を用いて定量解析もされ、サルコイドーシス患者のリンパ節にはアクネ菌由来のDNAが多量に存在し、対照疾患ではほとんど検出されないことが示された。

2001年Bacheletzらは、テトラサイクリン系抗菌薬がサルコイドーシス皮膚病変に極めて有効(12例中10例有効)であると報告した。2008年山口らもミノサイクリンまたはドキシサイクリンで治療を行い、20症例中6例有効と報告している。今回、2007年以降に受診したサルコイドーシス患者に対して行った抗菌薬の治療成績をまとめた。

【方 法】

サルコイドーシス患者47名(延べ77症例)に対し、2007年以降抗菌薬治療を行った。後ろ向き研究でその使用薬剤、治療期間、効果発現率、副作用出現率をまとめた。対象47名の平均年齢は49.7歳(20歳

～74歳)、男性9名、女性38名である。47名中41名は組織診でサルコイドーシスの確定診断が得られており、残り6名は臨床的にサルコイドーシスと診断されている。47名のサルコイドーシス患者の病変部位は、眼病変23名(49%)、BHL(57%)、肺野19名(40%)、皮膚28名(60%)、筋肉9名(19%)、関節4例(8.5%)、神経6例(13%)、全身症状13例(28%)であった。治療使用薬剤は以下の8群、①ST合剤単剤群14例、②クリンダマイシン(CLDM)単剤群5例、③ミノマイシン(MINO)単剤群13例、④ドキシサイクリン(DOXY)単剤群23例、⑤ST+アジスロマイシン(AZM)投与群7例、⑥CLDM+MINO投与群5例、⑦MINO+AZM投与群5例、⑧DOXY+AZM投与群5例に分けた。有効性は著効、有効、やや有効、不変の4段階で評価し、安全性は副作用の内容、内服継続できた期間で調査した。

【結 果】

結果を表1、表2にまとめた。

それぞれの群について結果をまとめると、

①ST合剤単剤群14例(男性4例、女性11例)は平均年齢：49.1歳(30～74歳)、平均内服期間：7.2ヶ月、評価対象症例の病変存在部位は眼病変：9例、BHL：9例、肺病変：5例、皮膚病変：8例、筋肉病

表1

	症例数	男性/女性	平均年齢(歳)	著効例	%	有効例	%
①ST	14	4/11	49.1	1	7%	2	14%
②ST+AZM	7	2/5	43.3	0	0%	1	14%
③CLDM	5	1/4	46.6	0	0%	0	0%
④CLDM+MINO	5	1/4	40.4	0	0%	1	20%
⑤MINO	13	1/12	55.6	1	8%	2	15%
⑥MINO+AZM	5	3/2	35.4	0	0%	0	0%
⑦DOXY	23	2/21	53.1	7	30%	0	0%
⑧DOXY+AZM	5	2/3	42.0	0	0%	0	0%

1 JR 東京総合病院呼吸器内科

2 社会保険中央病院呼吸器内科

3 東京医科歯科大学呼吸器内科

4 東京医科歯科大学病理

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

** びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究分担者

表2

	症例数	副作用出現例	%	内服継続期間(月)
①ST	14	9	64%	7.2
②ST+AZM	7	3	43%	3.2
③CLDM	5	4	80%	3.3
④CLDM+MINO	5	3	60%	5.4
⑤MINO	13	9	69%	10.3
⑥MINO+AZM	5	1	20%	5.4
⑦DOXY	23	6	26%	7.4
⑧DOXY+AZM	5	1	20%	5.0

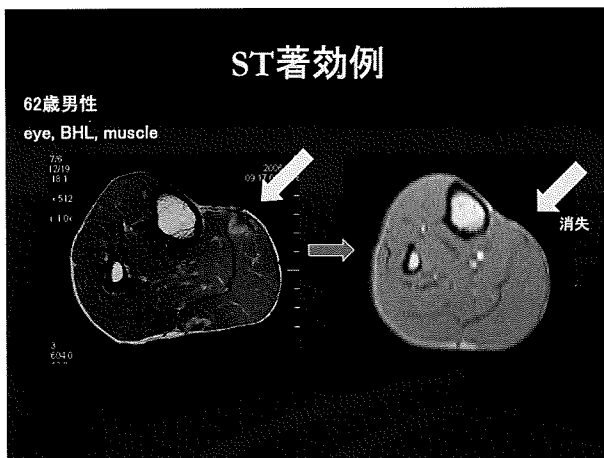


図1

変:2例, 関節病変:1例, 神経病変:2例, 全身症状:3例であった。著効1例, 有効2例/14例で, 著効症例では筋肉病変が著明に改善した(図1参照)。副作用は9例(9/14: 64%)発生し, 内訳は皮疹5例, 胃部不快感3例, 肝機能障害1例であった。

②CLDM単剤群5例(男性1例, 女性4例)は平均年齢:46.6歳(38~63歳), 平均内服期間:3.3ヶ月, 評価対象症例の病変存在部位は眼病変:4例, BHL:3例, 肺病変:2例, 皮膚病変:4例, 筋肉病変:1例, 関節病変:0例, 神経病変:0例, 全身症状:1例であった。著効例・有効例はなかった。副作用は4例(4/5: 80%)発生し, 内訳は皮疹2例, 下痢1例, 胃痛1例であった。

③MINO単剤群13例(男性1例, 女性12例)は平均年齢:55.6歳(35~68歳), 平均内服期間:10.3ヶ月, 評価対象症例の病変存在部位は眼病変:9例, BHL:6例, 肺病変:4例, 皮膚病変:8例, 筋肉病変:4例, 関節病変:0例, 神経病変:3例, 全身症状:3例であった。:著効1例, 有効2例であり,

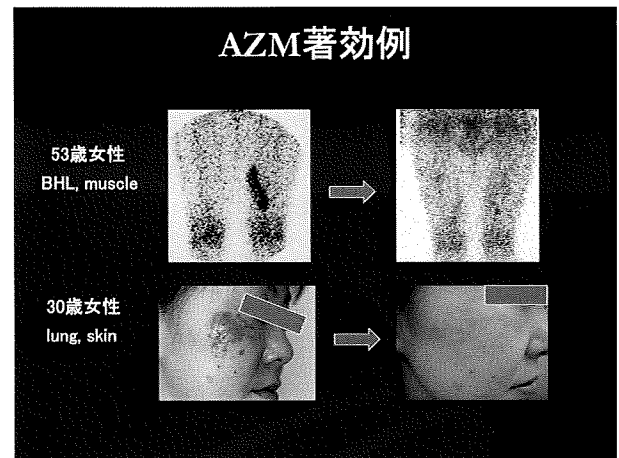


図2

それら3例とも皮膚病変であった。副作用は9例(9/13: 69%)発生し, 内訳は胃部不快感・嘔気4例, めまい・ふらつき3例, 下痢2例であった。

④DOXY単剤群23例(男性2例, 女性21例)は平均年齢:53.1歳(30~68歳), 平均内服期間:7.4ヶ月, 評価対象症例の病変存在部位は眼病変:10例, BHL:14例, 肺病変:8例, 皮膚病変:14例, 筋肉病変:5例, 関節病変:1例, 神経病変:3例, 全身症状:11例であった。著効は7例で, 全例皮膚病変例である。また, そのうち2例で全身症状改善, 2例で肺野陰影改善, 1例でBHL改善が認められた。副作用は6例(6/23: 26%)発生し, 内訳は胃部不快感・嘔気3例, めまい・ふらつき2例, 下痢1例でMINO内服時より少ない傾向にあった。

図3, 4, 5, 6がDOXYで著効した例である。

図3上段は, サルコイドーシス皮膚病変, 筋肉病変, BHLがある67歳女性で, C型肝炎・2型糖尿病・骨粗鬆症の合併症がある。2005年2月額・頬・鼻の横・手に皮膚病変が出現, その直後に両側下腿腫瘍・